УДК 632.4.01/.08:575.174.015.3:57.083.182

DOI 10.30679/2219-5335-2021-2-68-255-271

**ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ
КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ
ШТАММОВ *ALTERNARIA ALTERNATA*
(FR.) KEISSL., ВОЗБУДИТЕЛЯ ГНИЛИ
СЕРДЦЕВИНЫ ПЛОДОВ ЯБЛОНИ,
НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ
СРЕДАХ**

Астапчук Ирина Леонидовна
канд. биол. наук
научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Якуба Галина Валентиновна
канд. биол. наук
старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологического
контроля фитопатогенов
и фитофагов
e-mail: galyayaku@gmail.com

Насонов Андрей Иванович
канд. биол. наук
заведующий лабораторией
биотехнологического контроля
фитопатогенов и фитофагов
e-mail: nasoan@mail.ru

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

С изменением климата на планете в сторону потепления произошла активизация грибов рода *Alternaria* Nees. Из-за сложившихся климатических условий отдельные виды этого рода сменили свой статус и приобрели признаки факультативного паразитизма и полного паразитизма на ряде культурных растений, включая яблоню. Для эффективного контроля заболевания,

UDC 632.4.01/.08:575.174.015.3:57.083.182

DOI 10.30679/2219-5335-2021-2-68-255-271

**VARIABILITY OF CULTURAL
CHARACTERISTICS
OF *ALTERNARIA ALTERNATA*
(FR.) KEISSL. STRAINS, CAUSE
OF ROT APPLE CORE
ON VARIOUS NUTRIENT
MEDIA**

Astapchuk Irina Leonidovna
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: irina_astapchuk@mail.ru

Yakuba Galina Valentinovna
Cand. Biol. Sci.
Senior Research Associate
of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: galyayaku@gmail.com

Nasonov Andrey Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Biotechnological Control
of Phytopathogens and Phytophages
Laboratory
e-mail: nasoan@mail.ru

*Federal State Budget
Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

With the climate change on the planet towards warming, the fungi of the genus *Alternaria* Nees became more active. Due to the prevailing climatic conditions, some species of this genus changed their status and acquired signs of facultative parasitism and complete parasitism on a number of cultivated plants, including the apple-tree.

в патогенезе которого участвует большое количество видов, требуется проведение исследований *in vitro*. При этом необходимо добиться в экспериментах быстрого и гарантированного роста каждого из грибов. В связи с этим подбор для грибов рода *Alternaria* возбудителей гнили сердцевины плодов яблони, оптимальных для культивирования питательных сред, является актуальным. Проведенные нами исследования выполнены методами лабораторного и сравнительного анализов.

Изучали рост двух штаммов возбудителя гнили сердцевины плодов яблони *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. на 12 питательных средах. Оценивали скорость роста колонии и морфолого-культуральные признаки. В результате исследований у штаммов возбудителя гнили сердцевины плодов яблони установлено варьирование не только скорости роста колоний, но и их культуральных признаков в зависимости от состава питательной среды. Сравнительное изучение на различных питательных средах морфолого-культуральных признаков штаммов FR20IV и FR20VI *A. Alternata* позволило выделить наиболее пригодные для их культивирования и идентификации три универсальные среды, а именно, морковный, картофельный агары и среда Сабуро, по следующим критериям: обеспечение максимальной степени спороношения, быстрый рост и развитие мицелия гриба, а также легкость приготовления выделенных оптимальных культуральных сред.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, ГНИЛЬ СЕРДЦЕВИНЫ ПЛОДОВ, *ALTERNARIA ALTERNATA*, ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА

In vitro scientific studies are required to effectively control the disease, in the pathogenesis of which a large number of species are involved. At the same time, it is necessary to achieve fast and guaranteed growth of each of the fungus in the experiments. In this regard, the selection for fungi of the genus *Alternaria*, causative agents of apple fruits core rot, optimal for the cultivation of nutrient mediums is urgent. The studies were carried out by methods of laboratory and comparative analyzes. The growth of two strains of the causative agent of the apple fruit core rot of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. on 12 nutrient mediums. Colony growth rate and morphological and cultural traits were assessed. As a result of research the strains of apple fruit core rot agent, a variation not only in the growth rate of colonies, but also in their cultural characteristics, depending on the compositions nutrient medium. A comparative study of the morphological and cultural characteristics of *A. alternata* strains FR20IV and FR20VI on various nutrient mediums made it possible to identify three universal mediums most suitable for their cultivation and identification, namely carrot, potato agars and Sabouraud's medium, according to the following criteria: ensuring the maximum degree of sporulation, rapid growth and development of the mycelium of the fungus, as well as easiness of preparation of revealed optimum cultural mediums.

Key words: APPLE-TREE, APPLE CORE ROT, *ALTERNARIA ALTERNATA*, NUTRIENT MEDIUM

Введение. В настоящее время род *Alternaria* Nees насчитывает около 300 видов, представители которого широко распространены в природе и встречаются на самых разнообразных субстратах по всему миру. Некоторые

из них являются почвенными сапротрофами или биоразрушителями пищевых продуктов, однако большинство из них являются паразитами, которые вызывают опасные заболевания сельскохозяйственных культур. В России как патогены растений экономическое значение имеют около 10 видов *Alternaria*. В первую очередь, это возбудители альтернариозов картофеля, томатов, капусты, рапса, моркови, подсолнечника, а также виды, связанные с заражением семян зерновых культур [1, 2]. Вредоносность альтернариозов проявляется в снижении урожая вследствие уменьшения фотосинтетической поверхности листьев, в плесневении плодов и семян, а также в загрязнении сельскохозяйственной продукции метаболитами гриба, которые могут являться фито-микотоксинами, аллергенами или ферментами [3, 4].

Плесневение и гниение семян, плодов и корнеплодов – типы вреда, причиняемого видами *Alternaria*, которые приводят к ухудшению внешнего вида продукции и её выбраковке. Примером данных заболеваний является широко распространённая чёрная гниль моркови, которая при сильном распространении в поле и при последующем несоблюдении условий хранения может превратить весь урожай в некондиционный. Известны также вызываемые видами *Alternaria* плесневение плодов томатов [5], сердцевинная гниль яблок [6].

Как показано многочисленными отечественными и зарубежными исследователями, изменения климата, в том числе потепление, вызвали существенные изменения в видовой структуре микопатоксикомплексов на многих сельскохозяйственных культурах, возрастание уровня паразитизма патогенов, перемену их органотропной специализации. Из-за сложившихся климатических условий отдельные виды этого рода сменили свой статус и приобрели признаки факультативного паразитизма и полного паразитизма на ряде культурных растений, включая яблоню.

Например, у микромицетов рода *Alternaria* spp., в связи с высокой степенью приспособляемости к неблагоприятным условиям, может происходить переход от сапротрофного типа питания к паразитическому [7].

Так называемый «эволюционный скачок» был установлен в Краснодарском крае у сапротрофного на яблоне вида *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: с 1998 года грибок стал заражать листья, а с 2013 года – цветки яблони, что вызывает развитие в плодах гнили сердцевин [8, 9]. Мониторинг садов Краснодарского края в 2019 г. показал, что в патокмплексе возбудителей гнили сердцевин яблони доминировали виды *A. alternata* и *Alternaria tenuissima* Kunze ex Nees et T. Nees: Fries [10].

Род *Alternaria*, согласно Эллису [11], относится к темноокрашенным гифомицетам, характеризуется муральными конидиями, развивающимися на суженной апикальной части хорошо выраженного конидиеносца. Известны и непигментированные изоляты. Конидиеносцы либо одиночные, либо в свободных пучках разной длины, имеют апикальный рост. Наблюдается симподиальная пролиферация конидиеносца и конидиогенной клетки. Конидии образуются в акропетальных цепочках, варьирующих по длине и сложности ветвления. Некоторые виды образуют одиночные конидии, особенно в полевых условиях. У многих видов можно индуцировать в культуре образование цепочки из 2-х конидий или больше. Дополнительные особенности рода предложены Симмонсом [12-14].

Комплекс видов *A. alternata* включает около 60 морфологически сходных видов, многие из которых трудноотличимы друг от друга. Колонии быстрорастущие, серые, зеленоватые, темно-серые, темно-оливковые, черные, почти без воздушного мицелия (на картофельно-морковном агаре - КМА) или с умеренным воздушным мицелием (на среде с соком V-4), почти всегда с интенсивным спороношением. Конидии чаще всего в длинных простых или ветвящихся цепочках. По форме конидии обратнобулавовидные, яйцевидные или узко-эллипсоидальные, серо-коричневые или оливково-коричневые, в культуре 20-50 (60) × 8-12 мкм, на естественном субстрате немногим крупнее. Поперечных перегородок 3-7(11), продольных – по 1-2 в од-

ном или нескольких поперечных сегментах. Вторичные конидиеносцы короткие, апикальные (обычно не более 5-10 мкм длиной, изредка до 35 мкм), иногда латеральные [13, 14].

Разные виды отличаются друг от друга габитусом споруляции, размером и формой конидий. Спороношение видов *Alternaria* формируется через 3-10 суток. Его появление можно отследить, наблюдая чашки Петри под микроскопом в проходящем (100×) или отражённом (50×) свете. Отсев изолятов удобно осуществлять путём переноса стерильной иглой отдельных конидий (у видов с крупными одиночными конидиями), или нескольких конидий из одной цепочки в чашки Петри с питательными средами КМА (картофельно-морковный агар) или V-8 (V-4), наблюдая процесс переноса под бинокуляром.

При работе с грибами рода *Alternaria*, как и с другими гифомицетами, для идентификации и описания видов необходимо использовать только специальные среды. Ньергард стал первым использовать специальные питательные среды для видов рода *Alternaria* [15]. Затем некоторые среды были отвергнуты микологами, так как они только увеличивали массу мицелия и давали слабое спороношение гриба, а со временем при пересевах, приводили к потере способности спороношения. Симмонс предложил три питательные среды для рода *Alternaria*: слабый КМА (20 г картофеля, 20 г моркови, 20 г агара, 1 л воды), агаровая среда на настое сена, богатая среда с использованием концентрата овощных соков V-8 [12].

Использование таких высококалорийных сред, как овсяный агар, среда Сабуро, картофельно-декстрозный агар (КДА) и другие не подходит для идентификации рода *Alternaria*, так как они поддерживают обильный рост мицелия, а не спороношения гриба. Однако, в меняющихся средовых условиях и тропности патогенов, возникает необходимость мониторинга и подбора питательных сред для каждого отдельного вида, с разных растений-хозяев. Так, исследователи рекомендуют для культивирования вида *A. alternata* (растение-хозяин *Gerbera jamesonii*) такие синтетические среды,

как глюкозо-пептонный агар, среды Леониона и Сабуро, а также не синтетические среды – КДА, овсяный и мукомольный агары [16], для культивирования вида *A. solani* Sorauer (растение-хозяин *Lycopersicon esculentum*) – КДА, овсяный агар [17], КГА, среду Чапека [18], для *A. solani* и *A. alternata* (растение-хозяин *Solanum tuberosum*) – среду Чапека [19].

Выделение грибов в чистую культуру позволяет уточнить видовую принадлежность возбудителя, изучить его морфолого-культуральные признаки и определить характер его паразитизма. Поэтому подбор оптимальных питательных сред для культивирования грибов рода *Alternaria* является актуальной составляющей исследований *in vitro*.

Цель данного исследования: изучить влияние различных питательных сред на рост и морфолого-культуральные признаки выделенных в Краснодарском крае штаммов FR20IV и FR20VI гриба *A. alternata*, возбудителя гнили сердцевины плодов яблони, и определить наиболее оптимальные для их культивирования среды.

Объекты и методы исследований. Исследования проведены в 2020 г. в лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов ФГБНУ СКФНЦСВВ по госзаданию № 0498-2019-0002. Объектами исследований являлись чистые культуры штаммов *A. alternata* FR20IV и FR20VI – возбудителя гнили сердцевины плодов. Выделение микромицета осуществлено в полевой сезон 2020 г. с использованием микробиологического метода [20].

Из семенной камеры свежих плодов, без предварительной поверхностной стерилизации, брали части мицелия и наносили его уколом в чашку Петри на КГА, затем с полученных колоний выделяли на КГА моноспоровые изоляты. Определение вида выделенных штаммов проводили по морфологическим признакам с использованием отечественной и зарубежной определительной литературы [20-24].

Морфологические признаки выделенных штаммов на КГА были типичными для вида *A. alternata*: колонии – оливково-черные; гифы – оливковые; конидиеносцы – одиночные либо в маленьких группах, простые; конидии – в виде длинных ветвистых цепочек; форма конидий обратнобулавовидная; цвет от бледно- до умеренно-золотисто-коричневого.

Для изучения влияния различных питательных сред на рост и морфолого-культуральные признаки *A. alternata* производили посев культуры гриба в трехкратной повторности на двенадцати питательных средах: голодный агар, картофельно-глюкозный агар, морковный агар, томатный агар, сусло-агар, среда с соком V8, среда с перцем, овсяный агар (по Эмерсону), среда Сабуро, среда Чапека, среда Мурасиге и Скуга (с модификацией Реброва) и среда Leroux [24-26].

Полученные посеvy ставили в термостат и инкубировали при 25 °С. Учет роста и развития колоний грибов проводился на 3-и, 5-е и 7-е сутки после посева, учет степени спороношения – на 5-е, 7-е, 10-е, 14-е сутки. Оценивали следующие показатели: диаметр колонии, радиальная скорость роста колонии, культуральные признаки, спорулирующая способность.

Для определения линейного роста измеряли радиус колонии в двух взаимно перпендикулярных направлениях (от места посева до конца зоны роста мицелия) в мм. Радиальную скорость роста колонии вычисляли по формуле [26]:

$$Kr = (r - r_0) / t,$$

где Kr – радиальная скорость роста колонии, мм/ч;

r – радиус колонии в данный момент времени, мм;

r_0 – радиус колонии в начальный момент времени, мм;

t – время от момента посева до момента, когда радиус колонии достигнет r , час.

Максимальное спороношение учитывали на 7-е сутки роста. Определение споруляции проводилось путем подсчета среднего количества спор из 15 полей зрения в каждой чашке Петри.

Обсуждение результатов. В ходе опыта, в зависимости от питательной среды, было отмечено варьирование роста колоний и культуральных признаков. Штаммы *A. alternata* образовали воздушный мицелий на всех изученных питательных средах. Первые признаки роста колоний грибов *in vitro* на разных питательных средах появились на 2-е сутки после посева. На 7-е сутки роста максимальный диаметр колоний гриба был зафиксирован на морковном агаре и КГА, а минимальный – на среде Leroix. Среди синтетических сред максимальный диаметр микромицеты показали на среде Сабуро (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние питательных сред на рост штаммов *Alternaria alternata* FR20IV и FR20VI, возбудителя гнили сердцевины плодов яблони

Питательные среды	Штамм FR20IV			Штамм FR20VI		
	Дни от посева					
	3	5	7	3	5	7
	Диаметр колоний (мм)					
Морковный агар	14,3±0,3	36,0±2,2	85,0±6,1	32,4±1,1	68,8±2,5	88,3±0,0
КГА	16,6±1,4	34,0±3,4	80,0±7,1	36,8±0,3	63,3±1,1	82,8±1,5
Среда Сабуро	6,0±1,6	31,6±2,5	63,3±3,3	21,0±1,9	47,5±64,1	66,5±2,4
Овсяный агар	6,8±0,8	35,3±4,7	61,0±8,2	4,1±0,3	23,2±5,0	61,1±2,2
Среда с перцем	9,7±2,4	29,0±6,4	60,0±7,5	9,2±0,9	36,4±3,3	63,7±3,8
Томатный агар	14,2±0,7	30,6±3,6	58,3±5,5	19,0±1,4	42,5±2,9	61,8±0,2
Среда Чапека	8,7±2,8	24,0±3,3	53,3±7,7	11,0±0,4	29,0±1,5	59,5±2,2
Голодный агар	11,2±0,4	21,2±1,4	52,5±3,2	10,3±0,0	47,3±3,1	59,5±0,1
Сусло-агар	6,0±0,1	21,0±1,0	50,0±1,3	12,0±0,0	40,0±0,5	56,0±1,9
Среда с соком V8	12,0±1,2	31,6±1,3	45,0±3,5	19,0±0,8	42,5±2,7	41,5±0,1
Среда Мурасиге и Скуга	15,6±1,2	23,3±0,8	39,0±2,9	18,4±1,8	29,7±5,0	39,6±4,5
Среда Leroux	9,4±0,8	27,4±1,9	30,5±2,0	17,3±1,6	27,0±3,7	37,3±3,1

Диаметр мицелия штамма FR20IV практически на всех питательных средах был меньше диаметра колоний штамма FR20VI. На 3-и сутки роста у штамма FR20IV диаметр колоний варьировал от 6 мм (среда Сабуро и сусло-агар) до 16 мм (КГА), у штамма FR20VI от 4 мм (овсяный агар) до 36 мм (КГА). Стоит отметить, что на некоторых средах, таких как морковный агар, КГА, среда Сабуро, сусло-агар, среда Мурасиге и Скуга и среда Leroix, рост колоний штаммов разнился в 2-3 раза. Эти особенности скорости роста важно учитывать при необходимости экспресс-культивирования штаммов и в даль-

нейшем использовать для переноса агарового блока экспресс-колонии, выращенной на относительно богатой по составу среде, на более бедную среду (КМА) для получения максимального спороношения, для идентификации и других целей [27, 28].

На 5-е сутки роста грибов радиальная скорость штамма FR20IV была меньше скорости роста штамма FR20VI. В зависимости от питательной среды минимальная радиальная скорость роста штамма FR20IV на 5-е сутки составляла 0,06-0,08 мм/ч на среде Мурасиге и Скуга и голодном агаре; максимальная 0,21-0,23 мм/ч – на овсяном агаре и среде Сабуро, на остальных питательных средах изоляты штамма FR20IV имели среднюю скорость роста 0,12-0,18 мм/ч. Минимальная радиальная скорость роста штамма FR20VI на 5-е сутки составляла 0,08-0,09 мм/ч на средах Мурасиге и Скуга и Leroux; максимальная – 0,30 мм/ч на голодном и морковном агарах, на остальных питательных средах изоляты имели среднюю скорость роста 0,15-0,23 мм/ч, которая была выше на 5 мм/ч, чем у штамма FR20IV.

На 7-е сутки роста у штамма FR20IV наблюдалось увеличение радиальной скорости роста, которая варьировала от 0,12 до 0,42 мм/ч; у штамма FR20VI на девяти средах скорость была ниже таковой штамма FR20IV – от 0,11 до 0,33 мм/ч (рис. 1)

Для обоих штаммов на 7-е сутки максимальная скорость наблюдалась на морковном, картофельном-глюкозном, овсяном агарах и на среде Сабуро. В зависимости от питательной среды отмечалось различие в спороношении патогенов. Конидиальное спороношение было отмечено на 7-е сутки на всех средах, кроме голодного агара, на котором спороношения не наблюдалось. Большее количество конидий для обоих изученных штаммов было зафиксировано на морковном и картофельном агарах, средах с соком V8, Сабуро и с перцем, причем на последней среде наблюдались конидии большего размера, чем обычно. Минимальное спороношение имели изоляты, культивируемые на среде Leroux (табл. 2).

Рис. 1. Радиальная скорость роста штамм FR20IV и штамм FR20VI *Alternaria alternata* возбудителя гнили сердцевины плодов яблони (7 сутки)

Таблица 2 – Влияние питательных сред на спорулирующую способность штаммов FR20IV и FR20VI *Alternaria alternata*, возбудителя гнили сердцевины плодов яблони

Концентрация спор* (шт.)	Штаммы / Питательные среды	
	FR20IV	FR20VI
0	голодный агар	голодный агар
1-10	среда Legoix	среда Legoix
11-20	овсяный агар, среда Чапека	сусло-агар, овсяный агар
21-30	морковный агар, среда Сабуро, среда с перцем, томатный агар, среда Мурасиге и Скуга	картофельно-глюкозный агар, томатный агар, среда Мурасиге и Скуга, среда Чапека
31-40	сусло-агар, среда с соком V8, картофельно-глюкозный агар	морковный агар, среда Сабуро, среда с перцем, среда с соком V8

*7-е сутки

При использовании разных питательных сред следует учитывать, что, по литературным данным, морфология конидий, полученных на КМА и V-4 (V-8), несколько отличается. Морфология крупноспоровых видов, выращенных на КМА и наблюдаемых на естественном субстрате, совпадает в

большей степени, чем таковая грибов, культивируемых на средах V-8 и V-4. На V-8 и V-4 корпус конидий более крупный, а апикальные выросты, напротив, короче и реже ветвятся. Также при идентификации мелкоспоровых видов, например при невозможности разделения видов комплексов *A. alternata* и *A. infectoria* имеет смысл проводить наблюдение культурально-морфологических свойств на богатых по составу средах: среда Чапека и картофельно-сахарозный агар. Для видов *Alternaria* рекомендуют использовать среду DRYES, при выращивании на которой изоляты характеризуются небольшой скоростью роста, обильным и ярким воздушным мицелием. На среде DRYES изоляты комплекса *A. alternata* формируют тёмно-зелёные, зеленовато-серые или тёмно-оливковые колонии, тогда как изоляты комплекса *A. infectoria* формируют бесцветные или бледно-окрашенные колонии [29]. Для тех же целей возможно использование более простой по составу среды YES [30].

Состав изученных питательных сред также оказал влияние на культуральное разнообразие штаммов *A. alternata*. Изоляты грибов на различных средах отличались формой, структурой и цветом колоний, но были в пределах описания современной номенклатуры и систематики.

Штамм FR20IV на сусло-агаре имел белоснежный приподнятый мицелий, гетерогенный; на КГА – темно-серый. На среде Чапека цвет культуры был бледно-серого оттенка с войлочным мицелием. На томатном агаре мицелий имел светло-зеленый цвет, причем на последней среде гриб имел самый высокий мицелий и был неправильной формы (рис. 2). На морковном агаре, средах с соком V8 и с перцем мицелий гриба был бело-серого цвета. На среде Сабуро мицелий имел неправильную форму, гетерогенные цвет и структуру, а также неровный край. На голодном агаре сформировались едва различимые тонкие полупрозрачные гифы гриба, которые можно увидеть только с подсветкой.

Рис. 2. Влияние питательных сред на культуральные свойства штамма *Alternaria alternata* FR20IV, возбудителя гнили сердцевины плодов яблони

Штамм FR20VI имел схожие морфологические признаки с штаммом FR20IV, кроме некоторых отличий в форме и оттенках культуры. Серый цвет мицелия изолятов штамма FR20VI наблюдался на средах МА, КГА, среде Чапека и Leroux; серо-белый цвет – на среде Сабуро и V8; серо-зеленый цвет – на томатный агаре и среде с перцем; зеленый цвет – на овсяном агаре и среде Мурасиге и Скуга; белоснежный – на сусло-агаре; на голодном агаре образовался полупрозрачный мицелий.

Слабоконический профиль культуры среди изученных изолятов был на МА, плоский – на КГА, среде Сабуро, овсяном и голодном агарах. На

остальных средах штамм имел приподнятый профиль. По форме культуры штамм FR20VI также имел различия на разных питательных средах: правильная форма мицелия наблюдалась на КГА, морковном, овсяном агарах и на среде с соком V8, на остальных средах грибок имел неправильную форму (рис. 3). На среде Сабуро наблюдался отчетливый концентрический рисунок, характеризующийся чередованием светлых и темных участков мицелия гриба.

Рис. 3. Влияние питательных сред на рост штамма *Alternaria alternata* FR20VI, возбудителя гнили сердцевины плодов яблони

Таким образом, результаты исследования показали большое разнообразие морфолого-культуральных свойств вида *A. alternata* на различных питательных средах. По совокупности изученных морфолого-культуральных признаков полученные нами данные совпали с данными, полученными исследователями на среде Сабуро [16] и КГА [18]. Изучение вариации цвета

колонии и субстрата, края колонии и топографии мицелия на двенадцати питательных средах позволяет дополнить существующие литературные данные и может помочь в таксономической идентификации *A. alternata* на плодовых и других культурах.

Заключение. В результате исследований у двух штаммов возбудителя гнили сердцевины плодов яблони *Alternaria alternata* отмечено варьирование не только скорости роста колоний, но и их культуральных признаков в зависимости от питательной среды. Исследования показали, что для изучения вариативности культуральных признаков необходимо использовать среды различного состава.

Сравнительное изучение на двенадцати питательных средах морфолого-культуральных признаков штаммов FR20IV и FR20VI позволило выделить наиболее пригодные для их культивирования и идентификации три универсальные среды, а именно – морковный, картофельно-глюкозный агары и среда Сабуро, по следующим критериям: обеспечение максимальной степени спороношения, быстрый рост и развитие мицелия гриба, легкость в приготовлении.

Литература

1. Левкина Л.М. Таксономия рода *Alternaria* / Микология и фитопатология. 1984. Т. 18. –№ 1. С. 80-86.
2. Ганнибал Ф.Б., Орина А.С., Левитин М.М. Альтернариозы сельскохозяйственных культур на территории России // Защита и карантин растений. 2010. № 5. С. 30-32.
3. Оценка гибридных форм винограда селекции СКФНЦСВВ на поражаемость альтернариозной пятнистостью / М.В. Буровинская [и др.] // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. Т. 26. Краснодар: СКФНЦСВВ, 2019. С. 114-119.
4. Ганнибал Ф.Б. Мониторинг альтернариозов сельскохозяйственных культур и идентификация грибов рода *Alternaria*. Методическое пособие. С-Пб: ВИЗР. 2011. 72 с.
5. Mislivec, P.B. Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production // P.B. Mislivec, V.R. Bruce, M.E. Stack, R. Bandler // J. Food Prod., 1987, 50, p. 38–41.
6. Serdani, M. Characterisation of *Alternaria* species- groups associated with core rot of apples in South Africa // M. Serdani, J.- C. Kang, B. Andersen, P.W. Crous // Mycol. Res., 2002, 106, 5, p. 561–569
7. Ганнибал Ф.Б., Бильдер И.В., Ули-Миттила Т. Виды рода *Alternaria* на яблоне // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42. № 1. С. 20-27.

8. Якуба Г.В. Элементы тактики защиты яблони от альтернариоза // Оптимизация фитосанитарного состояния садов в условиях погодных стрессов: сборник трудов ГНУ СКЗНИИСИВ. Краснодар, СКЗНИИСИВ, 2005. С. 251-254.
9. Якуба Г.В. Структура патогенного комплекса возбудителей микозов наземной части растений яблони в условиях изменения климата // Научные труды ГНУ СКЗНИИСИВ. Том 5. Краснодар: СКЗНИИСИВ, 2014. С. 151-157.
10. Якуба Г.В., Астапчук И.Л., Насонов А.И. Видовая структура комплекса микромицетов, возбудителей гнили сердцевины плодов яблони Краснодарского края [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. № 60(6). С. 148-162. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/19/06/15.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162 (дата обращения: 11.02.2021).
11. Ellis, M.B. More Dematiaceous Hyphomycetes / Commonwealth Mycological Institute, Kew. 1976. 507 pp.
12. Simmons, E.G. Alternaria taxonomy: current status, viewpoint, challenge // In Alternaria Biology. Plant Diseases and Metabolites. 1992. Topics in secondary metabolism, vol.3, p. 1-35.
13. Ганнибал Ф.Б. Мелкоспоровые виды рода *Alternaria* на злаках // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38. № 3. С. 19–28.
14. Левкина Л.М. Род *Alternaria* Nees // Новое в систематике и номенклатуре грибов / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. М.: Общероссийская общественная организация «Общественная национальная академия микологии», 2003. С. 276-303.
15. Neergaard, P. Danish Species of Alternaria and Stemphylium // E. Munksgaard, openhagen. – 1945. – 560 pp.
16. Dipak, T. N. Morphological and cultural characterization of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler blight of gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex J.D. Hook) / Dipak T. Nagrale, Anil P. Gaikwad, Lalan Sharma // Journal of Applied and Natural Science 2013. 5 (1) - P. 171-178.
17. Somnath, K. Evaluation of Culture Media for Growth Characteristics of *Alternaria solani*, Causing Early Blight of Tomato / K. Somnath, Shyama // Plant Pathol Microbiol. – 2015. – S:1. – P. 1-5.
18. Николаева, С. Влияние состава питательной среды на рост грибов рода *Alternaria* / С. Николаева, А. Николаев, В. Шубина, Л. Волощук // Revista stiintifica a Universitatii de Stat din Moldova, 2011, nr.1(41) – С. 117-123.
19. Мельникова Е.С., Мелькумова Е. А. Морфолого-культуральная характеристика альтернариоза картофеля в чистой культуре // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. 2015. № 4 (47). С. 34-38.
20. Поликсенова В.Д., Храмцов А.К., Пискун С.Г. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для студентов 4 курса дневного отделения специальности «G 31 01 01 – Биология». Минск: БГУ, 2004. 36 с.
21. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / Под ред. М.К. Хохрякова. Ленинград: ВИЗР, 1974. 69 с.
22. Бондарцев А.С. Шкала цветов // Пособие для биологов при научных и научно-прикладных исследованиях. М.-Л., 1954. 27 с.
23. Пидопличко Н.М. Грибы – паразиты культурных растений, Определитель в 3 томах. Киев: «Наукова Думка». 1977.
24. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: пер. с англ. М.: Мир, 2001. 486 с.
25. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений / А.И. Нетрусов [и др.]; под ред. А.И. Нетрусова. М.: Academia, 2005. 608 с.

26. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol Plant* 15(3). 1962. – P. 473-497.
27. Bussey, M. A leaf disk assay for detecting resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plants/ M. Bussey, W. Stevenson // *Plant Dis.*, 1991, 75, 4, p. 385–390.
28. Chaerani, R. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance / Chaerani, R., Voorrips R.E. // *General Plant Pathol.* – 2006. – 72, 6. – P. 335-347.
29. Andersen, B. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics / Andersen B., Thrane U. // *Can. J. Microbiol.* – 1996, 42. P. – 685–689.
30. Ганнибал Ф.Б., Ули-маттила Т. Дифференциация мелкоспоровых видов рода *Alternaria* со злаков по культуральным признакам и молекулярным данным // *Микология и фитопатология*. 2005. Т. 39, № 4. С. 13-23.

References

1. Levkina L.M. Taksonomiya roda *Alternaria* / *Mikologiya i fitopatologiya*. 1984. Т. 18. – № 1. S. 80-86.
2. Gannibal F.B., Orina A.S., Levitin M.M. Al'ternariozy sel'skohozyajstvennyh kul'tur na territorii Rossii // *Zashchita i karantin rastenij*. 2010. № 5. S. 30-32.
3. Ocenka gibridnyh form vinograda selekcii SKFNCSVV na porazhaemost' al'ternarioznoj pyatnistost'yu / M.V. Burovinskaya [i dr.] // *Nauchnye trudy Severo-Kavkazskogo federal'nogo nauchnogo centra sadovodstva, vinogradarstva, vinodeliya*. Т. 26. Krasnodar: SKFNCSVV, 2019. S. 114-119.
4. Gannibal F.B. Monitoring al'ternariozov sel'skohozyajstvennyh kul'tur i identifikatsiya gribov roda *Alternaria*. Metodicheskoe posobie. S-Pb: VIZR. 2011. 72 s.
5. Mislivec, P.B. Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production // P.B. Mislivec, V.R. Bruce, M.E. Stack, R. Bandler // *J. Food Prod.*, 1987, 50, p. 38-41.
6. Serdani, M. Characterisation of *Alternaria* species- groups associated with core rot of apples in South Africa // M. Serdani, J.- C. Kang, B. Andersen, P.W. Crous // *Mycol. Res.*, 2002, 106, 5, p. 561–569
7. Gannibal F.B., Bil'der I.V., Uli-Mittila T. Vidy roda *Alternaria* na yablone // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2008. Т. 42. № 1. S. 20-27.
8. Yakuba G.V. Elementy taktiki zashchity yablони ot al'ternarioza // *Optimizatsiya fitosanitarnogo sostoyaniya sadov v usloviyah pogodnyh stressov: sbornik trudov GNU SKZNIISiV*. Krasnodar, SKZNIISiV, 2005. S. 251-254.
9. Yakuba G.V. Struktura patogennogo kompleksa vzbuditelej mikozy nazemnoj chasti rastenij yablони v usloviyah izmeneniya klimata // *Nauchnye trudy GNU SKZNIISiV*. Tom 5. Krasnodar: SKZNIISiV, 2014. S. 151-157.
10. Yakuba G.V., Astapchuk I.L., Nasonov A.I. Vidovaya struktura kompleksa mikro-micetov, vzbuditelej gnili serdcevinny plodov yablони Krasnodarskogo kraya [Elektronnyj resurs] // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2019. № 60(6). S. 148-162. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/19/06/15.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2019-6-60-148-162 (data obrashcheniya: 11.02.2021).
11. Ellis, M.B. More Dematiaceous Hyphomycetes / Commonwealth Mycological Institute, Kew. 1976. 507 pp.
12. Simmons, E.G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge // In *Alternaria Biology. Plant Diseases and Metabolites*. 1992. Topics in secondary metabolism, vol. 3, p. 1-35.
13. Gannibal F.B. Melkosporovye vidy roda *Alternaria* na zlakah // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2004. Т. 38. № 3. S. 19–28.

14. Levkina L.M. Rod *Alternaria* Nees // *Novoe v sistematike i nomenklature gribov* / Pod red. Yu.T. D'yakova, Yu.V. Sergeeva. M.: Obshcherossiyskaya obshchestvennaya organizatsiya «Obshchestvennaya natsional'naya akademiya mikologii», 2003. S. 276-303.
15. Neergaard, P. Danish Species of *Alternaria* and *Stemphylium* // E. Munksgaard, openhagen. – 1945. – 560 pp.
16. Dipak, T. N. Morphological and cultural characterization of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler blight of gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex J.D. Hook) / Dipak T. Nagrale, Anil P. Gaikwad, Lalan Sharma // *Journal of Applied and Natural Science* 2013. 5 (1) – P. 171-178.
17. Somnath, K. Evaluation of Culture Media for Growth Characteristics of *Alternaria solani*, Causing Early Blight of Tomato / K. Somnath, Shyama // *Plant Pathol Microbiol.* – 2015. – S:1. – P. 1-5.
18. Nikolaeva, S. Vliyanie sostava pitatel'noj sredy na rost gribov roda *Alternaria* / S. Nikolaeva, A. Nikolaev, V. Shubina, L. Voloshchuk // *Revista stiintifica a Universitatii de Stat din Moldova*, 2011, nr.1(41) – C. 117-123.
19. Mel'nikova E.S., Mel'kumova E. A. Morfologo-kul'tural'naya harakteristika al'ternarioza kartofelya v chistoj kul'ture // *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2015. № 4 (47). S. 34-38.
20. Poliksenova V.D., Hramcov A.K., Piskun S.G. Metodicheskie ukazaniya k zanyatiyam specpraktikuma po razdelu «Mikologiya. Metody eksperimental'nogo izucheniya mikroskopicheskikh gribov» dlya studentov 4 kursa dnevnogo otdeleniya special'nosti «G 31 01 01 – Biologiya». Minsk: BGU, 2004. 36 s.
21. Metodicheskie ukazaniya po eksperimental'nomu izucheniyu fitopatogennykh gribov / Pod red. M.K. Hohryakova. Leningrad: VIZR, 1974. 69 s.
22. Bondarcev A.S. Shkala cvetov // *Posobie dlya biologov pri nauchnykh i nauchno-prikladnykh issledovaniyakh*. M.-L., 1954. 27 s.
23. Pidoplichko N.M. Griby – parazity kul'turnykh rastenij, Opredelitel' v 3 tomah. Kiev: «Naukova Dumka». 1977.
24. Satton D., Fotergill A., Rinal'di M. Opredelitel' patogennykh i uslovno patogennykh gribov: per. s angl. M.: Mir, 2001. 486 s.
25. Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie dlya studentov vysshih uchebnykh zavedenij / A.I. Netrusov [i dr.]; pod red. A.I. Netrusova. M.: Academia, 2005. 608 s.
26. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol Plant* 15(3). 1962. – P. 473-497.
27. Bussey, M. A leaf disk assay for detecting resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plants/ M. Bussey, W. Stevenson // *Plant Dis.*, 1991, 75, 4, p. 385-390.
28. Chaerani, R. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance / Chaerani, R., Voorrips R.E. // *General Plant Pathol.* – 2006. – 72, 6. – R. 335–347.
29. Andersen, B. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics / Andersen B., Thrane U. // *Can. J. Microbiol.* – 1996, 42. R. – 685–689.
30. Gannibal F.B., Uli-mattila T. Differenciatsiya melkosporovykh vidov roda *Alternaria* co zlakov po kul'tural'nykh priznakam i molekulyarnym dannym // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2005. T. 39, № 4. C. 13-23.