

Фитопатология

УДК 633.1:581.2:632.4

doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.605rus

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАЗВИТИЕ АЛЬТЕРНАРИОЗА ЗЕРНА У ЗЛАКОВ, ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ***Ф.Б. ГАННИБАЛ**

Грибы рода *Alternaria* часто и повсеместно заражают семена зерновых культур. Причиной при этом ущерб оценивается по-разному, вероятно, из-за того, что грибы рода *Alternaria* представляют собой неоднородную группу. Целесообразна и доступна в настоящее время идентификация заражающих зерно видов *Alternaria* с точностью до секции. Наиболее распространены представители двух секций — *Alternaria* и *Infectoriae*. Мы впервые, используя обширный материал, сравнили влияние набора факторов (культура, сорт, предшественник, регион, район, сезон, поражение другими видами *Alternaria* и видами других родов грибов) на зараженность зерна видами *Alternaria*. Всего проанализировали 422 образца зерна пшеницы, ячменя, сорго и кукурузы урожая 2010–2012 года из семи регионов европейской части России. Большинство образцов представляли собой семена пшеницы из Ставропольского и Краснодарского краев. Погодно-климатические факторы играли определяющую роль в заражении. Зараженность зерна пшеницы и ячменя в разные годы в среднем по разным районам Краснодарского и Ставропольского краев существенно колебалась и составила для видов рода *Alternaria* секций *Alternaria* 7,0–71,5 % и *Infectoriae* — 8,6–74,0 %. В большинстве случаев зараженность зерна одновременно в разных районах и в разные годы в одном районе различалась статистически достоверно ($p < 0,001$). Все сорта пшеницы и ячменя оказались в равной степени подвержены заражению грибами рода *Alternaria* ($p = 0,6-0,9$ для секции *Alternaria* и $p = 0,1-0,5$ для *Infectoriae*). Так же сильно заражались рожь и овес, в меньшей степени — кукуруза (видимо, благодаря плотным и толстым многослойным оберткам початка). Достоверного влияния предшественника (кукуруза, подсолнечник, сахарная свекла, пар, озимая пшеница) на долю инфицированных семян пшеницы не обнаружили. Связь зараженности зерна ячменя видами *Alternaria* с присутствием *Bipolaris sorokiniana* и *Pyrenophora* spp. была отрицательной и умеренной по силе: для секции *Alternaria* — соответственно $r = -0,69$ и $-0,61$, для *Infectoriae* — $r = -0,64$ и $-0,61$ при низких уровнях значимости. Виды *Alternaria* из секции *Alternaria* не влияли на поражение зерна пшеницы и ячменя видами секции *Infectoriae* и наоборот. Связь всхожести и зараженности *Alternaria* spp. оказалась недостоверной. В среднем зараженность всхожих и невсхожих семян различалась на $-1,6$ % для представителей секции *Alternaria* и на $+2,1$ % — для секции *Infectoriae*.

Ключевые слова: *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *A. infectoria*, зараженность зерна, всхожесть семян, пшеница, ячмень.

Грибы рода *Alternaria* очень часто и повсеместно обнаруживаются в семенах растений, в том числе зерновых культур. Зараженность зерна этими микромицетами в некоторых случаях достигает почти 100 %, что может пагубно сказываться на качестве семян, продовольственного и фуражного зерна (1). Изучение альтернариозов злаков в России ведется более 100 лет, но не утратило актуальности. Существуют противоречащие друг другу мнения об этиологии и вредоносности заболеваний, традиционно связываемых с грибами рода *Alternaria*. Например, в ранних работах сообщалось, что зараженные *Alternaria* семена хорошо выполнены, всхожи и дают начало здоровым растениям (2, 3). Позднее появлялись указания на то, что внутренняя инфекция семян способствует развитию корневой гнили, ослабляющей всходы или приводящей к их гибели (4, 5).

Одна из наиболее вероятных причин противоречивых данных — разнообразие грибов рода *Alternaria*, которое не всегда адекватно учитывается. Среди видов *Alternaria*, обнаруживаемых в зерне, есть сапротрофные и слабо фитопатогенные, есть виды, продуцирующие фито- и микотоксины и не синтезирующие их (1). Несмотря на очевидную необходимость качественной идентификации, из-за ряда объективных сложностей ее часто

* Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 14-26-00067).

проводят либо неточно (только до рода), либо с ошибками. Всего существует более 50 видовых эпитетов рода *Alternaria*, обозначающих грибы, имеющие отношение к заселению злаков, однако только около 10 видовых названий легитимны и используются (6). Чаще других упоминаются так называемые мелкоспоровые виды: *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. tenuissima* и виды группы видов *A. infectoria* (7-9). Род *Alternaria*, включающий около 300 видов, недавно в результате основательной ревизии был разбит на 27 секций (10-12). Виды *A. alternata*, *A. arborescens* и *A. tenuissima* оказались филогенетически очень близкими и были помещены в одну секцию *Alternaria*, насчитывающую в общей сложности около 60 видов (13), многие из которых настолько сходны по молекулярно-генетическим маркерам, что очевидно подлежат объединению в 10-15 видов (12, 14). Виды группы *A. infectoria* оказались в секции *Infectoriae*. Внутри секций виды дифференцируются в первую очередь по морфологическим признакам, что остается спорным (15, 16). То есть пока что надежной может считаться только дифференциация заражающих зерно видов *Alternaria* на представителей секций *Alternaria* и *Infectoriae*. При решении большинства прикладных задач идентификация до секции достаточна, так как секции объединяют виды, в целом близкие по экологическим свойствам (11). Виды секций *Alternaria* и *Infectoriae* — обычные компоненты микобиоты зерна на всех континентах, где выращивают зерновые (1, 8, 17, 18). В европейской части России в зерне пшеницы представители обеих секций обнаруживаются примерно с равной частотой (зараженность для *A. tenuissima* 2-56 %, для видов комплекса *A. infectoria* — 2-72 %). На Дальнем Востоке *A. tenuissima* был на пшенице почти единственным видом, приставляющим род (29-76 %) (1, 18).

Вред, причиняемый этими грибам, связан прежде всего с загрязнением микотоксинами, опасными для человека и животных (19, 20). Виды секции *Alternaria* способны синтезировать токсичные метаболиты. Спектр выделяемых ими мико- и фитотоксинов практически одинаков и зависит в большей степени от штамма, чем от вида гриба (9, 21). Большинство штаммов *A. tenuissima*, изолированных из злаков и других хозяев, продуцируют по несколько токсинов разной химической природы в различных комбинациях (7, 9, 22): альтернариол, монометилловый эфир альтернариола, альтенуен, тентоксин, тенуазоновая кислота, альтертоксины I, II и III. Некоторые изоляты секции *Infectoriae* способны продуцировать те же токсины, что и виды секции *Alternaria*, но в незначительных количествах (23, 24). Для большинства видов секции характерен ряд метаболитов — структурных аналогов нескольких микотоксинов (9, 25, 26), однако биологическая активность этих веществ не изучена.

Большое практическое значение альтернариоза зерна определяет необходимость изучения влияния внешних условий на зараженность зерна грибами рода *Alternaria*. При этом нужно учитывать, что в зависимости от экологических условий представители разных секций *Alternaria* могут неодинаково влиять на качество зерна. Про влияние разных факторов на зараженность зерна видами *Alternaria* известно немного. Так, сообщалось о роли абиотических факторов, способствующих развитию черного зародыша. Появление такого зародыша и альтернариоз зерна связаны с воздействием сходных абиотических факторов в период цветения—созревание: сильные осадки, продолжительные росы, обильный полив, высокая влажность воздуха (27-31), в меньшей степени — экстремальные температуры (32, 33). Во многих исследованиях предполагалось, что черный зародыш вызывают в том числе виды *Alternaria*, но при этом их не идентифицировали и такая связь не была показана, поэтому интерпретация полученных результатов

вызывает затруднения. Чаще всего корреляция между симптомами и зараженностью видами *Alternaria* отсутствует (34).

Можно сделать несколько предположений (нулевых гипотез) относительно того, какие явления должны сказываться на частоте встречаемости *Alternaria* в семенах зерновых культур. Очевидно, что на развитие альтернариоза зерна способны влиять погодно-климатические факторы. Тогда различие погодных условий в разных районах в течение одного сезона и в одном районе при смене сезонов должно приводить к неодинаковой средней зараженности в разных регионах в один год и в одном районе в разные годы. Все упомянутые ранее виды *Alternaria* не имеют субстратной специализации, поэтому вид и сорт растения не должны влиять на зараженность. Исключение может составить кукуруза, имеющая плотные оболочки початка, которые способны препятствовать проникновению инфекции *Alternaria* в зерновки. Поскольку источником инфекции служат остатки любых растений, в том числе сорной и дикой растительности, то культура-предшественник и севооборот не должны сказываться на развитии альтернариоза.

Интересен вопрос о влиянии на зараженность одним видом *Alternaria* присутствия другого вида того же рода или других родов. Грибы рода *Alternaria* проникают только в поверхностные слои семени и занимают его не полностью, и присутствие нескольких штаммов и видов *Alternaria* и других грибов в разных частях семени нам представляется вполне вероятным.

В настоящей работе впервые представлены результаты проверки гипотезы, подразумевающей, что средняя зараженность зерна видами *Alternaria* существенно не различается для разных культур, сортов и предшественников, но неодинакова при сравнении разных регионов и сезонов.

Цель работы — определить связь между зараженностью семян зерновых культур представителями двух секций рода *Alternaria* и всхожестью, видом растения, условиями выращивания в европейской части России.

Методика. Зерно пшеницы, ячменя, сорго, кукурузы (422 образца урожая 2010–2012 годов) для анализа было получено из 7 регионов европейской части России. Большинство образцов составляли семена пшеницы с юга страны — из Ставропольского и Краснодарского края (2010, 2011 и 2012 годы) (соответственно 31, 53, 38 и 65, 64, 72 образца). В этих регионах зерно отбирали в 22–28 районах.

Зараженность зерна *Alternaria* spp. по регионам сравнивали на 48 образцах ячменя из 6 регионов и 161 образце пшеницы из 8 регионов, по районам — на образцах из Ставропольского и Краснодарского краев. Сравнение по районам выполняли в 3-кратной повторности (урожай 2010–2012 годов), по регионам — единожды (урожай 2012 года). Выборка каждого года содержала по 16–72 образца пшеницы разных сортов из 5–15 районов каждого региона. Районы были представлены минимум 3 образцами из разных хозяйств.

Влияние условий года оценивали на 72 образцах пшеницы из 6 районов Ставропольского и Краснодарского краев (урожай 2010–2012 годов, по 3–6 образцов из каждого района в один год).

Для сравнения культур по зараженности использовали 48 образцов ячменя и 76 образцов пшеницы (урожай 2012 года) из 6 регионов России, 5 образцов зернового сорго из Самарской области (2012 год), 5 образцов кукурузы из Липецкой области (2012 год) и 6 образцов кукурузы из Краснодарского края (2011 год). Влияние сорта исследовали на 131 образце пшеницы (урожай 2011 и 2012 годы), представляющем 16 сортов из разных районов Ставропольского и Краснодарского краев.

При изучении роли предшественников оценили 74 образца пшени-

цы урожая 2010 года из Краснодарского и Ставропольского краев, выращенной после кукурузы и подсолнечника (оба региона), сахарной свеклы (Краснодарский край), озимой пшеницы и пара (Ставропольский край).

Частоту совместного заражения представителями разных секций *Alternaria* определяли на 235 образцах пшеницы и ячменя урожая 2012 года, полученных из разных регионов. Для оценки связи между поражением разными темноокрашенными гифомицетами одних и тех же партий зерна использовали 48 образцов ячменя урожая 2012 года из 6 регионов с зараженностью видами *Alternaria* секции *Alternaria* 3-80 %, секции *Infectoriae* 0-50 %, а также *Bipolaris sorokiniana* — 0-66 % и *Pyrenophora* spp. — 0-37 %.

На 11 образцах 8 сортов пшеницы урожая 2011 года из 6 районов Ставропольского края исследовали сопряженность всхожести с зараженностью, учитывая ее отдельно для всхожих и невсхожих семян.

Перед всеми анализами семена для поверхностной стерилизации помещали в 1 % раствор гипохлорита натрия на 2 мин с постоянным перемешиванием, трижды ополаскивали стерильной водой и переносили в чашки Петри (10 семян на чашку диаметром 90 мм) с картофельно-сахарозным агаром (PSA) (35), в который добавляли 0,002 % Triton X-100 для замедления роста грибов. Культуры инкубировали 7-10 сут при 22 °С. Грибы родов *Alternaria*, *Pyrenophora* и *Bipolaris* идентифицировали при прямом просмотре колоний и по спороношению (использовали микроскоп отраженного света Stemi 2000C («Carl Zeiss AG», Германия, увеличение ×50). При невозможности однозначной идентификации колонии индивидуально отсеивали в чашки Петри с картофельно-морковным агаром (PCA) (6) и инкубировали при фотопериоде 12/12 ч (лампы дневного света, 1000-2000 лк), идентифицируя по габитусу спороношения и морфологии конидий (6, 35).

Рассчитывали средние (M), ошибки средней ($\pm SEM$), статистическую значимость (p) по критерию Фишера (F -критерий) и коэффициент корреляции (r) в программе Statistica 6.1 («StatSoft, Inc.», США).

Результаты. Для последующего усреднения и сравнения из общего пула сформировали 9 выборок (табл. 1). Каждая выборка (зерно одной культуры/сорта урожая одного года в одном регионе/районе) включала 3-11 образцов.

1. Характеристика выборок семян зерновых культур при оценке влияния различных факторов на зараженность грибами рода *Alternaria*

Фактор	Культура	Год урожая	N	Выборка с учетом числа		
				регионов	районов	сорт
Регион	Пшеница	2012	161	8		
	Ячмень	2012	48	6		
Район	Пшеница	2010	31	1 (Ставропольский край)	16	24
		2011	53		18	25
		2012	38		11	25
		2010	65	1 (Краснодарский край)	24	26
		2011	64		16	22
		2012	72		15	28
Сезон	Пшеница	2010-2012	72	2 (Ставропольский и Краснодарский края)	6	
Культура	Пшеница	2012	76	6		
	Ячмень	2012	48	6		
	Сорго	2012	5	1 (Самарская обл.)		
	Кукуруза	2012	5	1 (Липецкая обл.)		
	Кукуруза	2011	6	1 (Краснодарский край)		
Сорт	Пшеница	2011	25	1 (Ставропольский край)		5
		2012	9			3
		2011	43	1 (Краснодарский край)		6
		2012	55			11
Предшественник	Пшеница	2010	65	1 (Ставропольский край)		
			31	1 (Краснодарский край)		

Взаимовлияние видов <i>Alternaria</i>	Пшеница, ячмень	2012	235	10		
Влияние видов <i>Bipolaris</i> и <i>Pyrenophora</i>	Ячмень	2012	48	6		
Всхожесть	Пшеница	2011	11	1 (Ставропольский край)	6	8
Всего по выборкам	Пшеница, ячмень, 2010-2012 сорго, кукуруза		422	7	> 60	

Примечание. *N* — число образцов. Пропуски в таблице означают, что данные характеристики не имели существенного значения для проведения эксперимента и не учитывались при составлении выборки.

На примере 8 регионов было показано, что региональные особенности существенно влияют на зараженность зерна пшеницы и ячменя видами *Alternaria* (табл. 2, 3). При этом зараженность представителями разных секций могла различаться в несколько раз в зависимости от региона.

2. Средняя зараженность семян пшеницы и ячменя грибами рода *Alternaria* в разных регионах европейской части России (урожай 2012 года)

Регион	Пшеница					Ячмень				
	<i>N</i>	Alt	±SEM	Inf	±SEM	<i>N</i>	Alt	±SEM	Inf	±SEM
Ставропольский край	38	46,0	2,5	30,6	2,0	11	49,9	8,0	23,5	5,0
Краснодарский край	79	59,0	1,4	24,6	1,2					
Липецкая область	13	31,4	3,0	44,2	2,5	9	64,7	6,0	22,7	2,0
Курская область	10	38,8	4,4	38,2	2,7	9	39,1	6,5	17,1	3,6
Воронежская область	6	47,7	9,0	38,2	3,8	8	34,9	4,1	35,4	4,5
Республика Северная Осетия	6	46,2	9,2	5,5	2,7					
Ленинградская область	5	13,0	4,3	10,4	4,6	5	12,2	2,2	18,6	3,7
Тамбовская область	4	37,0	5,8	42,3	4,1	6	37,7	7,7	29,7	8,0

Примечание. *N* — число образцов; Alt — средняя зараженность (*M*) видами секции *Alternaria*; Inf — средняя зараженность (*M*) видами секции *Infectoriae*, ±SEM — ошибка средней. Пропуски в таблице означают отсутствие данных.

3. Статистическая значимость (*p*) сочетания факторов, влияющих на зараженность зерна пшеницы и ячменя грибами рода *Alternaria* в Ставропольском и Краснодарском краях в разные годы

Фактор	Параметр формирования выборки	Секция <i>Alternaria</i>	Секция <i>Infectoriae</i>
Регион	Пшеница	< 0,001	< 0,001
	Ячмень	0,001	0,027
Район	Ставропольский край, 2010 год	0,927	0,487
	Краснодарский край, 2010 год	0,748	0,917
	Ставропольский край, 2011 год	< 0,001	< 0,001
	Краснодарский край, 2011 год	0,041	0,122
	Ставропольский край, 2012 год	< 0,001	< 0,001
	Краснодарский край, 2012 год	< 0,001	< 0,001
Сезон (год)		< 0,001	0,012
Культура (пшеница/ячмень)		0,975	0,304
Сорт пшеницы	Ставропольский край, 2011 год	0,872	0,109
	Краснодарский край, 2011 год	0,678	0,508
	Ставропольский край, 2012 год	0,806	0,515
	Краснодарский край, 2012 год	0,595	0,272
Предшественник	Ставропольский край, 2010 год	0,699	0,506
	Краснодарский край, 2010 год	0,493	0,723
Зараженность:			
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	< 0,001	< 0,001
	<i>Pyrenophora</i> spp.	< 0,001	< 0,001
	видами секции <i>Alternaria</i>	—	0,090
видами секции <i>Infectoriae</i>	0,090	—	
Всхожесть	Культура (пшеница)	0,846	0,637

Примечание. Прочерки в таблице означают, что выборка включала образцы разных лет из нескольких регионов.

Несмотря на значительные колебания от года к году, при сравнении показателей для Ставропольского и Краснодарского края видно, что в среднем в первом случае зараженность представителями секции *Alternaria* ниже, а *Infectoriae* — выше. Исключение составил 2010 год, когда зараженность пшеницы видами секции *Alternaria* в обоих регионах была низкой и

достоверно не различалась.

Зараженность семян пшеницы видами рода *Alternaria* по районам в разные годы варьировала (табл. 4). В Ставропольском и Краснодарском краях разница для видов обеих секций по районам в 2010 году была недостоверной, в 2012 — достоверной (см. табл. 3). В 2011 году влияние района как фактора было статистически незначимым только в отношении зараженности представителями секции *Infectoriae* в Краснодарском крае. Районные особенности не воспроизводились от года к году. Так, в одном районе в течение 2 лет этот показатель мог быть одним из самых высоких в регионе, а на 3-й год — самым низким. То есть зараженность, очевидно, в большей степени зависит от погодных условий, чем от климатических или иных физико-географических факторов.

4. Средняя зараженность (%) семян пшеницы грибами рода *Alternaria* в некоторых районах Ставропольского и Краснодарского краев по годам наблюдения

Район	Секция <i>Alternaria</i>			Секция <i>Infectoriae</i>		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Ставропольский край						
Георгиевский	15,3	30,7	31,8	43,3	56,7	20,0
Изобильненский	14,3	50,0	48,0	34,7	42,8	44,3
Новоалександровский	13,8	60,2	52,5	25,3	31,7	33,3
Предгорный	15,0	37,8	70,0	32,7	46,8	24,0
Среднее по краю	15,1	47,4	46,0	34,2	42,6	30,6
±SEM	1,4	2,0	2,5	3,0	2,1	2,0
min	10,3	17,3	22,3	25,3	29,4	14,2
max	15,3	60,2	70,0	43,3	74,0	45,0
Краснодарский край						
Каневский	9,0	52,2	52,0	20,8	48,5	33,0
Новокубанский	16,5	56,5	58,3	19,8	29,3	31,0
Среднее по краю	12,1	58,3	59,1	24,3	35,2	23,8
±SEM	0,9	1,5	1,4	1,6	1,1	1,2
min	7,0	17,3	38,8	14,0	29,4	8,6
max	19,0	60,2	71,5	28,3	74,0	38,0

5. Средняя зараженность (%) семян грибами рода *Alternaria* в Ставропольском и Краснодарском краях у разных сортов пшеницы по годам наблюдения

Сорт	N (n)	Секция <i>Alternaria</i>		Секция <i>Infectoriae</i>	
		M	±SEM	M	±SEM
Ставропольский край, 2011 год					
Батько	6 (6)	50,0	5,4	44,7	4,5
Нога	6 (5)	45,8	5,6	47,1	4,1
Таня	7 (4)	53,7	3,8	34,3	4,4
Эвклид	3 (3)	50,4	7,9	28,5	2,2
Юнона	3 (3)	48,6	9,7	43,0	9,2
Ставропольский край, 2012 год					
Батько	3 (2)	44,7	5,2	41,7	6,3
Виктория Одесская	3 (3)	50,7	9,7	21,7	9,2
Гром	3 (3)	49,7	4,1	31,7	9,2
Краснодарский край, 2011 год					
Грация	4 (4)	56,3	4,1	36,9	3,2
Иришка	7 (6)	65,3	3,8	29,0	1,2
Краснодарская 99	3 (3)	53,1	3,2	39,1	3,2
Москвич	12 (7)	61,3	2,7	33,7	4,4
Сила	4 (3)	59,3	4,3	33,4	2,0
Таня	13 (10)	62,0	6,5	34,5	4,7
Краснодарский край, 2012 год					
Батько	4 (3)	63,8	5,7	29,0	6,1
Васса	11 (6)	61,5	2,1	18,1	3,1
Гром	4 (4)	51,8	3,6	25,5	3,5
Дельта	3 (2)	71,3	3,7	32,7	1,9
Иришка	3 (3)	49,3	9,8	16,3	8,2
Краснодарская 99	3 (3)	57,3	6,7	16,7	2,7
Лебедь	4 (4)	56,8	5,4	25,5	4,3
Лига	4 (3)	62,8	6,8	21,8	6,7
Москвич	3 (3)	64,3	6,7	30,3	3,8
Нога	9 (6)	58,4	5,3	26,3	3,7
Таня	7 (5)	58,9	5,9	28,3	4,4

Примечание. N — число образцов, n — число районов.

Учеты в 6 районах двух регионов в течение 3 лет (см. табл. 4) показали, что средняя по району зараженность видами секции *Alternaria* по годам могла различаться почти в 6 раз. Влияние года, как и ожидалось, было существенным (см. табл. 3). Зараженность семян представителями секции *Infectoriae* колебалась меньше (в 2,3 раза), но статистически значимо.

Сравнение зараженности семян пшеницы и ячменя грибами рода *Alternaria* в 6 регионах не выявило существенной разницы (см. табл. 2 и 3). Зерно кукурузы поражалось заметно слабее. Зараженность образцов из Краснодарского края (6 шт., 2011 год) и Липецкой области (5 шт., 2012 год) видами секции *Alternaria* составила 0,2-0,4 % (присутствие видов секции *Infectoriae* не выявили). При этом пшеница в тех же регионах в 2011 и 2012 годах была заражена соответственно на 32-59 и 24-44 %. Зараженность 5 образцов зернового сорго из Самарской области видами секции *Alternaria* в среднем составила 29,2 %, секции *Infectoriae* — 0,6 %.

Различия сортов пшеницы по зараженности представителями обеих секций *Alternaria* были незначительными и в 2011, и в 2012 году (табл. 3 и 5).

6. Средняя зараженность (%) семян пшеницы грибами рода *Alternaria* по разным предшественникам (урожай 2010 года)

Предшественник	N	Секция <i>Alternaria</i>		Секция <i>Infectoriae</i>	
		M	±SEM	M	±SEM
Краснодарский край					
Кукуруза	21	13,4	1,8	25,5	3,4
Подсолнечник	24	10,9	1,3	23,5	2,6
Сахарная свекла	7	11,3	2,2	27,4	3,6
Другие	13	12,5	1,5	22,2	2,9
Ставропольский край					
Кукуруза	3	15,0	1,1	24,0	4,0
Подсолнечник	3	11,7	2,0	31,7	1,2
Пар	7	18,4	3,6	40,0	6,8
Озимая пшеница	9	16,3	3,1	38,4	6,3
Другие	9	14,5	2,7	37,1	4,4

Примечание. N — число образцов.

Зараженность зерна пшеницы видами *Alternaria* достоверно не зависела от культуры-предшественника (табл. 6). Сравнение образцов пшеницы урожая 2010 года, выращенной по кукурузе, подсолнечнику и другим предшественникам, не выявило существенной разницы для представителей секций *Alternaria* и *Infectoriae* как в Краснодарском, так и в Ставропольском крае (см. табл. 3).

При высокой зараженности грибами рода *Alternaria* и другими темноокрашенными гифомицетами часто наблюдали их совместный рост из одного семени. Связь зараженности *Alternaria* с присутствием *Bipolaris sorokiniana* и *Pyrenophora* spp. была отрицательной и умеренной по силе: для секции *Alternaria* — соответственно $r = -0,69$ и $-0,61$, для *Infectoriae* — $r = -0,64$ и $-0,61$ при низких уровнях значимости (см. табл. 3). У пшеницы и ячменя в одной зерновке нередко обнаруживали грибы рода *Alternaria* секции *Alternaria* и рода *Fusarium* (*F. langsethiae*, *F. tricinctum* и *F. graminearum*). Изредка отмечали интенсивный рост *Alternaria* и слабый рост *Fusarium* из одной зерновки. Но в большинстве случаев фузариевые грибы росли быстрее и подавляли рост *Alternaria*, зачастую покрывая колонию сверху своим мицелием (часто достоверная идентификация *Alternaria* была невозможна). В исключительных случаях из зерновки вырастали одновременно колонии *Fusarium* sp. и *Alternaria* секции *Infectoriae* или *Fusarium* sp. и два изолята *Alternaria* из разных секций.

Из некоторых зерен выделили по два изолята *Alternaria*, относящихся к разным секциям. Если представить, что эти виды не конкурируют друг

с другом, находясь в одном семени, то частота их совместной встречи должна быть равна произведению частот встречаемости каждого. Однако виды секции *Alternaria* обычно начинают рост и спороношение раньше и осуществляют его интенсивнее, чем виды секции *Infectoriae*. Поэтому, вероятно, в части случаев при совместном росте колонии видов *Infectoriae* остаются незамеченными. То есть при использовании традиционных методов оценки наблюдаемая частота совместного заражения будет несколько ниже теоретически ожидаемой. Для 235 образцов пшеницы и ячменя урожая 2012 года из разных регионов рассчитали произведение частот встречаемости представителей каждой секции по отдельности. Ожидаемая частота совместного заражения (0,12) оказалась в 2 раза ниже фактической доли семян с совместной инфекцией (0,06). Чтобы понять, имеет ли место антагонистический эффект, рассчитали два коэффициента корреляции. Для ожидаемой и фактической доли семян с совместной инфекцией он был высоким ($r = 0,81$; $p < 0,001$), а связь между зараженностью видами секций *Alternaria* и *Infectoriae* оказалась слабой ($r = 0,31$; $p > 0,090$). Это не подтверждает положительного или отрицательного влияния представителей одной секции на представителей другой.

Связь всхожести и зараженности *Alternaria* spp. оказалась недостоверной (см. табл. 3). В среднем зараженность всхожих и невсхожих семян различалась на $-1,6\%$ для представителей секции *Alternaria* и на $+2,1\%$ — для секции *Infectoriae*, что было меньше стандартной ошибки средней.

Группа мелкоспоровых видов *Alternaria* космополитична. Они встречаются на всех континентах, на различных растительных субстратах, в естественных и агрофитоценозах, в уличном воздухе и воздухе помещений (36). Эти грибы распространены на злаках в разных частях мира. Виды секции *Alternaria* заражают зерно часто и повсеместно (1) и очевидно являются очень пластичными эврибионтными грибами. Виды секции *Infectoriae* тоже распространены в зерне во многих регионах планеты, но почти не встречаются, например, на юге Дальнего Востока. В европейской части России виды обеих секций были чрезвычайно часты во всех регионах. Средняя зараженность при этом колебалась по регионам и годам. В пределах региона в разных районах этот показатель мог существенно различаться или быть сходным в зависимости от года. Различия между районами по зараженности семян оказались достоверными только для 2011 и 2012 годов. Очевидно, причина в том, что в 2010 году средняя зараженность грибами рода *Alternaria* была ниже, чем в последующие годы. Особенно это касалось секции *Alternaria* (показатель в 2010 году в двух наиболее изученных нами регионах примерно в 3 раза ниже, чем в 2011 и 2012 годах). Отсутствие выявленных достоверных различий в 2010 году также могло быть связано с меньшим числом проанализированных образцов из Ставропольского края. Такие закономерности указывают на то, что ведущие факторы, сказывающиеся на зараженности зерна *Alternaria*, — это погодные условия.

Разные культуры поражаются мелкоспоровыми *Alternaria* почти в равной степени. Сильно заражались пшеница и ячмень. Ранее показано, что столь же подвержены инфекции рожь и овес (1, 37). В меньшей степени заражалась кукуруза. Устойчивых сортов мы не выявили. Устойчивость к некротрофным слабо специализированным видам, если и выявляется, то носит количественный характер. В случае с широко специализированными видами *Alternaria*, которые по сути даже не заражают семя, а лишь колонизируют его покровы, обнаружение устойчивых сортов маловероятно. Эти грибы могут развиваться и сохраняться на любых растительных остатках и на многих растениях, включая сорные. То есть источники инокулюма

обильны почти в любых фитоценозах. Несмотря на относительно крупные размеры, споры *Alternaria* могут распространяться по воздуху. Поэтому большое количество конидий *Alternaria* находят почти повсеместно в борельной незасушливой зоне. Предшественники и севооборот, как и ожидалось, слабо влияли на зараженность *Alternaria* в силу аэрогенности, а не почвенного происхождения инфекции и из-за того, что достаточно продуктивным источником спор могут служить почти любые растительные остатки, в том числе находящиеся вне поля.

В обзоре Ф. Culshaw с соавт. (38) рассмотрены факты, демонстрирующие отсутствие влияния *Alternaria* spp. на размер и всхожесть зерновки. Нами также показано отсутствие связи между зараженностью и лабораторной всхожестью. Известно, что заражение происходит после цветения и зародыш не поражается мицелием *Alternaria*. Сапротрофная природа ассоциированных с зерновыми культурами видов *Alternaria* проявляется в том, что поражается только оболочка семени. Следовательно, не пораженный *Alternaria* зародыш может прорасти и при благоприятных для растения условиях не будет заражен этими грибами, растущими из семенной кожуры.

К недостаточно изученным факторам, влияющим на распространение грибов рода *Alternaria* в посевах зерновых, стоит отнести конкретные погодные условия (температура, влажность, осадки) в течение сезона вегетации и особенности агротехники (густота посевов, ирригация, применяемые фунгициды). Важной темой остается влияние видов *Alternaria* на левую всхожесть при разных погодных и эдафических параметрах.

Таким образом, независимо от сорта зерно пшеницы, ячменя, ржи и овса примерно в равной степени заражается грибами рода *Alternaria* секций *Alternaria* и *Infectoriae*. Кукуруза поражается в меньшей степени. Не обнаружено достоверного влияния предшественника (кукуруза, подсолнечник, сахарная свекла, пар, озимая пшеница) на долю инфицированных семян у пшеницы. Погодно-климатические условия играют определяющую роль в заражении зерна. Выявлена отрицательная корреляция между зараженностью зерна ячменя видами *Alternaria* и некоторыми другими грибами (*Bipolaris sorokiniana* и *Pyrenophora* spp.) и отсутствие достоверной связи между зараженностью семян пшеницы и ячменя видами из обеих секций. Противоречивость результатов прошлых исследований может быть следствием некорректной идентификации объекта хотя бы до секции.

ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru ✉

Поступила в редакцию
29 июня 2017 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 3, pp. 605–615

FACTORS AFFECTING *Alternaria* APPEARANCE IN GRAINS IN EUROPEAN RUSSIA

Ph.B. Gannibal

All-Russian Research Institute of Plant Protection, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail fgannibal@vizr.spb.ru (✉ corresponding author)

ORCID:

Gannibal Ph.B. orcid.org/0000-0002-7944-5461

Acknowledgements:

Supported by Russian Science Foundation (project № 14-26-00067)

Received June 29, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2018.3.605eng

Abstract

Infection of cereal seeds induced by fungi of the genus *Alternaria* is very common. There are different opinions about the damage of *Alternaria* spp. probably because of the fact

that these fungi are not a homogenous group. It is rational and available at this moment to identify *Alternaria* fungi isolated from the grain samples up to the section level only. Members of two sections, *Alternaria* and *Infectoriae*, are the most widespread. Our work was aimed to reveal impact of a number of factors on *Alternaria* infection rate in cereal grain using relatively extensive data. We studied significance of the crop, its cultivar, predecessor, region, district, season, infestation by other *Alternaria* species and by fungal species of some another genera. During this research, 422 grain samples of wheat, barley, sorghum and maize collected in 2010-2012 in seven regions of European part of Russia were analyzed. The majority of samples represented wheat grain from Stavropolskii Krai and Krasnodarskii Krai (southern Russia regions). Meteorological factors played the principal role in infection. A district in different years and neighbouring districts during one growing season were characterized by highly divergent ($p < 0,001$) *Alternaria* infection rate of wheat and barley grain. In *Alternaria*, infection rate ranged from 7.0 to 71.5 % for sect. *Alternaria*, and from 8.6 to 74.0 % for sect. *Infectoriae*. Grain of all wheat and barley cultivars were similarly greatly infected by *Alternaria* fungi (p was equal to 0.6-0.9 for section *Alternaria* and 0.1-0.5 for section *Infectoriae*). As it was previously shown, rye and oat usually are infected as much as wheat and barley. Maize has several tough and thick husk leaves around the cob that likely protect the grain against *Alternaria* infection. We did not observe a significant impact of predecessors (maize, sunflower, sugar beet, winter wheat and fallow) on the infection rate in the wheat grain samples. Correlation of *A. sect. Alternaria* infection of wheat and barley grain with appearance of *Bipolaris sorokiniana* and *Pyrenophora* spp. was negative and moderate ($r = -0.69$ and -0.61 , respectively). The same pattern was found for coinfection of *Alternaria* sect. *Infectoriae* with *Bipolaris sorokiniana* ($r = -0.64$) and *Pyrenophora* spp. ($r = -0.61$). However, species of *Alternaria* sect. *Alternaria* did not significantly affect infestation of wheat and barley by *Alternaria* sect. *Infectoriae* fungi, and vice versa. Difference between germinability of seeds infected by *Alternaria* and those free from *Alternaria* fungi was statistically insignificant. On average, the fungal contamination of germinable and ungerminable seeds differed by -1.6 % within *Alternaria* sect. and by $+2.1$ % within *Infectoriae* sect.

Keywords: *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *A. infectoria*, grain infection rate, germinability, wheat, barley.

REFERENCES

- Gannibal F.B. *Mikologiya i fitopatologiya*, 2008, 42(4): 359-368 (in Russ.).
- Ziling M.K. V knige: *Bolezni zernovykh kul'tur* /Pod redaktsiei K.E. Murashkinskogo [In: Diseases of cereals. K.E. Murashkinskii (ed.)]. Omsk, 1932: 15-39 (in Russ.)
- Geshele E.E. *Metodicheskoe rukovodstvo po fitopatologicheskoi otsenke zernovykh kul'tur* [Methodological guidelines for the phytopathological evaluation of cereals]. Odessa, 1971 (in Russ.)
- Chulkina V.A. V sbornike: *Kornevye gnili khlebnnykh zlakov i mery bor'by s nimi* [In: Root rot of cereals and measures to combat them]. Moscow, 1970: 109-112 (in Russ.)
- Shpokauskene O.Yu. *Trudy AN LitSSR. Ser. V. Biologicheskie nauki*, 1984, 4(88): 53-59 (in Russ.)
- Simmons E. G. *Alternaria. An Identification Manual*. CBS, Utrecht, 2007.
- Andersen B., Thrane U. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics. *Can. J. Microbiol.*, 1996, 42: 685-689 (doi: 10.1139/m96-093).
- Andersen B., Thrane U., Svendsen A., Rasmussen I.A. Associated field mycobiota on malt barley. *Can. J. Bot.*, 1996, 74(6): 854-858 (doi: 10.1139/b96-106).
- Andersen B., Krøger E., Roberts R.G. Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-group. *Mycol. Res.*, 2002, 106(2): 170-182 (doi: 10.1017/S0953756201005263).
- Lawrence D.P., Gannibal Ph.B., Peever T.L., Pryor B.M. The Sections of *Alternaria*: Formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 2013, 105(3): 530-546 (doi: 10.3852/12-249).
- Lawrence D.P., Rotondo F., Gannibal Ph.B. Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycol. Prog.*, 2016, 15(1): art.3 (doi: 10.1007/s11557-015-1144-x).
- Woudenberg J.H.C., Seidl M.F., Groenewald J.Z., de Vries M., Stielow J.B., Thomma B.P.H.J., Crous P.W. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes? *Stud. Mycol.*, 2015, 82: 1-21 (doi: 10.1016/j.simyco.2015.07.001).
- Gannibal Ph.B. Distribution of *Alternaria* species among sections. 2. Section *Alternaria*. *Mycotaxon*, 2015, 130(4): 941-949 (doi: 10.5248/130.941).
- Andrew M., Peever T.L., Pryor B.M. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia*, 2009, 101(1): 95-109 (doi: 10.3852/08-135).
- Andersen B., Sørensen E.L., Nielsen K.F., van den Ende B.G., de Hoog S. A polyphasic approach to the taxonomy of the *Alternaria infectoria* species-group. *Fungal Genet. Biol.*, 2009,

- 46: 642-656 (doi: 10.1016/j.fgb.2009.05.005).
16. Mercado Vergnes D., Renard M.-E., Duveiller E., Maraite H. Identification of *Alternaria* spp. on wheat by pathogenicity assays and sequencing. *Plant Pathol.*, 2006, 55: 485-493 (doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01391.x).
 17. Webley D.J., Jackson K.L. Mycotoxins in cereals — a comparison between North America, Europe and Australia. *Proc. Australian Postharvest Technical Conference (Canberra, 26-29 May 1998)*. CSIRO Entomology, Canberra, 1998: 63-66.
 18. Gagkaeva T.Yu., Gannibal F.B., Gavrilova O.P. *Zashchita i karantin rastenii*, 2012, 1: 37-41 (in Russ.)
 19. Magan N., Cayley G.R., Lacey L. Effect of water activity and temperature on mycotoxin production by *Alternaria alternata* in culture and on wheat grain. *Appl. Environ. Microb.*, 1984, 47(5): 1113-1117.
 20. Logrieco A., Bottalico A., Solfrizzo M., Mülle G. Incidence of *Alternaria* species in grains from Mediterranean countries and their ability to produce mycotoxins. *Mycologia*, 1990, 82(4): 501-505 (doi: 10.2307/3760022).
 21. Coulombe R.A. *Alternaria* toxins. In: *Mycotoxins and phytoalexins*. R.P. Sharma, D.K. Salunkhe (eds.). CPC Press, Boca Raton, 1991: 425-433.
 22. Andersen B., Krøger E., Roberts R.G. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes*. *Mycol. Res.*, 2001, 105(3): 291-299 (doi: 10.1017/S0953756201003446).
 23. Oviedo M.S., Sturm M.E., Reynoso M.M., Chulze S.N., Ramirez M.L. Toxigenic profile and AFLP variability of *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria* occurring on wheat. *Braz. J. Microbiol.*, 2013, 44(2): 447-455 (doi: 10.1590/S1517-83822013000200017).
 24. Kahl S.M., Ulrich A., Kirichenko A.A., Müller M.E. Phenotypic and phylogenetic segregation of *Alternaria infectoria* from small-spored *Alternaria* species isolated from wheat in Germany and Russia. *J. Appl. Microbiol.*, 2015, 119(6): 1637-1650 (doi: 10.1111/jam.12951).
 25. Larsen T.O., Perry N.B., Andersen B. Infectopyrone, a potential mycotoxin from *Alternaria infectoria*. *Tetrahedron Letters*, 2003, 44: 4511-4513 (doi: 10.1002/chin.200338207).
 26. Christensen K.B., Van Klink J.W., Weavers R.T., Larsen T.O., Andersen B., Phipps R.K. Novel chemotaxonomic markers of the *Alternaria infectoria* species-group. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53(24): 9431-9435 (doi: 10.1021/jf0513213).
 27. Svetov V.G. *Mikologiya i fitopatologiya*, 1989, 23(5): 471-473 (in Russ.)
 28. Clarke M.P., Gooding M.J., Jones S.A. The effects of irrigation, nitrogen fertilizer and grain size on Hagberg falling number, specific weight and black point of winter wheat. *J. Sci. Food Agr.*, 2004, 84: 227-236 (doi: 10.1002/jsfa.1657).
 29. Conner R.L. Influence of irrigation and precipitation on incidence of black point in soft white spring wheat. *Can. J. Plant Pathol.*, 1989, 11(4): 388-392 (doi: 10.1080/07060668909501085).
 30. Conner R.L., Davidson J.G.N. Resistance in wheat to black point caused by *Alternaria alternata* and *Cochliobolus sativus*. *Can. J. Plant Pathol.*, 1988, 68: 351-359 (doi: 10.4141/cjps88-046).
 31. Southwell R.J., Brown J.F., Wong P.T.W. Effect of inoculum density, stage of plant growth and dew period on the incidence of black point caused by *Alternaria alternata* in durum wheat. *Ann. Appl. Biol.*, 1980, 96(1): 29-35 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1980.tb04765.x).
 32. Fernandez M.R., Clarke J.M., DePauw R.M., Irvine R.B., Knox R.E. Black point and red smudge in irrigated durum wheat in southern Saskatchewan in 1990-1992. *Can. J. Plant Pathol.*, 1994, 16: 221-227 (doi: 10.1080/07060669409500757).
 33. Fernandez M.R., Clarke J.M., DePauw, R.M., Irvine R.B., Knox R.E. Black point reaction of durum and common wheat cultivars grown under irrigation in southern Saskatchewan. *Plant Dis.*, 2000, 84(8): 892-894 (doi: 10.1094/PDIS.2000.84.8.892).
 34. Mak Y., Willows R.D., Roberts T.H., Wrigley C.W., Sharp P.J., Copeland L. Black Point is associated with reduced levels of stress, disease- and defense-related proteins in wheat grain. *Mol. Plant Pathol.*, 2006, 7(3): 177-189 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2006.00330.x).
 35. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. *Introduction to food and airborne fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 2002.
 36. Rodriguez-Rajo F.J., Iglesias I., Jato V. Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycol. Res.*, 2005, 109(4): 497-507 (doi: 10.1017/S0953756204001777).
 37. Gavrilova O.P., Gannibal F.B., Gagkaeva T.Yu. *Fusarium* and *Alternaria* fungi in grain of oats grown in the North-Western Russia regarding cultivar specificity. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2016, 51(1): 111-118 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.1.111eng).
 38. Culshaw F., Cook R.J., Magan N., Evans E.J. *Blackpoint of wheat*. *HGCA Research Review No. 7*. Home Grown Cereals Authority, London, 1988.