

T.V.KUPREVICH
**THE CELLULOLYTIC ACTIVITY OF THE MICROMYCETES
ISOLATED FROM PAPER AND FROM AIR OF ARCHIVAL
DEPOSITORIES**

Summary

The assessment of the cellulolytic activity of some micromycetes is given. The micromycetes were isolated from paper and air of archival depositories. The conclusions about the ability of micromycetes to destroy cellulose fibers of paper were done, together with their possible hazard for archival documents. The research helps to understand the meaning and the role of every micromycete in the formation of fungal community on paper.

Поступила в редакцию 27.08.08

УДК 582.288

В. Д. ПОЛИКСЕНОВА, М. Н. ФЕДОРОВИЧ

**ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA*,
РАЗВИВАЮЩИХСЯ НА ПЛОДАХ ТОМАТА
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.)**

Белорусский государственный университет

Введение. Видовое разнообразие и таксономия рода *Alternaria* относятся к числу вопросов, которые, по мнению Международной комиссии по таксономии грибов, нуждаются в критическом пересмотре [13]. Грибы этого рода широко распространены в различных фитоценозах и нередко являются патогенами важнейших сельскохозяйственных культур, в т. ч. и томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Томат широко возделывается во всем мире, а в Беларуси как в производственных масштабах, так и на приусадебных участках. Условия агрофитоценоза способствуют развитию вредоносных заболеваний грибной этиологии, поэтому внимание специалистов постоянно направлено на создание устойчивых к основным болезням сортов и гибридов томата. В связи с этим остаются актуальными мониторинговые исследования видового состава возбудителей, в том числе и ранней сухой

пятнистости. В фитопатологической литературе в качестве возбудителя этого заболевания томата обычно указывается один вид – *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Sor., характеризующийся крупными спорами [4, 6, 11]. Однако в публикациях, связанных с более детальным изучением микобиоты *Lycopersicon esculentum* Mill., приводятся сведения и о мелкоспоровых видах этого рода, а также других близких в таксономическом отношении родов темноокрашенных микромицетов. В этом направлении известны работы российских микологов, которые изучали патогенную микобиоту томата на Кубе [1]; монографии посвященные микобиоте и заболеваниям овощных культур в Молдове [3, 7]; недавние исследования возбудителей ранней сухой пятнистости томата как материал для последующей селекционной работы в Украине [9]. В Беларуси обширные исследования бурой пятнистости пасленовых, касающиеся в т.ч. видового и внутривидового разнообразия, особенностей биологии возбудителей заболевания, проведены В. Г. Иванюком [5-6]; возбудители альтернариоза приводятся и в других работах [11-12]. Монографы рода *Alternaria* отмечают, что, несмотря на большое количество работ, посвященных практически значимым видам этого рода, исследователи часто не сообщают критерии, использованные для идентификации трудно определяемых мелкоспоровых видов или основываются на размерах спор (а это очень варьирующий в различных условиях признак) и виде растения-хозяина [8].

Материалы и методы исследования. Объектами исследования были плоды томата (50) из открытого грунта с поражением грибной этиологии в области плодоножки. С каждого плода выделяли не менее 3 изолятов. Анализ видового состава возбудителей сухой пятнистости проводился с использованием рекомендаций [2, 8, 14]. Выделение моно- и полиспоровых изолятов грибов в чистую культуру проводили по общепринятым методикам, используя в качестве питательной среды картофельно-морковный агар (КМА). Для установления видовой принадлежности мелкоспоровых грибов и их анализа полученные изоляты культивировали в строго стандартных условиях: на КМА под люминесцентными лампами при определенном фотопериоде (12 часов света / 12 часов темноты) и температуре $23 \pm 3^\circ \text{C}$. Поскольку размеры конидий видов р. *Alternaria* являются

признаком варьирующим и неустойчивым, для идентификации (особенно мелкоспоровых видов) используют общий вид спороношения в трехмерном пространстве [8]. В соответствии с методиками на 5-10 сутки просматривали колонии грибов непосредственно в чашках Петри под биноклем (50х), описывая конидиеносцы, число конидий в цепочках, способ ветвления в цепочках. Определение микроморфологии спороношения проводили с использованием микроскопа Axiostar (400х). Идентификацию видов проводили, основываясь на ключах и публикациях [2, 8, 14]. Частоту встречаемости видов грибов определяли по количеству пораженных ими плодов томата и выражали в процентах от общего числа исследованных.

Результаты и их обсуждение. В источниках литературы указывается, что ранняя сухая пятнистость поражает все части растения, включая и плоды. В качестве возбудителей авторами приводятся разные виды, в том числе *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Sor., *A. porri* (Ell.) Neerg f. sp. *solani* (Ell. et Mart.) Neerg., *A. alternata* (Fr.) Keissler, *A. tenuissima* (Fr.) Weltshire, *A. tomato* (Cke.) Brinkmann, *Stemphylium solani* Weber. Ell., *S. botryosum* Waller. Neergard, *Cercospora fuligena* Rolland, *C. diffusa* Ell. et Ev. [1, 3, 4-6]. Среди списка возбудителей преобладают представители рода *Alternaria* Nees. Поражение ранней сухой пятнистостью плодов томата в первую очередь связано с характерными симптомами заболевания: на плодах образуются пятна около места прикрепления плодоножки, что, по мнению многих авторов, связано с передачей инфекции с плодоножки на плод [1, 5-6]. Пятна, как правило, резко ограниченные, слегка вдавленные, округлые, часто концентричные, со складчатостью или трещинами. Темно-бурая до черной окраска пятен обеспечивается не только пораженной мякотью плода, но и зачастую обильным спороношением. Следует отметить, что поражаются как зеленые, так и уже созревшие плоды.

Особого внимания заслуживают такие микромицеты как *A. alternata* и *A. tenuissima*, известные как сапротрофы или факультативные паразиты. Однако, согласно исследованиям [7, 15], *A. alternata* в разных странах является типичным паразитом на различных частях растений томата, вызывая их гнили, а также рак стеблей. Беляевой Н.Б. с соавторами в качестве основного патогена на плодах приводится *A. tenuissima*, что, как и в первом случае,

подтверждается искусственным заражением листьев, плодов и семян томата водной суспензией спор данного гриба [1]. Лисак С. А. рассматривает *A. solani* как главный вид в патогенезе ранней сухой пятнистости, а *A. alternata*, *A. tenuissima*, *Stemphylium solani* и *S. botryosum* как сопровождающие [9]. Демидов Е. С. и др. считают, что *A. alternata* принимает участие в патогенезе на поздних этапах развития, проникая в ткани через разрывы в эпидермисе или места прободения его мицелием *A. solani* [3].

В последнее время нами отмечалось разнообразие симптомов поражения плодов томата разных сортов. В связи с этим в течение вегетационных периодов 2005-2007 гг. были собраны пораженные плоды на опытном участке открытого грунта и проанализирован видовой состав грибов, выделенных из пораженных тканей. Так, в 2005 г. было зафиксировано 10 больных плодов, в 2006 г. – 13, а в 2007 г. – 25 плодов.

В течение всего периода наблюдений встречаемость заболевания на опытной площадке, несмотря на ротацию, возрастала, достигнув максимума в 2007 г. Вегетационный период характеризовался высокой температурой и небольшим количеством осадков, что создавало благоприятные условия для развития пятнистостей растений, в том числе и альтернариозов.

На плодах томата разной степени зрелости в области плодоножки наблюдалось поражение в виде округлых, слегка вдавленных в центре пятен с четко выраженной концентричной зональностью. Пораженная ткань плода обычно бурая. На ней формировалось обильное спороношение на редком, воздушном, оливкового или коричневого оттенков мицелии, практически незаметным на фоне бурой или чаще оливковой конидиальной массы.

Микологический анализ показал, что на пораженных сухой пятнистостью плодах развиваются грибы, относящиеся только к роду *Alternaria*: *A. solani*, *A. tenuissima*, *A. alternata* и *A. infectoria* (табл.1).

Из идентифицированных видов только *A. solani* (с крупными спорами) известен как типичный патоген, факультативный сапротроф. Мелкоспоровых же представителей р. *Alternaria* большинство авторов традиционно относят к сапротрофам, которые лишь при благоприятных условиях способны переходить к факультативному паразитизму. Пропагулы этих видов могут

развиваться и длительное время накапливаться в ризосфере растений, что способствует созданию потенциального инфекционного фона в почве. Этот факт необходимо учитывать при формировании севооборотов различных культур.

Таблица 1. Видовой состав грибов р. *Alternaria*, выделенных из плодов томата (2005-2007 гг.)

Год	Количество изолятов							
	<i>A. solani</i>		<i>A. tenuissima</i>		<i>A. alternata</i>		<i>A. infectoria</i>	
	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
2005	6	20	21	70	3	10	0	0
2006	9	23	30	77	0	0	0	0
2007	21	28	42	56	9	12	3	4

Вместе с тем, результаты проведенной фитоэкспертизы плодов показали, что наиболее часто встречаемым на пятнах грибом является не *A. solani*, а мелкоспоровый *A. tenuissima*. Данный вид был выделен более чем в половине случаев поражения и в каждом случае являлся единственным выделенным видом (табл. 2).

Таблица 2. Встречаемость видов р. *Alternaria* на плодах томата (2005-2007 гг.)

Вид гриба	Количество выделенных изолятов, шт.	% от общего количества
<i>A. solani</i>	36	25
<i>A. tenuissima</i>	93	64,6
<i>A. alternata</i>	12	8,3
<i>A. infectoria</i>	3	2,1

Молдавские исследователи отмечают, что мелкоспоровый вид альтернарии, определенный ими как *A. alternata*, часто развивается на пораженных органах томата в конце вегетации, нередко при наличии механических повреждений. Учитывая, что новая методика определения мелкоспоровых альтернарий довольно

трудоемка и специфична, не исключено, что при идентификации могли возникнуть неточности. Во всяком случае, наши исследования показали, что в Беларуси *A. alternata*, отмечаемая в справочной литературе как наиболее обычный и даже космополитный вид, на самом деле встречается довольно редко, значительно чаще – *A. tenuissima* [10]. Подобное же заключение, основанное на анализе морфо-биологических и молекулярно-генетических данных, о том, что *A. alternata* в целом является довольно редким видом, приводит также Л. М. Левкина [8].

В работе [3] отмечено, что *A. alternata* иногда поселяется на плодах на месте солнечных ожогов. Такое массовое поражение боковой поверхности (а не основания) плодов с темным налетом спороношения, состоящим из мелких спор, было зафиксировано и нами в очень жарком 2000 г. как в открытом грунте, так и в теплицах.

Приводим описание признаков видов рода *Alternaria*, выявленных нами на плодах томата.

A. solani (Ell. et Mart.) Sorauer Syn: *Macrosporium solani* Ell. et Mart., *A. porri* (Ell.) Neerg. f. sp. *solani* (Ell. et Mart.) Neerg., *A. dauci* (Kuhn) Groves et Skolko f. sp. *solani* (Ell. et Mart.) Neerg.

Конидии гладкие, редко могут быть бородавчатыми. Споры обратно-булавовидные, середина шире апекса и базальной части, бутылевидные. Клюв резко отделяется от тела споры, нитевидный, длинный, не септирован, иногда может ветвиться в верхней трети. В последнем случае отростки имеют относительно небольшие размеры, колеблющиеся в пределах 14-40 мкм. Более старые конидии темнее, толще, с резкими перетяжками, со многими продольными перегородками; основание и (или) средняя часть тела у старых конидий шире, чем у молодых конидий.

Общие размеры: 118,7-324 x 16,2-35,1 мкм. Клюв 45,9-229,5 (120) x 2,16-4,05 мкм. Поперечных перегородок 8-13, продольных (вторичные перегородки бывают редко) 1-6.

A. tenuissima (Fr.) Weltshire. Syn: *Macrosporium tenuissimum* Fr., *M. tomato* Cooke, *M. papaveris* Bres., *M. phaseoli* Fautr.

На 4-7 сутки колонии имеют, в основном, серые, темно-серые, иногда практически черные, часто зональные колонии со среднеразвитым или редким мицелием. Конидиеносцы развиваются непосредственно на субстрате (питательной среде) или на воздушном мицелии (в этом случае цепочки конидий небольшие).

Спороношение обычно обильное, на субстратном и воздушном мицелии. Цепочки (5-15) практически не ветвятся. Со временем могут появляться 1-2 ответвления.

Alternaria alternata (Fr.) Keissler Syn: *A. tenuis* Nees., *A. grossulariae* Jacz., *A. lini* Dey

Колонии (5-7-дневные) изолятов данного вида обычно зональные, со слабо развитым мицелием, серые или темно-серые. Конидиеносцы чаще появляются на поверхности агара. Конидии собраны в небольшие компактные «кустики», состоящие из хорошо разветвленных, недлинных цепочек, часто имеющих вторичные, относительно *A. infectoria* более короткие конидиеносцы.

A. infectoria-комплекс. На 5-10 сутки культивирования на КМА мицелий бесцветный, серый, темно-серый, слабо-, средне- или хорошо развитый, колонии часто зональные. Конидиеносцы могут появляться прямо на поверхности агара или образовываться, как морфологически отдельные ветви воздушных гиф. Спорношение представлено отдельными цепочками конидий, имеющих вторичные длинные конидиеносцы. Цепочки ветвятся, образуя густые или редкие «кустики».

Таким образом, полученные нами данные согласуются с исследованиями Беляевой Н.Г. и др. [1] и позволяют в качестве доминирующего гриба на плодах томата выделить мелкоспоровый вид *A. tenuissima*.

Заключение. Детальный анализ видового состава грибов-микромикетов, выделенных из пораженных сухой пятнистостью плодов томата, позволил установить, что все изоляты относятся к р. *Alternaria*: *A. solani*, *A. tenuissima*, *A. alternata* и *A. infectoria*. Преобладали мелкоспоровые виды. Наиболее часто встречаемым оказался мелкоспоровый вид *A. tenuissima*.

Литература

1. Беляева В. Б., Левкина Л. М. Кастейянос Х. Поражение томата видами родов *Alternaria* и *Cercospora* на Кубе // Микология и фитопатология. Том 16. Вып.2. 1982. С.139-143.
2. Ганнибал Ф. Б. Мелкоспоровые виды рода *Alternaria* Nees. на злаках // Микология и фитопатология. Т. 38. Вып. 3. 2004. С. 19-27.
3. Демидов Е. С., Садыкина Е. И., Сайчук А. И. Методы селекции томата на устойчивость к альтернариозу. Тирасполь, 2006. 99 с.
4. Защита растений от болезней в теплицах (справочник) / Под ред. А. К. Ахатова. М. 2002. 464 с.

5. Иванюк В. Г. Гифомицеты – возбудители пятнистостей пасленовых культур (особенности патогенеза и способы подавления паразитической активности): автореф. дисс. ... докт. биол. наук: 06.01.11. М. 1978. 53 с.
6. Иванюк В. Г. и др. Болезни и вредители овощных культур / Под ред. акад. В. Ф. Самарсова. Минск, 1994. С. 205-233.
7. Коган Э. Д., Попушой И. С. Микофлора и грибные болезни основных овощных культур Молдовы. Кишинев: Штиинца, 1991. 184 с. С. 122-128.
8. Левкина Л. М. Род *Alternaria* Nees // Новое в систематике и номенклатуре грибов / Под ред. Ю. Т. Дьякова, Ю. В. Сергеева. М.: Национальная академия микологии – Медицина для всех. 2003. С. 276-303.
9. Лисак С. А. Рання суша плямистість та вихідний матеріал томата для селекції на стійкість: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Київ, 2007. 18 с.
10. Поликсенова В. Д. и др. Таксономическое разнообразие высших растений и фитопатогенных грибов центральной части Минской возвышенности // Вестник БГУ. Сер. 2. 2006. № 3. С. 25-30.
11. Поликсенова В. Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений. Минск: БГУ. 2008. 159 с.
12. Чурак А. Ф., Михальчик В. Т. Изучение эффективности фунгицидов против альтернариоза томатов // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: Сб. науч. трудов. Т.1. Сельскохозяйственные науки (агрономия). Гродно. 2006. – С.145-148.
13. Hawksworth D. L. Fungal genera in urgent need of taxonomic work // Microbiological Sciences. 1986. V.3. P. 58.
14. Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (244-286) species on *Solanaceae* // Mycotaxon. 2000. Vol. LXXV. Pp. 1-115.
15. www.semena.org/agro/diseases/alternaria-stem-canker.htm – Date of access: 15.07.2008.

V.D.POLYKSENOVA, M.N.FEDOROVICH
SPECIFIC DIVERSITY OF *ALTERNARIA* GENUS ISOLATED
FROM *LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL. FRUITS

Summary

Phytopathological fungi isolated from tomato fruits were investigated. It was shown that these phytopatogens are *Alternaria* genus members: *A. solani*, *A. infectoria*, *A. tenuissima*, *A. alternata*. *A. tenuissima* dominate.

Поступила в редакцию 02.06.08