

УДК 582.288: 632.4

© Ф. Б. Ганнибал

**ВИДЫ РОДА *ALTERNARIA*  
В СЕМЕНАХ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В РОССИИ**GANNIBAL Ph. B. SPECIES OF THE GENUS *ALTERNARIA* IN CEREAL SEEDS IN RUSSIA

Грибы рода *Alternaria* часто заселяют семена различных видов злаков и растений других семейств (Rotem, 1994). Во многих странах была выявлена высокая частота встречаемости видов *Alternaria* в зерне пшеницы, ячменя, овса, ржи и других злаков (Logrieco et al., 1990; Webley, Jackson, 1998). В сельскохозяйственной продукции, зараженной видами *Alternaria*, могут накапливаться значительные количества микотоксинов — грибных метаболитов, опасных для человека и животных. Так, например, почти во всех 22 образцах зерна пшеницы из Китая были обнаружены альтернариол (до 731 мкг/кг), монометилловый эфир альтернариола (до 1426 мкг/кг) и тенуазоновая кислота (260—6432 мкг/кг) (Li, Yoshizawa, 2000). В Австралии в зерне пшеницы, сильно пораженной *A. alternata*, преобладал альтернариол (10—1050 мкг/кг), в меньшей концентрации присутствовали тенуазоновая кислота и монометилловый эфир альтернариола (Webley et al., 1997).

Токсичность метаболитов видов *Alternaria* для различных организмов, включая растения, бактерии, птиц и млекопитающих, показана целым рядом исследователей (Stack, Prival, 1986; Visconti, Sabilia, 1994; Yekeler et al., 2001, и др.). В лабораторных условиях продемонстрирована фитотоксичность культуральной жидкости видов *Alternaria*, выделенных из семян. Однако характер и масштабы воздействия фитотоксинов *in vivo* изучены недостаточно. Считается, что семена злаков, инфицированные *Alternaria* spp., обычно крупные и хорошо выполненные, имеют нормальную всхожесть и прорастают без видимых аномалий (Городилова, 1972; Семенов и др., 1988).

Микотоксины *Alternaria* spp. могут быть тератогенны, токсичны для эмбрионов или способны вызывать гематологические заболевания (Rotem, 1994). Предполагается связь между наличием токсинов видов *Alternaria* в зерне и такими заболеваниями человека, как алиментарная алейкия (Joffe, 1962) и болезнь Кашина-Бэка (Kas-hin-Beck disease) (Haubruge et al., 2001). Доказана токсичность культурального фильтрата *A. tenuissima* для куриных эмбрионов (Diener et al., 1981). Летальная доза (LD<sub>50</sub>) тенуазоновой кислоты для них составляет 0.548 мг на яйцо (Griffin, Chu, 1983). Отмечено мутагенное воздействие на бактерии и лимфоциты человека культурального фильтрата изолятов *A. alternata*, выделенных из зерна в Китае в регионе с высоким уровнем заболеваемости людей раком пищевода (Zhen et al., 1991). При этом альтернариол оказался в 4—8 раз активнее, чем его монометилловый эфир.

Существует более пятидесяти видовых эпитетов рода *Alternaria*, имеющих отношение к злакам (Ганнибал, 2004; Simmons, 2007). Среди видов, обладающих, на наш взгляд, легитимным таксономическим статусом, достоверно известно, что девять спо-

собны поражать семена злаков. К ним можно отнести *A. alternata* (Fr.) Keissl., *A. arborescens* E. G. Simmons, *A. infectoria* E. G. Simmons, *A. tenuissima* (Nees et T. Nees: Fries) Wiltshire (Andersen et al., 1996; Kosiak et al., 2004), *A. metachromatica* E. G. Simmons, *A. oregonensis* E. G. Simmons, *A. triticimaculans* E. G. Simmons et Perello (Simmons, 1994), *A. triticina* Prasada et Prabhu (Ram, Joshi, 1979; Bilgrami et al., 1995) и *A. avenicola* E. G. Simmons, Kosiak et Kwasna (Kwasna, Kosiak, 2003).

Перечисленные таксоны представляют собой гетерогенную группу, включающую виды, которые отличаются по морфологическим, экологическим, физиологическим и биохимическим признакам. Согласно данным молекулярно-генетических исследований рода *Alternaria/Lewia* (Chou, Wu, 2002; de Hoog, Notte, 2002; Pryor, Bigelow, 2003; Gannibal, Klemsdal, неопубл.), виды, обнаруженные в семенах злаков, можно отнести к трем филогенетическим линиям (кладам): 1) ветвь, включающая *Alternaria alternata*, *A. arborescens* и *A. tenuissima*, 2) комплекс видов (видовая групп, species-group) '*A. infectoria*' и 3) *A. avenicola*.

Виды *A. alternata*, *A. arborescens* и *A. tenuissima* способны синтезировать опасные метаболиты. Спектр мико- и фитотоксинов, выделяемых этими видами, практически одинаков и зависит в большей степени от штамма, чем от вида гриба (Andersen et al., 2001, 2002). Большинство штаммов *A. tenuissima*, изолированных из злаков и других хозяев, продуцируют по несколько токсинов в различных комбинациях (Andersen, Thrane, 1996; Andersen et al., 2002). Наиболее распространенные токсины у перечисленных видов относятся к трем химическим группам: дибензо-а-пироны, включающие альтернариол, монометилловый эфир альтернариола, альтенуен, тентоксин; тетра-мины — тенуазоновая кислота; производные перилена — альтертоксины I, II и III (Coulombe, 1991).

Для большинства видов комплекса '*A. infectoria*' характерен ряд метаболитов, являющихся структурными аналогами токсинов, продуцируемых видами *Stemphylium*, *Ulocladium* (Andersen et al., 2002; Larsen et al., 2003) и *Penicillium* (Christensen et al., 2005). Однако биологическая активность этих веществ и их роль в патогенезе пока остаются неизвестными. Кроме отсутствия известных мико- и фитотоксинов для видов комплекса '*A. Infectoria*' свойственна низкая патогенность для растений, что было показано на примере изолятов, выделенных из листьев фисташки (Pryor, Michailides, 2002) и плодов яблони (Serdani et al., 2002). В последнем случае изоляты '*A. infectoria*', по мнению авторов, напоминали настоящих эндофитов.

Таким образом, с практической точки зрения наиболее существенным различием между указанными выше группами видов рода *Alternaria* является их разная способность к синтезу тех или иных микотоксинов. Вместе с тем между видами одной группы важных различий по этим характеристикам не обнаружено (Andersen, Thrane, 1996; Andersen et al., 2001, 2002), что указывает на необходимость внимательного отношения к определению видов *Alternaria*. При этом, на наш взгляд, для решения многих прикладных задач достаточной является корректная идентификация представителей данного рода до группы видов.

Точная идентификация видов *Alternaria*, встречающихся на зерновых культурах, проводится редко из-за морфологического сходства и изменчивости признаков. В большинстве микофлористических и фитопатологических работ неоправданно часто упоминается вид *A. alternata*. Достоверных сведений о распространении тех или иных «истинных» видов *Alternaria* в зерне и на других субстратах известно очень немного.

Установлено, что в Дании в зерне ячменя преобладали представители комплекса видов '*A. infectoria*', реже встречался вид *A. tenuissima* и совсем редко *A. alternata* (Andersen et al., 1996). Впоследствии там же был обнаружен *A. arborescens* (Andersen et al., 2002). В разных районах страны средний уровень зараженности зерна ячменя видами комплекса '*A. infectoria*' составлял 70—100 %, видом *A. tenuissima* — 4—12 и *A. alternata* — 0—14 % (Andersen, Thrane, 1996).

В различных областях Норвегии зараженность семян пшеницы, ячменя и овса видами из комплекса '*A. infectoria*', видами *A. tenuissima*, *A. arborescens* и *A. alternata*

колебалась в пределах 18—41, 4—20, 5—11 и 2—4 % соответственно (Kosiak et al., 2004).

Известно также, что представители комплекса видов '*A. infectoria*' распространены на злаках в Новой Зеландии (Andersen et al., 2002). В семенах диких и кормовых злаков в северо-западных штатах США преобладал *A. infectoria sensu lato*, в то время как *A. tenuissima* встречался несколько реже, а *A. alternata* был представлен лишь единичными находками (Dugan, Lupien, 2002).

Вебли и Джексон (Webley, Jackson, 1998) провели сравнение видового состава *Alternaria* на зерновых культурах в Австралии, Европе и Северной Америке, оперируя двумя таксонами: не токсигенный вид *A. infectoria* s. l. (видимо, имелся в виду весь комплекс видов '*A. infectoria*') и токсигенный *A. alternata* s. l. (вероятно, объединяя *A. alternata*, *A. tenuissima* и другие близкие виды). Встречаемость в зерне пшеницы того или иного вида колебалась в зависимости от района. В европейских образцах доминировал *A. infectoria* и почти отсутствовал *A. alternata*. На севере Австралии присутствовали оба вида (средняя зараженность около 20—30 %); на юге континента преобладал *A. infectoria* (более 60 %), а *A. alternata* встречался редко (менее 10 %); на западе *A. infectoria* встречался столь же часто, а зараженность зерна *A. alternata* была близка к нулю. В Северной Америке *A. infectoria* встречался часто на востоке Канады и редко на северо-востоке и западе США, в то время как *A. alternata* встречался часто во всех исследованных районах (50—80 %).

Несмотря на широкое распространение *Alternaria* spp. и чрезвычайно важное производственное значение зерновых культур, в России исследования зараженности семян злаков видами *A. alternata* с учетом современных достижений таксономии рода не проводились. До сих пор нет четких ответов на следующие вопросы: какие виды *Alternaria* заражают зерно, где они распространены и насколько часто встречаются, какова их патогенность и вредоносность. Мы взяли за частично восполнить этот пробел и поставили перед собой цель идентифицировать видовой состав представителей рода *Alternaria* в семенах зерновых культур в разных регионах России и определить уровень зараженности зерна пшеницы видами данного рода.

## Материалы и методы

Для определения зараженности семян грибами рода *Alternaria* были проанализированы средние пробы по 100 семян из 6 образцов пшеницы и 6 образцов ячменя 2005 г. урожая и из 64 и 16 образцов тех же культур 2006 г. урожая. Места сбора образцов перечислены в табл. 1. Анализ микобиоты был проведен через 1—6 месяцев

Таблица 1

### Средняя зараженность семян пшеницы видами *Alternaria* в разных регионах России в 2006 г.

Регион	Область, край	Количество образцов (мест сбора)	Зараженность семян, %			
			<i>A. tenuissima</i>	<i>A. alternata</i>	комплекс ' <i>A. infectoria</i> '	<i>A. avenicola</i>
Северо-Западный	Калининградская	5	22.4	0.4	25.8	0.0
	Ленинградская	12	13.0	0.0	11.1	0.9
	Псковская	1	7.0	0.0	13.0	0.0
	Весь регион	18(4)	15.3 ± 12.6	0.1 ± 0.5	15.3 ± 11.3	0.6 ± 1.5
Центральный	Рязанская	4 5	29.8	0.5	29.0	0.0
	Тульская		38.0	0.4	29.2	0.0
	Весь регион	9(4)	34.3 ± 14.8	0.4 ± 0.7	29.1 ± 9.5	0.0 ± 0.0

Таблица 1 (продолжение)

Регион	Область, край	Количество образцов (мест сбора)	Зараженность семян, %			
			<i>A. tenuissima</i>	<i>A. alternata</i>	комплекс ' <i>A. infectoria</i> '	<i>A. avenicola</i>
Центрально-черноземный	Белгородская	3	7.3	0.0	15.7	0.0
	Воронежская	2	34.5	0.0	19.0	0.0
	Орловская	7	28.0	0.1	26.3	0.1
	Тамбовская	2	45.5	0.0	30.0	1.5
	Весь регион	14(8)	27.0 ± 16.0	0.1 ± 0.3	23.5 ± 12.7	0.3 ± 0.8
Нижне-Волжский	Волгоградская	2	25.0	0.0	28.0	0.0
	Саратовская	5	35.2	0.0	22.4	0.0
	Весь регион	7(4)	32.3 ± 10.6	0.0 ± 0.0	24.0 ± 11.1	0.0 ± 0.0
Волго-Вятский	Свердловская	2(1)	32.0 ± 2.8	0.0 ± 0.0	34.5 ± 13.4	0.5 ± 0.7
Северо-Кавказский	Краснодарский	3(2)	40.7 ± 12.7	1.0 ± 1.0	28.0 ± 25.4	0.0 ± 0.0
	Новосибирская	1	60.0	0.0	6.0	0.0
Западно-Сибирский	Омская	2	50.0	0.5	15.0	0.0
	Весь регион	3(2)	53.3 ± 10.7	0.3 ± 0.6	12.0 ± 7.9	0.0 ± 0.0
Дальневосточный	Приморский	3	52.7	0.0	0.0	0.0
	Хабаровский	5	50.6	0.0	0.0	0.0
	Весь регион	8(4)	51.4 ± 13.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Примечание. После знака «±» указано стандартное отклонение.

после сбора урожая. До проведения анализа образцы сохраняли в бумажных пакетах при комнатной температуре.

Для изоляции грибов в чистую культуру семена или отрезки листьев промывали в проточной воде в течение одного часа. Затем их помещали в 0.1%-й водный раствор нитрата серебра на 1 мин для стерилизации поверхности. После чего трижды ополаскивали стерильной водой и переносили в чашки Петри с картофельно-морковным агаром (КМА; Simmons, 1992).

Идентификацию изолятов рода *Alternaria* проводили, используя работы Симмонса (Simmons, 1986, 1990, 1992, 1993, 1994, 2007) и Квашны и Козиак (Kwasna, Kosiak, 2004). Для анализа микроморфологии изоляты культивировали на КМА под флуоресцентными лампами (ЛБ-20—4, длина волны 400—500 нм) при  $25 \pm 2$  °С. На 5—10-е сутки органы спороношения просматривали под микроскопом (100х) непосредственно в чашках Петри.

Подсчет средних значений, значений уровня значимости критерия Фишера (р), коэффициента корреляции (г) и других статистических показателей был выполнен с использованием компьютерной программы Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., 2004).

## Результаты и обсуждение

На территории России в зерне пшеницы урожая 2006 г. были выявлены следующие представители рода *Alternaria*: *A. tenuissima*, *A. alternata*, *A. avenicola* и виды комплекса '*A. infectoria*'. Из-за высокой степени полиморфизма и перекрытия диапазонов морфологической изменчивости изоляты комплекса '*A. infectoria*' до вида определить не удалось. Перечень видов рода *Alternaria*, выявленных в ходе настояще-

го исследования, в целом совпадает со списком, опубликованным ранее (Ганнибал, 2004).

Представленность видов в разных регионах различалась. Средние значения зараженности семян пшеницы представлены в табл. 1. Наиболее часто встречающимся оказался вид *A. tenuissima* и представители комплекса '*A. infectoria*'. Вид *A. tenuissima* встречался повсеместно. В большей степени семена были заражены *A. tenuissima* в Западной Сибири и на Дальнем Востоке. Зараженность отдельных образцов колебалась в пределах 29—76 % при средних значениях 53.3 и 51.4 % соответственно. В европейской части зараженность составляла 2—56 %. Зараженность семян видами комплекса '*A. infectoria*' в европейской части страны составляла 2—57 %. На Дальнем Востоке эти виды не были обнаружены ни в одном из образцов.

Опираясь на критерий Фишера, можно сказать, что географический фактор оказывал слабое влияние на зараженность пшеницы видом *A. tenuissima* ( $p = 0.067$ ) и сильное — на встречаемость видов комплекса '*A. infectoria*' ( $p = 0.001$ ). В пределах Европейской России влияние места сбора образца на зараженность '*A. infectoria*' оказалось слабым ( $p = 0.061$ ).

При анализе всего комплекса данных корреляции между зараженностью зерна пшеницы видом *A. tenuissima* и видами комплекса '*A. infectoria*' не обнаружено ( $r = 0.067$ ,  $p = 0.598$ ). Однако на территории, ограниченной европейской частью России, где встречаются обе указанные группы грибов, выявлена слабая положительная связь между зараженностью разными видами ( $r = 0.338$ ,  $p = 0.013$ ).

Таким образом, вид *A. tenuissima*, по нашим данным, с наиболее высокой частотой в России поражает семена пшеницы на Дальнем Востоке. Наименьшая зараженность этим видом наблюдалась в северо-западном регионе страны. Наоборот, комплекс видов '*A. infectoria*' был обилён в европейской части, редко встречался в Сибири и полностью отсутствовал на востоке России. Возможно, частота встречаемости обеих групп характеризуется выраженными долготными градиентами, направленными в противоположные стороны. Данные инфицированности семян зерновых культур видами *Alternaria* в Северной Европе в 1993—1998 гг. также полностью соответствуют выявленной тенденции (Andersen et al., 1996; Kosiak et al., 2004). Однако наличие слабой, но положительной корреляции между уровнем зараженности зерна *A. tenuissima* и видами комплекса '*A. infectoria*' в зоне совмещения ареалов не позволяет говорить об этих двух группах как о викарирующих.

Мы не располагаем данными, необходимыми для выделения наиболее существенных факторов среды, влияющих на такое распределение видов. Отсутствие видов комплекса '*A. infectoria*' в Приморском и Хабаровском краях, по нашему мнению, вряд ли можно объяснить климатическими особенностями (температурой, влажностью и количеством осадков) этих регионов или препятствиями на пути миграции. Обе группы грибов, обладая сходными по размеру и форме конидиями, скорее всего в равной степени способны к интенсивному анемохорному распространению. Двусторонний обмен семенами и другим растительным материалом вкупе с отсутствием субстратной специализации должен благоприятствовать и антропохорному распространению.

Помимо упомянутых доминирующих таксонов были идентифицированы два вида, встречающихся спорадически. Вид *A. alternata* sensu Simmons был обнаружен в семенах пшеницы в европейской части страны и в Западной Сибири. Лишь 12.5 % образцов всей страны были инфицированы данным видом. Зараженность составляла не более 2 %. Ранее при исследовании альтернариозов зерновых и других культур уже было показано, что этот вид в его узком понимании встречается относительно редко (Simmons, 1993; Andersen et al., 1996; Pryor, Michailides, 2002; Ганнибал, 2004; Kosiak et al., 2004).

В европейской части России в 13.2 % образцов нами был обнаружен вид *A. avenicola*. Четыре образца из Волосовского района Ленинградской обл. из шести проанализированных содержали этот вид. Наибольшая зараженность составляла 6 %.

При первом обнаружении *A. avenicola* в семенах овса из Норвегии находка была опубликована как *A. triticicola* V. G. Rao (Kwasna, Kosiak, 2003). При этом анаморфу

из рода *Alternaria* авторы оставили без видового эпитета. Недавно несовершенная стадия этого вида обрела законное название *A. avenicola* (Simmons, 2007).

В 2003 г. мы выделили в Ленинградской обл. изолят со сходной морфологией из того же субстрата и вслед за норвежскими исследователями ошибочно идентифицировали его как *A. triticicola* (Ганнибал, 2004). Затем, проведя изучение морфологии конидий, мы отнесли находку к виду *A. photistica* E. G. Simmons (телеоморфа — *Le-wia photistica* E. G. Simmons) (Ганнибал, 2006). Лишь тщательное сравнение морфологии телео- и анаморфы репрезентативных штаммов показало значительно большее сходство нашего штамма с *A. avenicola*, чем с *A. photistica*. В то же время было обнаружено, что оба вида являются близкородственными, свидетельством чему служит абсолютная идентичность нуклеотидных последовательностей рДНК (Gannibal, Klemsdal, неопубл.).

Среди обнаруженных нами видов *A. avenicola* — наименее изученный объект. На данный момент патогенность этого вида и токсичность его метаболитов неизвестны. Помимо семян нескольких зерновых культур (пшеница, ячмень и овес) *A. avenicola* был выделен из листьев тритикале и картофеля в Ленинградской обл. (Ганнибал, 2007). Эти факты указывают на отсутствие узкой субстратной специализации у данного вида.

В нашем исследовании, вопреки априорным предположениям, не было обнаружено ни одного штамма *Alternaria arborescens*. Этот вид характеризуется обширным ареалом и не обладает узкой специализацией. В том числе его находили в семенах зерновых культур в Скандинавии (Andersen et al., 1996; Kosiak et al., 2004), поэтому вполне вероятным можно считать обнаружение его на злаках и на территории России.

Ранее была опубликована находка вида *A. triticina* на листьях пшеницы в Краснодарском крае (Ганнибал, 2004). Этот вид нередко упоминается как специализированный патоген пшеницы. Чаще всего его обнаруживали в Индии на листьях и зерне пшеницы (Ram, Joshi, 1979, 1981; Bilgrami et al., 1995). Существуют единичные свидетельства выявления этого вида в Европе (Frisullo, 1982; Logrieco et al., 1990; Зазимко и др., 2003) и на других континентах. Из-за неравномерного обнаружения патогена, связанного с очень широко возделываемой культурой, высказано предположение, что распространены ошибки, совершаемые при идентификации этого вида (Rotem, 1994; Simmons, 2007). Вполне вероятно, что он может быть перепутан с представителями группы '*A. infectoria*' или с *A. avenicola*. Исследования, проведенные с использованием молекулярно-генетических методов, показали, что изолят *A. triticina* из Краснодарского края является представителем той же клады, что и виды комплекса '*A. infectoria*'. То же справедливо и в отношении референтного штамма *A. triticina* (Gannibal, Klemsdal, неопубл.). Более детальные исследования таксономии и филогении этой группы видов пока что не осуществлены. Поэтому в настоящей работе все изоляты, имеющие морфологическое сходство с *A. triticina*, были обозначены как представители комплекса '*A. Infectoria*'

Мелкоспоровые виды *Alternaria*, в первую очередь *A. alternata* и *A. tenuissima*, обычно характеризуются как виды с широкой субстратной специализацией. Однако из-за бытовавшего ранее ошибочного объединения разных таксонов под этими названиями суждение о степени специализации нуждается в проверке. В результате наших наблюдений существенной разницы в восприимчивости семян пшеницы и ячменя к разным к разным видам *Alternaria* выявлено не было (табл. 2). Дисперсионный анализ, проведенный на примере образцов 2006 г. урожая из северо-западного региона, показал, что семена обоих видов растений были в одинаковой степени инфицированы как *A. tenuissima* ( $p = 0.182$ ), так и представителями комплекса '*A. infectoria*' ( $p = 0.525$ ). Семена пшеницы и ячменя были заражены *A. alternata* и *A. avenicola* на одинаково низком уровне.

Также с высокой частотой изолировали *A. tenuissima* и представителей комплекса видов '*A. infectoria*' из семян растений разных семейств: овса, ржи, риса, ежи сборной, колосняка песчаного, лисохвоста лугового и тростникового, лука, рапса, моркови, подсолнечника и др. (данные не представлены).

Средняя зараженность семян пшеницы и ячменя разными видами *Alternaria*

Происхождение образца	Год урожая	Зерновая культура	Количество образцов	Зараженность семян, %			
				<i>A. tenuissima</i>	<i>A. alternata</i>	комплекс <i>A. infectoria</i> '	<i>A. avenicola</i>
Ленинградская обл.	2005	Пшеница	3	13.7 ± 4.3	0.0	7.3 ± 1.7	0.0
		Ячмень	3	14.7 ± 2.6	0.0	2.7 ± 1.3	0.7 ± 1.3
	2006	Пшеница	6	15.5 ± 8.5	0.0	13.8 ± 7.1	1.8 ± 1.9
		Ячмень	11	12.5 ± 4.6	0.0	15.1 ± 4.0	0.8 ± 0.7
Приморский край	2006	Пшеница	3	52.7 ± 1.7	0.0	0.0	0.0
		Ячмень	3	73.0 ± 21.9	0.0	0.0	0.0
Калининградская обл.	2006	Пшеница	5	22.4 ± 17.5	0.4 ± 0.8	25.8 ± 12.4	0.0
		Ячмень	2	10.5 ± 2.9	0.5 ± 1.0	25.0 ± 3.9	0.0

Примечание. После знака «±» указан доверительный интервал ( $p = 0.05$ ).

Общая зараженность семян пшеницы видами *Alternaria* колебалась в широких пределах (4—84 %). Образцы, собранные на соседних полях, могли иметь зараженность, отличающуюся в 2—3 раза. На зараженность отдельных партий зерна видами *Alternaria*, несомненно, помимо региональных погодно-климатических условий влияют разнообразие микроклиматические и агротехнические факторы, имеющие локальное значение. Данные о многолетней динамике встречаемости разных видов *Alternaria* на зерновых культурах пока что не собраны. Устойчивость разных сортов пшеницы к альтернариозу зерна также почти не изучена. Это указывает на ориентировочный характер результатов, приведенных в настоящей статье. Уровень зараженности зерна в определенных местах в отдельные годы может существенно отличаться от подсчитанных нами средних значений.

Подводя итог, можно заключить, что наиболее актуальной утилитарной задачей при определении зараженности семян зерновых культур видами *Alternaria* является дифференциация группы токсигенных видов (в первую очередь это *A. tenuissima*) и комплекса '*A. infectoria*', включающего нетоксигенные виды. Для идентификации этих групп грибов полезно использовать прежде всего публикации Симмонса (Simmons, 1986, 1990, 1992, 1995, 2007), а также работы других авторов (Andersen et al., 2002; Dugan, Peever, 2002; Ганнибал, 2004).

Помимо идентификации по морфологическим признакам целесообразно применение ПЦР-диагностики с использованием специфичных праймеров. ПЦР-праймеры AAF2/AAR3 (Konstantinova et al., 2002) амплифицируют ДНК группы родственных токсигенных видов (*A. alternata*, *A. tenuissima* и *A. arborescens*), а праймеры Ain3F/Ain4R специфичны для комплекса видов '*A. infectoria*' (Ганнибал, Ули-Маттила, 2007). Обе пары праймеров могут быть использованы для выявления и идентификации соответствующих групп видов рода *Alternaria* в чистой культуре и непосредственно в зерне или других видах сельскохозяйственной продукции. Результаты оценки чувствительности данного метода показали стабильное обнаружение целевых объектов в образцах семян с уровнем зараженности *A. tenuissima* более 8 % и '*A. Infectoria*' более 4 % (Ганнибал, Ули-Маттила, 2006).

Автор выражает свою признательность всем коллегам из разных уголков России, предоставившим для анализа образцы зерна. Работа выполнена при содействии РФФИ (грант № 07-04-00096).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ганнибал Ф. Б. Мелкоспоровые виды рода *Alternaria* на злаках // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38, вып. 3. С. 19—28.

Ганнибал Ф. Б. Грибы рода *Alternaria* на злаках: видовой состав и внутривидовое разнообразие: Автореф. дис. ... к. б. н. СПб., 2006. 23 с.

Ганнибал Ф. Б. Видовой состав, таксономия и номенклатура возбудителей заболевания альтернариоза листьев картофеля // Лаборатория микологии и фитопатологии им. А. А. Ячевского ВИЗР. История и современность / Под ред. А. П. Дмитриева. СПб.: ВИЗР, 2007. С. 142—148.

Ганнибал Ф. Б., Ули-Маттила Т. Обнаружение и идентификация токсигенных грибов рода *Alternaria* в зерне молекулярными методами // Междунар. школа-конференция молодых ученых «Биотехнология будущего»: Сб. статей. М.: Авиаиздат, 2006. С. 14.

Ганнибал Ф. Б., Ули-Маттила Т. Морфологический и УП-ПЦР анализ и разработка метода ПЦР-диагностики комплекса видов *Alternaria infectoria* // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 4. С. 313—322 (на англ. яз.).

Городилова Л. М. Изменение окраски зерна пшеницы под влиянием гриба рода *Альтернэрия* на севере Казахстана // Влияние микроорганизмов и протравителей на семена. М.: Колос, 1972. С. 41—43.

Зазимко М. И., Монастырская Э. И., Горьковенко В. С. Патогенный комплекс на озимой пшенице // Защита и карантин растений. 2003. №4. С. 18—20.

Семенов А. Я., Мухина М. Ю., Горденко В. И. Видовой состав микроскопических грибов на семенах озимой ржи в Горьковской области // Бюл. ВНИИ защиты растений. 1988. Вып. 70. С. 84.

Andersen B., Thrane U., Svendsen A., Rasmussen L.A. Associated field mycobiota on malt barley // Can J. Bot. 1996. Vol. 74, N 6. P. 854—858.

Andersen B., Krøger E., Roberts R. G. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen* and *A. longipes* // Mycol. Res. 2001. Vol. 105, N 3. P. 291—299.

Andersen B., Kroger E., Roberts R. G. Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-group // Mycol. Res. 2002. Vol. 106, N 2. P. 170—182.

Andersen B., Thrane U. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics // Can. J. Microbiol. 1996. Vol. 42. P. 685—689.

Bilgrami K. S., Sinha K. K., Ansari A. A., Rahman M. F. Widespread occurrence of toxigenic *Alternarias* in cereals and oilseeds // Ind. Phytopathol. 1995. Vol. 48, N2. P. 150—153.

Chou H.-H., Wu W.-S. Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked conidia // Mycol. Res. 2002. Vol. 106, N 2. P. 164—169.

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. Agr. Food Chem. 2005. Vol. 53, N 24. P. 9431—9435.

Coulombe R. A. *Alternaria* toxins // Mycotoxins and phytoalexins / Eds R. P. Sharma, D. K. Salunkhe. Boca Ration: CPC Press, 1991. P. 425—433.

De Hoog G. S., Horre R. Molecular taxonomy of the *Alternaria* and *Ulocladium* species from humans and their identification in the routine laboratory // Mycoses. 2002. Vol. 45. P. 259—276.

Diener U. L., Morgan-Jones G., Wagener R. E., Davis N. D. Toxigenicity of fungi from grain sorghum // Mycopathologia. 1981. Vol. 75. P. 23—26.

Dugan F. M., Lupien S. L. Filamentous fungi quiescent in deeds and culm nodes of weedy and forage grass species endemic to the Palouse Region of Washington and Idaho // Mycopathologia. 2002. Vol. 156. P. 31—40.

Dugan F. M., Peever T. L. Morphological and cultural differentiation of described species of *Alternaria* from Poaceae // Mycotaxon. 2002. Vol. 83. P. 229—264.



Frisullo S. Parassiti fungini delle piante nell'Italia meridionale. 1. Alteraaria triticina Pras. et Prab. su Frumento duro // *Phytopathol. mediterranea*. 1982. N21. P. 113—115.

Griffin G. F., Chu F. S. Toxicity of the *Alternaria* metabolites alteraariol, alternariol methyl ether, altenuene, and tenuazonic acid in the chicken embryo assay // *Appl. Environm. Microbiol.* 1983. Vol. 46, N6. P. 1420—1422.

Haubruege E., Chasseur C., Debouck C., Begaux F., Suetens C, Mathieu F., Michel V., Gaspar C, Rooze M., Hinsenkamp M., Gillet P., Nolard N., Lognay G. The prevalence of mycotoxins in Kashin-Beck disease // *Int. Orthopaedics (SICOT)*. 2001. Vol.25. P. 159—161.

Joffe A. Z. Biological properties of some toxic fungi isolated from overwintered cereals // *Mycopathol. Mycol. Appl.* 1962. Vol. 16, N2. P. 201—221.

Konstantinova P., Bonants P. J. M., van Gent-Pelzer M. P., van der Zouwen P., van den Bulk R. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays // *Mycol. Res.* 2002. Vol. 106, N1.P. 23—33.

Kosiak B., Torp M., Skjerve E., Andersen B. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality — a matched pair sample study // *Int. J. Food Microbiol.* 2004. Vol. 93. P. 51—62.

Kwasna H., Kosiak B. *Lewia* teleomorph of *Alternaria triticicola* from oat grain in Norway is now described // *The 7th Int. Mycol. Congr. Book of abstracts*. 2002. P. 215.

Kwasna H., Kosiak B. *Lewia awenicola* sp. nov. and its *Alternaria* anamorph from oat grain, with key to the species of *Lewia* // *Mycol. Res.* 2003. Vol. 107, N 3. P. 371—376.

Larsen T. O., Perry N. B., Andersen B. Infectopyrone, a potential mycotoxin from *Alternaria infectoria* // *Tetrahedron Letters*. 2003. Vol. 44. P. 4511—4513.

Li F.-Q., Yoshizawa T. *Alternaria* mycotoxins in weathered wheat from China//*J. Agr. Food Chem.* 2000. Vol. 48, N 7. P. 2920—2924.

Logrieco A., Bottalico A., Solfrizzo M., Mule G. Incidence of *Alternaria* species in grains from Mediterranean countries and their ability to produce mycotoxins // *Mycologia*. 1990. Vol.82, N4. P. 501—505.

Pryor B. M., Bigelow D. M. Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium* // *Mycologia*. 2003. Vol. 95, N 6. P. 1141—1154.

Pryor B. M., Michailides T. J. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio // *Phytopathology*. 2002. Vol. 92, N4. P. 406—416.

Ram B., Joshi M. Effect of artificial inoculation of *Alternaria triticina* on yield components of wheat // *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*. 1979. Bd 86, N 12. S. 741—744.

Ram B., Joshi M. Effect of nitrogen on leaf blight of wheat and losses in yield compounds // *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*. 1981. Bd 88, N 12. S. 744—747.

Rotem J. The genus *Alternaria*. Biology, epidemiology and pathogenicity. St. Paul: APS Press, 1994.326 p.

Serdani M., Kang J.-C, Andersen B., Crous P. W. Characterisation of *Alternaria* species groups associated with carrot of apples in South America // *Mycol. Res.* 2002. Vol. 106, N 5. P. 561—569.

Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (22—26) // *Mycotaxon*. 1986. Vol. 25, N 1. P. 287—308.

Simmons E.G. *Alternaria* themes and variations (27—53) // *Mycotaxon*. 1990. Vol.37. P. 79—119.

Simmons E. G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge // *Alternaria. Biology, plant diseases and metabolites* / Eds J. Chelkowski, A. Visconti. Amsterdam: Elsevier, 1992. P. 1—36.

Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (63—72) // *Mycotaxon*. 1993. Vol.48. P. 91—107.

Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (106—111) // *Mycotaxon*. 1994. Vol. 50. P. 409-127.

Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (112—144) // *Mycotaxon*. 1995. Vol. 55. P. 55—163.

Simmons E. G. *Alternaria* themes and variations (305—309) *Lewia/Alternaria* revisited // *Mycotaxon*. 2002. Vol. 83. P. 127—145.

Simmons E. G. *Alternaria*. An Identification Manual. Utrecht: CBS, 2007. 775 p.

Stack M. E., Prival M. J. Mutagenicity of the *Alternaria* Metabolites Alttoxins I, II, and III // *Appl. Environm. Microbiol.* 1986. Vol. 52, N4. P. 718—722.

Visconti A., Sibilia A. *Alternaria* toxins // *Mycotoxins in grains, compounds other than aflatoxins*/ Eds J. D. Miller, H. L. Trenholm. St. Paul: Eagan Press, 1994. P. 315—336.

Webley D. J., Jackson K. L., Mullins J. D., Hocking A. D., Pitt J. I. *Alternaria* toxins in weather-damaged wheat and sorghum in the 1995—1996 *Alternaria* harvest//*Austral. J. Agr. Res.* 1997. Vol. 48, N 8. P. 1249—1255.

Webley D. J., Jackson K. L. Mycotoxins in cereals — a comparison between North America, Europe and Australia // *Austral. Postharvest Technical Conf.* 1998. P. 63—66.

Yekeler H., Bitmis K., Ozcelik N., Doymaz M. Z., Calta M. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on esophagus of mice by light and electron microscopy // *Toxicol. Pathol.* 2001. Vol. 29. P. 492—497.

Zhen Y. Z., Xu Y. M., Liu G. T., Miao I, Xing Y. D., Zheng Q. L., Ma Y. F., Su T., Wang X. L., Ruan L. R., Tian J. F., Zhou G., Yang S. L. Mutagenicity of *Alternaria* and *Penicillium cyclopium* isolated from grains in an area of high incidence of oesophageal cancer in Linxian, China // *Relevance to Human Cancer of N-Nitroso Compounds, Tobacco Smoke and Mycotoxins: Proc. of 10th Int. Symp. on N-Nitroso Compounds.* Lyon, 1991. P. 253—257.

ВНИИ защиты растений  
Санкт-Петербург  
phbgannibal@yandex.ru

Поступила 21 XII 2007

#### SUMMARY

Species of the genus *Alternaria* are extremely common on seeds of cereals and other plants. There are at least 9 valid epithets associated with *Alternaria* species pathogenic to cereal seeds. Those species differ from each other by morphologic, ecologic, physiologic, biochemical characteristics including ability to produce mycotoxins. In wheat grain collected in 2006 in the European part of Russia we have found *A. tenuissima* (infection rate 2—56 %), *A. alternata* (0—2 %), *A. avenicola* (0—6 %) and species of the *A. infectoria* species-group (2—57 %). In the Far East *A. tenuissima* was the only one *Alternaria* species on wheat (29—76 %). All species were able to infect seeds of barley and some other grasses. Level of *Alternaria* spp. infection was in general equal for wheat and barley. Correlation between *A. tenuissima* and *A. infectoria* sp.-gr. infection levels was low ( $r = 0.34$ ).