

**В. Л. Налобова**, доктор сельскохозяйственных наук,  
заведующий лабораторией иммунитета  
РУП «Институт овощеводства», аг. Самохваловичи, Минский район

**ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ШТАММОВОГО СОСТАВА  
(*ALTERNARIA DAUCI* (KUEHN) GROVES ET SKOLKO) –  
ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ  
МОРКОВИ СТОЛОВОЙ**

**РЕЗЮМЕ**

*Бурая пятнистость листьев – распространенное заболевание моркови столовой. У возбудителя бурой пятнистости листьев (*A. dauci*) наблюдалась дифференциация штаммового состава по культурально-морфологическим признакам, в то же время штаммы различались по агрессивности.*

*Степень устойчивости сортообразцов моркови столовой к бурой пятнистости листьев различна и зависит от генотипа сорта.*

*Ключевые слова:* морковь столовая, сортообразец, бурая пятнистость, болезнь, гриб, популяция, изолят, штамм.

**ВВЕДЕНИЕ**

Морковь столовая в Республике Беларусь является одной из основных овощных культур и возделывается повсеместно как в общественном, так и в индивидуальном секторе. Благодаря высоким вкусовым качествам, содержанию биологически активных веществ и витаминов, жизненно необходимых для полноценного питания человека, морковь столовая занимает значительную долю в структуре потребляемых человеком овощей. Ей отводится существенная роль в круглогодичном обеспечении населения питанием.

Лимитирующим фактором снижения урожайности моркови столовой является бурая пятнистость листьев (*Alternaria dauci* (Kuehn) Groves et Skolko), которая является самым распространенным заболеванием данной культуры в период вегетации. Начиная с 1986 г. во многих областях республики развитие этой болезни почти ежегодно носит характер эпифитотии, чему способствуют высокая влажность и повышенная температура последних лет [3, 8].

Известно, что в каждой агроэкологической зоне возделывания овощных культур необходимо иметь свои сорта и гибриды, адаптированные к специфическим условиям внешней среды, а также обладающие устойчивостью к конкретным патогенам.

Селекция овощных культур на иммунитет требует постоянного контроля за фитопатологической ситуацией, необходим учет потенциально опасных и вредоносных болезней, уточнение видового состава и изучение внутривидовой структуры природных популяций возбудителей болезней, с учетом которых должна вестись селекция на болезнестойчивость [1, 10].

Для отбора наиболее устойчивых к болезням генотипов для селекции на болезнеустойчивость необходимо использовать наиболее вирулентные расы и агрессивные штаммы фитопатогенов. Использование устойчивых генотипов к фитопатогенам в селекционном процессе позволит создать сорта и гибриды овощных культур, обладающие устойчивостью к отдельным болезням и их комплексу.

В связи с вышеизложенным задачей наших исследований являлось изучить структуру популяций возбудителя бурой пятнистости листьев с целью выделения наиболее агрессивных штаммов для селекции моркови столовой на болезнеустойчивость.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Материалом для идентификации возбудителя бурой пятнистости листьев служили пораженные болезнью растения моркови столовой.

Выделение возбудителя болезни из пораженных листьев моркови столовой в чистую культуру и изучение культурально-морфологических особенностей патогена осуществляли согласно общепринятым в микологии и фитопатологии методикам, подробно изложенным в методических указаниях [5, 6, 11, 12].

При описании культурально-морфологических признаков изолятов учитывали окраску, характер поверхности колонии, особенности края колонии, наличие концентрических кругов, споруляции, окраску агаризованной среды и др.

Диагностику и идентификацию возбудителя болезни проводили согласно систематике грибов и грибоподобных организмов, разработанной Л. В. Гарибовой, С. Н. Лекомцевой [2] и по определителям, используемым в фитопатологии [13, 14, 16].

Видовую принадлежность возбудителя бурой пятнистости листьев подтверждали методами молекулярной генетики [15].

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Бурая пятнистость листьев является самым распространенным заболеванием данной культуры в период вегетации. Поражение растений к концу вегетации может достигать 80–100 %, что приводит к снижению их продуктивности на 30–60 %. Сильное поражение листьев уменьшает в корнеплодах содержание каротина на 24 %, сахаров – на 31 % и отрицательно сказывается на уборке корнеплодов при использовании средств механизации [4, 8].

По данным обследования посевов моркови столовой в хозяйствах Минской и Гродненской области в 2017 г., пораженность бурой пятнистостью колебалась в пределах от 33,3 до 73,3 %.

Данная болезнь поражает листья, черешки листьев на культуре моркови первого года; листья, стебли, зонтики и семена на культуре второго года (рис. 1). На листьях моркови наблюдаются овальные пятна от коричневых до темно-бурых. Размер пятен варьирует от 1 до 3 мм в диаметре, зачастую пятна сливаются и захватывают большую часть листа. При сильном поражении листья закручиваются и растения кажутся сожженными.



Рисунок 1 – Пораженные бурой пятнистостью листьев (*A. dauci*) посевы, листья и стебли семенников моркови

На черешках листьев, стеблях и зонтиках семенников болезнь проявляется в виде продолговатых штрихов до 4–6 мм по длине стебля и 2–3 мм в ширину. Зонтики становятся темно-коричневого цвета. Снижаются энергия прорастания и всхожесть семян. Отмечено, что пораженность семенных растений моркови столовой бурой пятнистостью листьев колеблется в пределах от 44,7 до 81,3 %, энергия прорастания семян – от 44 до 51, всхожесть семян в зависимости от года исследований – от 70 до 72 % [9].

Согласно литературным данным [3, 16] возбудителями бурой пятнистости листьев являются 3 вида грибов: *A. dauci*, *A. radicina*, *A. tenuis*. Для подтверждения видовой принадлежности того или иного вида возбудителей нами использован метод молекулярной генетики.

Для идентификации видового состава возбудителя бурой пятнистости листьев использовалось 5 изолятов из пораженных болезнью листьев моркови из разных сортов и хозяйств республики.

Идентификацию гриба *A. dauci* осуществляли при наличии ПЦР-теста с праймерами ADF2/ADR1, которые амплифицируют с ДНК из тканей моркови, пораженной патогенами [18]. Полученные результаты указывают, что определенный нами патоген относится к виду *A. dauci* (рис. 2).

Возбудитель бурой пятнистости листьев моркови – *Alternaria dauci* (Kuehn) Groves et Skolko – факультативный паразит относится к роду *Alternaria*, классу *Hyphomycetes* (гифомицеты), отделу *Deuteromycota* (не-совершенные грибы), царству *Fungi*, *Mycota* (настоящие грибы).

Конидии патогена – крупные (150–420×18–24 м), обратнобулавовидные с длинными придатками, с 5–7 поперечными и 2 продольными перегородками, темноокрашенные. Они расположены на конидиеносцах одиночно, редко наблюдалось соединение в цепочки по две.

При культивировании гриба *A. dauci* в условиях *in vitro* патоген не образует спор, хотя и формирует обильный субстратный мицелий, что также является важным признаком при идентификации данного патогена (рис. 3).

В культуре *in vitro* нами установлена идентичность по морфологическим признакам изолятов из пораженных болезнью растений моркови из разных

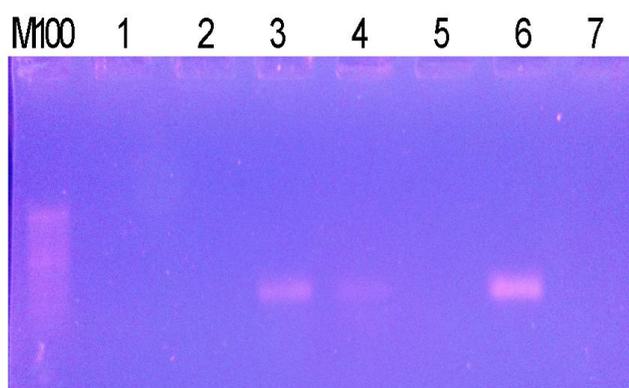


Рисунок 2 – Идентификация гриба *A. dauci*

Примечание. Гель электрофорез продуктов ПЦР с праймерами ADF2/ADR1 с ДНК из тканей моркови, пораженной патогенами (изоляты 1, 2, 3, 4, 5), ДНК штамма *A. dauci in vitro* – 6, ДНК листа здорового растения моркови столовой – 7. M100 – маркер молекулярного веса 100 kb.

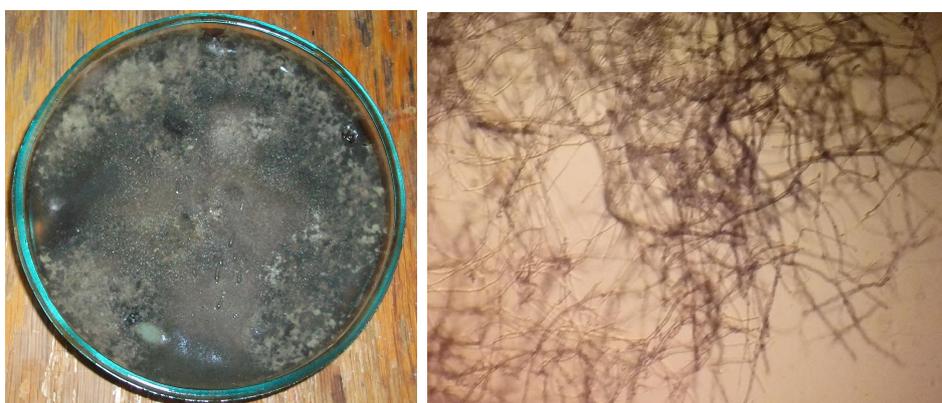


Рисунок 3 – Культивирование *A. dauci in vitro*

сортов и хозяйств республики. Штаммы, культивированные на агаризованной картофельно-глюкозной среде, не отличались друг от друга по цвету колонии, особенности края колонии, структуре мицелия, наличию пигментации и не имели спороношения (табл. 1). Следовательно, не наблюдалось дифференциации штаммового состава *A. dauci* по культурально-морфологическим признакам.

В то же время наблюдалась дифференциация штаммового состава гриба *A. dauci* по степени агрессивности (табл. 2). Штаммы Ad2, Ad7, Ad8 отличались более высокой агрессивностью по сравнению со штаммами Ad4, Ad9.

Следовательно, популяция гриба *A. dauci* состоит из штаммов разной агрессивности. Более высокой агрессивностью обладают штаммы Ad2, Ad7, Ad8.

В процессе исследований проведен анализ 43 коллекционных сортообразцов моркови столовой на пораженность бурой пятнистостью. В меньшей степени бурой пятнистостью было поражено 30,2 % сортообразцов. Это следующие сортообразцы – Красный великан, Першы збор, Шантенэ F<sub>1</sub>, Ройал Форто,

Бангор F<sub>1</sub>, Колосеум F<sub>1</sub>, Маэстро F<sub>1</sub>, Миникор, Доўгая чырвоная, Каротан РЗ, К-69, К-94, К-134. У данных сортообразцов развитие болезни колебалось в пределах от 11,1 до 20,0 %. Более высокую степень поражения имели 37,2 % сортообразцов, развитие болезни у них было в пределах от 40,0 до 61,1 % (табл. 3).

Таблица 1 – Характеристика культурально-морфологических признаков штаммов *A. dauci* на картофельно-глюкозной среде

Параметры	Штамм				
	Ad1	Ad2	Ad5	Ad7	Ad9
Окраска колонии	Темно-серая войлочная	Темной-лочная	Темной-лочная	Темной-лочная	Темной-лочная
Характер поверхности	Гладкая	Гладкая	Гладкая	Гладкая	Гладкая
Край колонии	Гладкая с ровным краем				
Концентрические круги	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют	Отсутствуют
Окраска среды	Свинцово-серая	Свинцово-серая	Свинцово-серая	Свинцово-серая	Свинцово-серая
Спороношение	Нет	Нет	Нет	Нет	Нет

Таблица 2 – Агрессивность штаммов *A. dauci*

Штамм	Развитие болезни, %
Ad1	35,1
Ad2	40,7
Ad3	33,3
Ad4	29,6
Ad5	35,1
Ad6	37,0
Ad7	42,5
Ad8	48,1
Ad9	31,5
Ad10	35,2
НСП <sub>05</sub>	-0,9

Таблица 3 – Результаты оценки сортообразцов моркови столовой на пораженность бурой пятнистостью листьев

Количество анализируемых сортообразцов, шт.	Количество пораженных сортообразцов		Развитие болезни, %
	шт.	%	
43	13	30,2	11,1–20,0
	14	32,6	22,2–33,3
	16	37,2	40,0–61,1

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено:

1. Бурая пятнистость листьев – распространенное заболевание моркови столовой;
2. Популяция *A. dauci* представлена идентичными штаммами по культурально-морфологическим признакам, но различающимися по агрессивности;
3. Сортообразцы моркови столовой различаются по степени устойчивости к бурой пятнистости листьев. Степень устойчивости сортообразцов моркови столовой к бурой пятнистости листьев зависит от генотипа сорта.

### Список использованных источников

1. Балашова, Н. Н. Иммунологические проблемы в связи с селекцией устойчивых сортов сельскохозяйственных растений / Н. Н. Балашова // Изд. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. – 1989. – № 3. – С. 59–65.
2. Гарибова, Л. В. Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов / Л. В. Гарибова, С. Н. Лекомцева. – М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2005. – 220 с.
3. Иванюк, В. Г. Бурая пятнистость листьев моркови и пути снижения ее вредоносности / В. Г. Иванюк, Е. В. Сидунова // Овощеводство: сб. науч. тр. – 1998. – № 10. – С. 80–85.
4. Колядко, Н. Н. Эффективность экологически безопасных приемов защиты моркови столовой от вредителей и болезней / Н. Н. Колядко, Ф. А. Попов // Овощеводство: сб. науч. тр. / Ин-т овощеводства НАН Беларуси; редкол.: А. А. Аутко (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2006. – Т. 1. – С. 230–235.
5. Наумов, Н. А. Методы микологических и фитопатологических исследований / Н. А. Наумов. – М.; Л.: Сельхозгиз, 1937. – 272 с.
6. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов / М. Х. Хохряков [и др.]; под ред. М. Х. Хохрякова. – Л.: ВИР, 1969. – 68 с.
7. Налобова, Ю. М. Бурая пятнистость листьев (возбудитель – гриб *Alternaria dauci*) моркови столовой / Ю. М. Налобова // Овощеводство: сб. науч. тр. / Ин-т овощеводства; редкол.: А. А. Аутко (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2009. – Т. 16. – С. 231–237.
8. Налобова, Ю. М. Влияние факторов внешней среды на развитие бурой пятнистости листьев моркови столовой / Ю. М. Налобова // Сборник научных трудов. Интегрированная защита растений: стратегия и тактика: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию со дня организации РУП «Институт защиты растений», Минск, 5–8 июля 2011 г. – Несвиж: Ин-т защиты растений, 2011. – С. 723–725.
9. Налобова, Ю. М. Пораженность семенных растений моркови столовой бурой пятнистостью листьев (*Alternaria dauci*) / Ю. М. Налобова, А. И. Бохан // Изв. НАН Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2013. – № 4. – С. 55–59.
10. Видовой состав фитопатогенов и оценка сортообразцов овощных культур на болезнестойчивость / В. Л. Налобова [и др.] // Актуальные проблемы

изучения и сохранения фито- и микобиоты: сб. ст. II Междунар. науч.-практ. конф. – Минск: Изд. центр БГУ, 2013. – С. 279–281.

11. Общая и молекулярная фитопатология / Ю. Т. Дьяков [и др.]. – М.: Мир, 2001. – 301 с.

12. Основные методы фитопатологических исследований / А. Е. Чумаков [и др.]; ВАСХНИЛ. – М.: Колос, 1974. – 190 с.

13. Определитель низших грибов. Грибы / Л. И. Курсанов [и др.]. – М.: Сов. наука, 1956. – Т. 4. – 449 с.

14. Пидопличко, М. М. Грибы – паразиты культурных растений: Определитель / М. М. Пидопличко. – Киев: Навукова думка, 1977. – Т. 1. – 295 с.

15. Подутов, В. Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В. Е. Подутов, О. Ю. Баранов, Б. В. Воропаев. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.

16. Сазонова, Л. В. Корнеплодные растения: морковь, сельдерей, редис, редька / Л. В. Сазонова, Э. А. Власова. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 296 с.

17. Определитель болезней растений / М. К. Хохряков [и др.]. – Л.: Колос, 1966. – 592 с.

18. Konstantinova, P. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria spp.* in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays / P. Konstantinova, P.J.M Bonants, van M.P.E Gent-Pelzer, van der P Zouwen., van den R Bulk // Mycol. – Res. 106 (1): 23–33 (January 2002). – DOI: 10, 1017(S0953756201005160).

*Поступила в редакцию 2 ноября 2018 г.*

**V. L. Nalobova**

## **DIFFERENTIATION OF STRAIN STRUCTURE (*ALTERNARIA DAUCI* (KUEHN) GROVES ET SKOLKO) – THE AGENT OF LEAF MOULD OF GARDEN CARROT**

### **SUMMARY**

*The brown leaf mould is a widespread disease of garden carrot. The agent of leaf mould had differentiation of strains structure for cultural-morphological features, at the same time strains differed on aggression.*

*The degree of stability of garden carrot variety to the leaf mould is different and depends on the variety genotype.*

*Keys words:* garden carrot, variety, cercosporosis, disease, fungus, population, isolate, strain.