

Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Russian Academy of Agricultural Sciences
All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)

Ганнибал Ф.Б., Гасич Е.Л., Орина А.С.

**ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СЕЛЕКЦИОННОГО
МАТЕРИАЛА КРЕСТОЦВЕТНЫХ И ПАСЛЁНОВЫХ
КУЛЬТУР К АЛЬТЕРНАРИОЗАМ**

Методическое пособие



Санкт-Петербург
2011

Российская академия сельскохозяйственных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Russian Academy of Agricultural Sciences
All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)

Ганнибал Ф.Б., Гасич Е.Л., Орина А.С.

**ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СЕЛЕКЦИОННОГО
МАТЕРИАЛА КРЕСТОЦВЕТНЫХ И ПАСЛЁНОВЫХ
КУЛЬТУР К АЛЬТЕРНАРИОЗАМ**

Методическое пособие

Санкт-Петербург
2011

Ганнибал Ф.Б., Гасич Е.Л., Орина А.С.

Оценка устойчивости селекционного материала крестоцветных и паслёновых культур к альтернариозам. Методическое пособие.

Научный редактор – академик РАСХН М.М. Левитин

Рецензент – член-корр. РАСХН О.С. Афанасенко

Работа выполнена в рамках плана фундаментальных и приоритетных прикладных исследований Россельхозакадемии по проблеме 5, заданию 05.02.01 на 2011 г. «Выявить новые источники и доноры устойчивости к вредным организмам и обосновать стратегию их использования на основе изучения генетических ресурсов основных сельскохозяйственных культур» при финансовой поддержке РФФИ (грант 09-04-13753-офи_ц «Биоразнообразие грибов рода *Alternaria* и устойчивость сельскохозяйственных культур к альтернариозам»).

Издание одобрено методической комиссией по фитопатологии ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии (протокол от 26.09.2011).

© Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии), 2011

© All-Russian Institute of Plant Protection RAAS (VIZR), 2011

Оглавление

Введение	4
1. Возбудители альтернариозов крестоцветных и паслёновых культур	5
1.1. Виды <i>Alternaria</i> на крестоцветных культурах	5
1.2. Виды <i>Alternaria</i> на паслёновых культурах	10
1.3. Неспециализированные факультативные паразиты	13
2. Устойчивость растений к альтернариозам	17
2.1. Крестоцветные культуры	17
2.2. Паслёновые культуры	20
3. Оценка устойчивости растений к альтернариозам на естественном инфекционном фоне	23
3.1. Сроки и способы учёта	23
3.2. Шкалы учёта	24
4. Оценка устойчивости растений к альтернариозам с использованием искусственного инфекционного фона	27
4.1. Получение инокулюма	28
4.2. Обзор методов оценки устойчивости крестоцветных культур	32
4.3. Обзор методов оценки устойчивости паслёновых культур	35
4.4. Рекомендуемый алгоритм оценки устойчивости	37
Литература	39

Введение

Виды рода *Alternaria* вызывают заболевания растений из семейств крестоцветных (капустных, *Brassicaceae*) и паслёновых (*Solanaceae*) практически повсеместно, где возделываются эти культуры. В России наиболее распространены и вредоносны такие альтернариозы как серая и чёрная пятнистости (альтернариозы) капусты и рапса, ранняя пятнистость картофеля и томатов. Несмотря на широкое распространение возбудителей, значение этих заболеваний в разных регионах различается.

Альтернариозы поражает чаще всего листья, немного реже встречаются вредоносные заболевания стеблей и стручков. Для многих видов *Alternaria* характерна способность заражать семена. Вредоносность альтернариозов заключается в снижении урожая плодов, корнеплодов, кочанов и семян, в ухудшении посевных качеств семян, порче внешнего вида продукции и загрязнении её микотоксинами. Потери урожая семян крестоцветных культур могут достигать 50% (Daebeler et al., 1986) при значительном снижении всхожести и масличности (Maude, Humpherson-Jones, 1980; Lagopodi, Thanassouloupoulos, 1998). Потери урожая томатов при культивировании сильно восприимчивых сортов могут достигать 78% (Rotem, 1994).

Ещё одним последствием заражения грибами рода *Alternaria* является загрязнение продукции, чаще всего плодов и семян, микотоксинами. Наличие этих опасных для человека и животных веществ в семенах крестоцветных и полученном из них масле не изучалось, однако присутствие микотоксинов в заражённых семенах очень вероятно. В томатах, заражённых видами *Alternaria*, и томатном соке, приготовленном из таких плодов, концентрация токсичных грибных метаболитов может достигать опасных величин (Da Motta, Soares, 2001; Logrieco et al., 2003).

На многих культурах, в том числе на капусте, рапсе и томатах, известно по несколько фитопатогенных видов *Alternaria*. Этот факт не всегда учитывается при разработке защитных мероприятий и при ведении селекции на иммунитет, что приводит к снижению эффективности предпринимаемых действий. Механизмы устойчивости растений к разным патогенам могут различаться. Разные виды *Alternaria* отличаются по экологическим, биохимическим, популяционно-генетическим и другим особенностям, что сказывается на ареалах распространения грибов, на эпифитотиологических характеристиках и вредоносности заболеваний. Различия между видами по таким признакам, как размер популяций, количество генераций за сезон, наличие/отсутствие сумчатой стадии, предопределяют различный эволюционный потенциал видов *Alternaria*. Результаты исследований, выявившие разную частоту рекомбинации, например, у *A. brassicicola* и *A. solani* (Bock et al., 2005; Lourenço et al., 2009), являются тому подтверждением. Следовательно, очевидна необходимость в дифференциации подходов к селекции сельскохозяйственных культур на устойчивость к разным альтернариозам.

1. Возбудители альтернариозов крестоцветных и паслёновых культур

Всего на крестоцветных и паслёновых описано более 50 видов и форм альтернариоидных гифомицетов. После исключения из этого списка синонимов, «голых» названий и видов, требующих дополнительного таксономического изучения, остается около 35 «хороших» с точки зрения микологов-систематиков видов рода *Alternaria* (Simmons, 2007). Экономическим значением обладает 5 видов – факультативных сапротрофов и группа неспециализированных факультативно паразитических видов.

1.1. Виды *Alternaria* на крестоцветных культурах

Из числа возбудителей альтернариоза крестоцветных чаще других в фитопатологической литературе фигурируют три вида, являющихся наиболее распространёнными и вредоносными: *A. brassicae*, *A. brassicicola* и *A. japonica*.

A. brassicae (Berk.) Sacc. (син.: *A. herculea* (Ellis et G. Martin) Elliott, *A. macrospora* (Sacc.) Sawada, *Macrosporium brassicae* Berk., *M. herculeum* Ellis et G. Martin, *M. macrosporum* (Eliasson) Sawada).

Конидии бледно-жёлтые одиночные, в культуре иногда в цепочках по 2, обратнобулавовидные до 150-200(250) × 20-35(40) мкм, включая апикальный вырост, с 10-12 поперечными и 1-2 продольными перегородками в 1-5 поперечных сегментах. Апикальный вырост достигает 50-80 мкм, вторичный конидиеносец – 20-100 мкм (рис. 1).

Вид *A. brassicae* наиболее холодоустойчив среди прочих возбудителей альтернариозов крестоцветных. Температура 18–24 °С считается оптимальной для прорастания конидий, заражения тканей растения, а также для спороношения (Degenhardt et al., 1982; Humpherson-Jones, Phelps, 1989). Данный патоген распространен почти повсеместно (Ellis, 1971; Anonimous, 2006), обычен во многих странах Европы и Северной Америки (Brazauskienė, Petraitiene, 2006). Например, на рапсе *A. brassicae* по данным 1991-2006 гг. часто встречается в Польше, Франции, Великобритании, Литве, Дании и Швейцарии, но не представляет собой проблемы в Швеции, Германии и Нидерландах (Brazauskienė, Petraitiene, 2006).

В России и соседних странах этот вид встречается нередко почти на всей протяжённости зоны возделывания растений-хозяев: на всей территории европейской части РФ, на юге Западной и Восточной Сибири и юге Дальнего Востока, в Белоруссии, Прибалтике, Украине и Казахстане (Ганнибал, Гасич, 2009).

Чаще всего *A. brassicae* является возбудителем серой пятнистости (чёрной пятнистости, альтернариоза) листьев и других надземных частей большинства разновидностей капусты (*Brassica oleraceae*) и рапса (*B. napus*). Для предупреждения путаницы и удобства мы предлагаем для обозначения заболевания, вызываемого *A. brassicae*, использовать более информативный термин – серый альтернариоз. Кроме капусты и рапса, в России *A. brassicae* был обнаружен на многих других растениях семейства крестоцветных: на арабисе (*Arabis* sp.), хрене (*Armoracia rusticana*), горчице

сарептской (*Brassica juncea*), турнепсе (*B. rapa*), свербиге (*Bunias orientalis*), клоповнике (*Lepidium latifolium*), неслии (*Neslia* sp.), редьке дикой (*Raphanus raphanistrum*), редьке масличной и дайконе (*R. sativus*), горчице (*Sinapis alba*), гулявнике (*Sisymbrium* sp.) и ярутке (*Thlaspi arvense*) (Ганнибал, Гасич, 2009). Помимо перечисленных растений в других странах этот вид был зарегистрирован на *Alliaria*, *Brassica campestris*, *Crambe* и *Lunaria* (Ellis, 1971; Farr et al., 1989; Shrestha et al., 2000; Simmons, 2007), *Armoracia lapathifolia* (Lee et al., 1991), *Lepidium apetalum*, *Rorippa cantoniensis* и *R. islandica* (Oh, Shin, 1999). Иногда грибок сохраняется в семенах, но обычно заражённость семян этим видом незначительная (Köhl et al., 2010).

Сумчатая стадия не выявлена. Популяционно-генетические исследования не проводились. Плотность популяции обычно невысокая или низкая, количество генераций за сезон небольшое, а споровая продуктивность невысокая, что указывает на низкий или умеренный эволюционный потенциал этого вида.

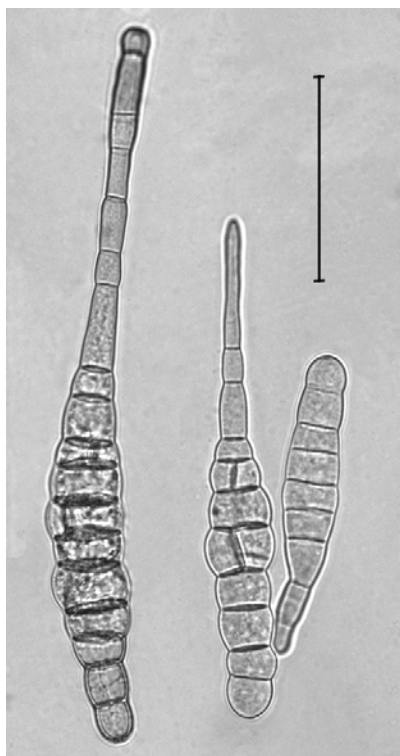


Рис. 1. Конидии *Alternaria brassicae* на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Серый альтернариоз на листьях капусты и рапса проявляется в виде сероватых, светло-коричневых или тёмно-коричневых округлых пятен, обычно до 12 мм в диаметре. На стеблях и стручках рапса пятна тёмно-коричневые или почти чёрные округлые или штриховатые, до 5 мм в диаметре.

Серый альтернариоз зачастую характеризуется высоким показателем распространения, но низким развитием. Например, в Ленинградской обл., Брянской и Калининградской областях, серый альтернариоз листьев и стручков рапса в последние годы характеризуется высокой частотой встречаемости (в августе – до 80-100%), но интенсивность развития в среднем составляет 20–28% (Гасич, 2003; Ганнибал и др., 2010). Заболевание может приводить к потере до 25% урожая семян и снижению их всхожести на 35% (Попов, 1993).

У *A. brassicae* обнаружен ряд фитотоксинов, в том числе хозяйин-специфический токсин (ХСТ) ABR-токсин, вероятно являющийся одним из основных факторов патогенности данного гриба (Parada et al., 2008). ABR-токсин представляет собой белок массой 27,5 кДа. Кроме того, *A. brassicae* способен синтезировать 4 циклодепептида, из которых в больших количествах обычно присутствует деструксин В (Tewari, Bains, 1997). Этот токсин согласно результатам некоторых исследований является неспецифическим (Buchwaldt, Green, 1992), но по другим данным специфичность этого метаболита совпадает со спектром растений-хозяев патогена (Ayer, Peña-Rodriguez, 1987).

A. brassicicola (Schwein) Wiltshire (син.: *A. oleracea* Milbraith).

Конидии в длинных ветвящихся цепочках, цилиндрические, реже булавовидные, желтоватые до коричневых. Одна или несколько нижних спор более крупные, до 50-70 × 12-17 мкм с 6-7 поперечными и 1, изредка 2 продольными перегородками в 0-4 поперечных сегментах. Большая часть конидий более мелкие, 10-25 × 6-10 мкм с 1-3 поперечными перегородками и без продольных. Апикальные и латеральные вторичные конидиеносцы обычно представлены одной мелкой почти квадратной или коротко цилиндрической клеткой (рис. 2).

Считается космополитом (Ellis, 1971; Anonymous, 1999). По сравнению с *A. brassicae*, *A. brassicicola* является более теплолюбивым. Для его развития необходима температура 20–30 °C (Degenhardt et al., 1982; Humpherson-Jones, Phelps, 1989). Не обладает высокой вредоносностью в областях с умеренным климатом, например, в Канаде, на севере США и Европы (Rimmer, Buchwaldt, 1995). В России единичные находки этого вида были сделаны в центре европейской части страны (Московская и Калужская области). Массовое развитие заболевания, вызываемого *A. brassicicola*, было зарегистрировано на Кавказе (Республики Адыгея и Дагестан) и на юге Дальнего Востока – в Хабаровском и Приморском краях (Ганнибал, Гасич, 2009).

Чаще всего *A. brassicicola* является возбудителем пятнистости листьев и других надземных частей большинства разновидностей капусты (*Brassica oleraceae*) и рапса (*B. napus*). Иногда обнаруживается на хрене (*Armoracia rusticana*), редисе (*Raphanus sativus*), катране (*Crambe*), луннике (*Lunaria*) и ярутке (*Thlaspi*). Нередко

встречается на семенах. Заражённость семян цветной капусты этим видом может превышать 90% (Kubota et al., 2006; Köhl et al., 2010).

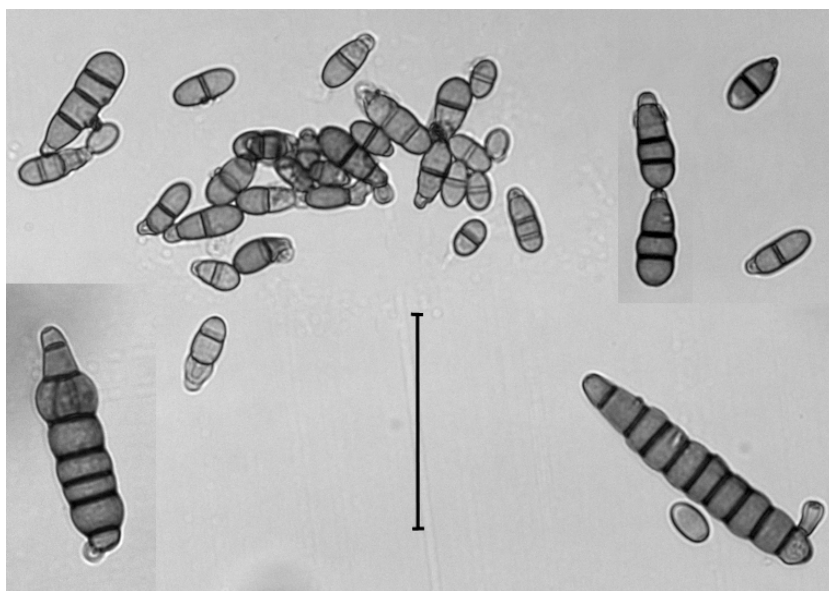


Рис. 2. Конидии *Alternaria brassicicola* на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Сумчатая стадия не выявлена. Однако особенности генетической структуры популяций свидетельствуют о присутствии регулярных рекомбинационных событий (Bock et al., 2005). При благоприятных погодно-климатических условиях плотность популяции может быть высокой. При этом наблюдается интенсивное спороношение и высокая частота генераций, что указывает на умеренный или высокий эволюционный потенциал этого вида.

Заболевание, вызываемое этим патогеном, обычно называют чёрной (тёмной) пятнистостью или альтернариозом. Мы предлагаем называть его чёрным альтернариозом. На листьях капусты пятна тёмно-серые, серо-коричневые, тёмно-коричневые, почти чёрные, после появления спороношения гриба – оливково-чёрные, округлые с зональностью, до 20 мм в диаметре. Исследования, проводившиеся в Германии в течение 8 лет показали, что потери урожая озимого рапса от чёрного альтернариоза могут достигать до 20% при умеренном поражении и до 50% при сильном развитии болезни (Daebeler et al., 1986). В Великобритании потери урожая семян капусты от заражения семенных посевов этим патогеном в отдельные годы достигали 80% (Maude, Humpherson-Jones, 1980).

A. japonica Yoshii. (син. *A. raphani* Groves et Skolko)

Спороношение имеет вид цепочек, состоящих из 2-4(6) конидий. Конидии коричневые, базовая форма коротко- или вытянуто-овальная, у перегородок сильно перетянутые. Зрелые конидии часто ассиметричные. Часть из них короткие широко-овальные с 2-3 поперечными и 1-2 продольными перегородками в 1-3 сегментах, 35-45 × 20-24 мкм. Другая часть конидий более длинные с 5-7 поперечными и 1-2 продольными перегородками в нескольких поперечных сегментах, 55-70 × 18-22 мкм. Вторичные конидиеносцы от очень коротких до относительно длинных (до 60 мкм), преимущественно апикальные, в старых культурах иногда латеральные, позволяющие цепочкам спор ветвиться (рис. 3).

Был обнаружен во многих странах на всех континентах (Anonymous, 2002). По температурным требованиям *A. japonica* занимает промежуточное положение между *A. brassicae* и *A. brassicicola*. Считается, что он чаще встречается в областях с умеренным и холодным климатом (Vannacci, Pecchia, 1988). В России отмечен в центре Европейской части России, на Северном Кавказе, и в Приморском крае (Ганнибал, Гасич, 2009).

Сумчатая стадия не выявлена. Популяционно-генетические исследования не проводились. Плотность популяции обычно низкая, количество генераций за сезон небольшое, а споровая продуктивность невысокая, что указывает на низкий эволюционный потенциал этого вида.

Вид *A. japonica* поражает преимущественно виды рода *Raphanus* (редька, редис и др.), но также иногда обнаруживается на некоторых видах капусты и левкое (*Matthiola incana*). Чаще всего поражает стебли и стручки, реже листья. Пятна округлые тёмно-серые или чёрные. Приводит к снижению всхожести и массы 1000 семян. Иногда вызывает поражение корнеплодов при хранении (Su et al., 2005). На корнеплодах в этом случае вокруг повреждений кожицы появляются чёрные или тёмно-коричневые пятна, которые могут приводить к гнили.

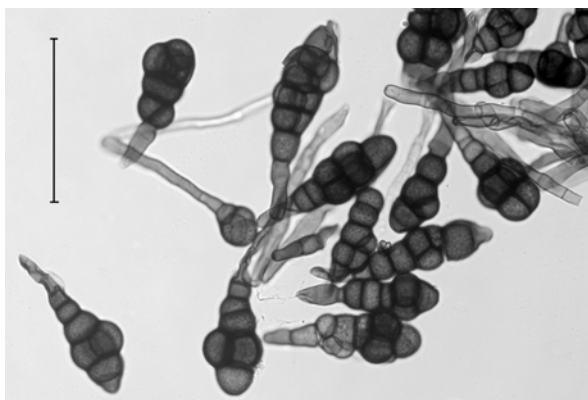


Рис. 3. Конидии *Alternaria japonica* на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

1.2. Виды *Alternaria* на паслёновых культурах

Основные возбудители альтернариозов паслёновых культур могут быть разделены на две группы видов, рассматриваемые в рамках прежних таксономических концепций как два вида. Первая группа относит из 17 так называемых крупноспоровых видов, в том числе описанные на картофеле *A. grandis* и *A. solani* и на томатах – *A. cretica*, *A. elegans*, *A. subtropica*, *A. tomato* и *A. tomatophila* (Simmons, 2007). По мнению Э. Симмонса из числа крупноспоровых видов *Alternaria* на картофеле наиболее распространён *A. solani*, а близкий, но морфологически отличимый вид *A. tomatophila* обычен на томатах. Фитопатологические и молекулярно-генетические исследования подтвердили наличие различий между изолятами с картофеля и томатов (Martinez et al., 2004; Lourenço et al., 2009; Орина, 2011).

К другой группе относятся мелкоспоровые виды *Alternaria*, ранее рассматриваемые как один большой и полиморфный вид *A. alternata*. В настоящее время этот таксон разделён на несколько видов по морфологическим признакам. Многочисленные исследования, основанные на анализе ДНК, показали, что молекулярно-генетическая дифференциация лишь частично совпадает с морфологической, поэтому систематика этой группы остаётся дискуссионной и в ближайшем будущем может быть пересмотрена. В данной работе мы принимаем «морфологическую» систему (Simmons, 2007), пользуясь которой можно констатировать присутствие на картофеле и томатах в России таких мелкоспоровых видов как *A. tenuissima*, *A. arborescens* и *A. alternata* (в их современном понимании) (Ганнибал, 2007; Орина и др., 2010).

Определённый период в отечественной литературе использовались некорректные с точки зрения ботанической номенклатуры видовые названия возбудителей альтернариоза картофеля. Например, в одной и той же статье могли упоминаться *Macrosporium solani* и *A. solani* как разные виды, несмотря на то, что эти названия являются синонимами. Вероятно, под *M. solani* подразумевался *A. solani* Sorauer, а под *A. solani* – *A. alternata* sensu lato. Поэтому при использовании различных литературных источников необходимо иметь в виду возможность такого рода путаницы.

По литературным данным в России альтернариозы встречается во всей зоне выращивания картофеля и томатов, но особенно распространены и вредоносны в центре европейской части России, на Дальнем Востоке в Приморском и Хабаровской краях, в несколько меньшей степени проявляются на Байкале (Нелен, 1959; Воловик, 1971, 1975; Коняева и др., 1980; Барлюк и др., 1991; Левитин, 2008).

В Приморском и Хабаровской краях степень поражения растений картофеля часто доходила до 40-50%, а потери урожая достигали 36% (Коняева и др., 1980), на Камчатке потери урожая составляли от 20% до 50% при уровне развития болезни до 50% (Саламатова, 1987). По оценкам исследователей потери урожая картофеля в Белоруссии находятся в пределах 15-40% при уровне развития болезни до 70% (Дорожкин и др., 1973; Иванюк и др., 2003). По разным оценкам потери

урожая томатов вследствие заболевания альтернариозом могут достигать 78-90% (Grogan et al., 1975; Rotem, 1994), на территории бывшего СССР потери урожая ежегодно отмечались в Астраханской, Брянской, Владимирской, Новгородской и Амурской областях (Осницкая, 1966). В Белоруссии потери урожая томатов составляли 23-36% при уровне развития болезни в закрытом грунте – до 80%, в открытом – до 60% (Дорожкин, Иванюк, 1978); в Молдавии потери достигали 10% на устойчивых сортах и 70% – на восприимчивых (Сайчук, 1989). К сожалению, из приведённых выше сообщений не всегда ясно о каком возбудителе идёт речь.

Ниже приведены описания наиболее распространённых в России возбудителей альтернариозов паслёновых культур.

A. solani Sorauer (син. *Macrosporium solani* Ellis et G. Martin)

Конидии одиночные, очень редко в цепочках по две, от светло-соломенных до желтовато-коричневых, изредка с орнаментированной клеточной стенкой. Корпус зрелых конидий длинно-овальный или эллипсоидальный, до 109-115 × 18-26 мкм с 7-11 поперечными перегородками и 1(2) продольными в нескольких поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, иногда состоящий из двух, реже трёх ветвей, 60-118 мкм длиной (рис. 4).

Сумчатая стадия не выявлена. Популяционно-генетические исследования выявили клональную структуру популяций. Плотность популяции обычно невысокая, количество генераций за сезон небольшое, а споровая продуктивность умеренная, что указывает на умеренный эволюционный потенциал этого вида.

Альтернариоз, вызываемый *A. solani*, по нашим данным встречается значительно реже, чем заболевание со сходными симптомами, сопровождаемое присутствием в поражённой ткани мелкоспоровых видов *Alternaria* (Ганнибал, 2007; Орина и др., 2010). Поскольку для активного спороношения в условиях чистой культуры грибу необходимо яркое освещение, очевидно условием эпифитотийного развития заболевания является наличие солнечных дней. Для прорастания конидий *A. solani* оптимальной является температура 22-25 °С, влажность 90-100% и наличие капельной влаги по крайней мере в течение 2 часов (Иванюк и др., 2003), т.е. условия жаркого лета с частыми, но кратковременными дождями и утренними росами. Анализ климатических условий в разных регионах показал, что такие условия существуют в центре Европейской части России (Татарстан, Марий-Эл, Чувашия, Нижегородская и Кировская обл.), на западе страны (Брянская и Смоленская обл.), на Северном Кавказе, на юге Западной Сибири (Курганская и Омская обл.), на Байкале (юг Иркутской обл.) и на юге Дальнего Востока (Приморский край) (Орина и др., 2010).

При изучении видового состава возбудителей альтернариоза паслёновых высокая частота встречаемости *A. solani* была зарегистрирована нами на картофеле в Омской и Псковской областях, республике Адыгея, Камчатском (Быстринский р-н), Хабаровском и Приморском краях. Единичные находки сделаны в Иркутской, Кировской, Тамбовской и Ленинградской областях.

При заражении листьев грибом *A. solani* на листьях картофеля появляются коричневые или сероватые округлые пятна с хорошо заметными концентрическими кругами. Диаметр пятен на некоторых сортах картофеля достигает 1,5 см. пораженная ткань сухая и хрупкая. В Европейской части страны при благоприятных погодных условиях болезнь может появиться уже в конце июня. В обзоре Дж. Ротема (Rotem, 1994) указывается, что потери урожая клубней от альтернариоза могут достигать до 20%, хотя есть сообщения о более серьезных потерях, особенно ранних сортов – до 40% (Иванюк и др., 2003).

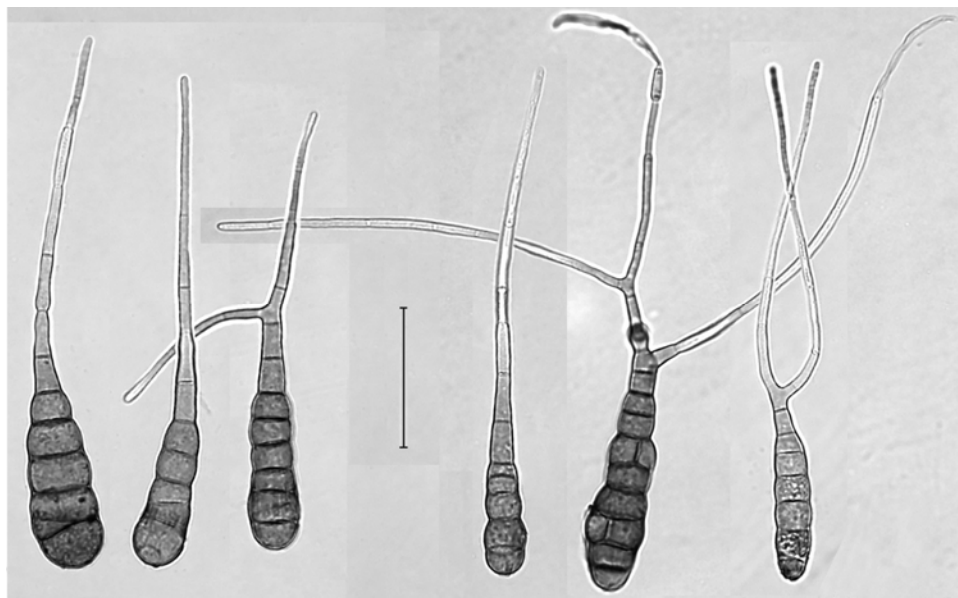


Рис. 4. Конидии *Alternaria solani* (слева) и *A. tomatophila* (справа) на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

A. tomatophila E.G. Simmons

Конидии одиночные, очень редко в цепочках по две, от светло-соломенных до желтовато-коричневых, изредка с орнаментированной клеточной стенкой. Корпус зрелых конидий узко-эллипсоидальный, до $80-117 \times 16-23$ мкм с 7-12 поперечными перегородками и 1(2) продольными в 1-5 поперечных сегментах. Апикальный вырост простой, состоящий из 1-3(4) ветвей, 64-217 мкм длиной. Одиночные выросты более длинные, чем выросты, формирующиеся по 2 или более. Тройные выросты не превышают 170 мкм в длину (рис. 4).

Достоверно обнаружен на томатах в США, Австралии, Новой Зеландии, Венесуэле, Бразилии (Simmons, 2007; Rodrigues et al., 2010) и Южной Корее (Yu, 2001). Вероятно космополит. В России на томатах открытого грунта *A. tomatophila* часто встречается в Хабаровском крае, республиках Адыгея и Дагестан. Единичные находки

сделаны в Камчатском крае, Московской, Саратовской, Псковской и Ленинградской областях (Орина, Ганнибал, неопубл.). Кроме того, присутствие крупноспорового вида *Alternaria*, вероятно *A. tomatoiphila*, на томатах отмечено в Астраханской обл. и республике Марий-Эл (Еланской и др., 2010). В защищённом грунте на томатах *A. tomatoiphila* обнаружен нами в Камчатском крае, Иркутская области, в Белоруссии (Минская обл.) и на Украине (Харьковская обл.). В связи с недавними таксономическими нововведениями и нередкими ошибками идентификации, очертить ареал *A. tomatoiphila* более точно пока что не представляется возможным.

По биологии *A. tomatoiphila*, скорее всего, близок к *A. solani*. Сумчатая стадия не выявлена. Полноценные популяционно-генетические исследования не проводились. Плотность популяции обычно невысокая, количество генераций за сезон небольшое, а споровая продуктивность умеренная, что указывает на умеренный эволюционный потенциал этого вида.

На листьях томатов *A. tomatoiphila* вызывает альтернариоз (макроспориоз, раннюю сухую пятнистость). Пятна крупные бурые или сероватые округлые с хорошо заметными концентрическими кругами. Потери урожая плодов от заболевания могут достигать 78% (Rotem, 1994).

1.3. Неспециализированные факультативные паразиты

Ряд мелкоспоровых видов *Alternaria* (комплекс видов '*A. alternata*'), ранее обозначаемые как *A. alternata* (син. *A. tenuis*), обнаруживаются повсеместно на различных субстратах растительного происхождения. Чаще всего эти грибы существуют в природе как сапротрофы, однако известно немало случаев, когда они вызывают серьёзные заболевания культурных растений. Наиболее часто встречающимся мелкоспоровым видом в России и других странах мира является *A. tenuissima*. Он широко распространён на различных растительных субстратах, в том числе на паслёновых (Ганнибал, 2007) и крестоцветных (Ганнибал, Гасич, 2009). Несколько реже на паслёновых встречается *A. arborescens* и совсем редко *A. alternata* (в современном узком понимании) (Орина и др., 2010). Все три вида – космополиты.

Конидии *A. tenuissima* и *A. alternata*, двух наиболее близкородственных видов, чаще всего в длинных простых или ветвящихся цепочках, мелкие обратнобулавовидные, яйцевидные или узко-эллипсоидальные, серо-коричневые или оливково-коричневые, в культуре 10-45(70) × 5-13 мкм. Поперечных перегородок 3-7(11), продольные и косые – по 1-2 в 1 или нескольких поперечных сегментах (всего 0-4). Первичные конидиеносцы короткие, простые, редко ветвистые. Вторичные конидиеносцы короткие апикальные (обычно не более 5-10 мкм длиной, изредка до 35 мкм) или латеральные; Отличаются друг от друга разные виды в первую очередь габитусом споруляции: длиной и типом ветвления цепочек конидий и в меньшей степени размером и формой конидий. Морфология *A. tenuissima* и *A. alternata* представлена на рис. 5.

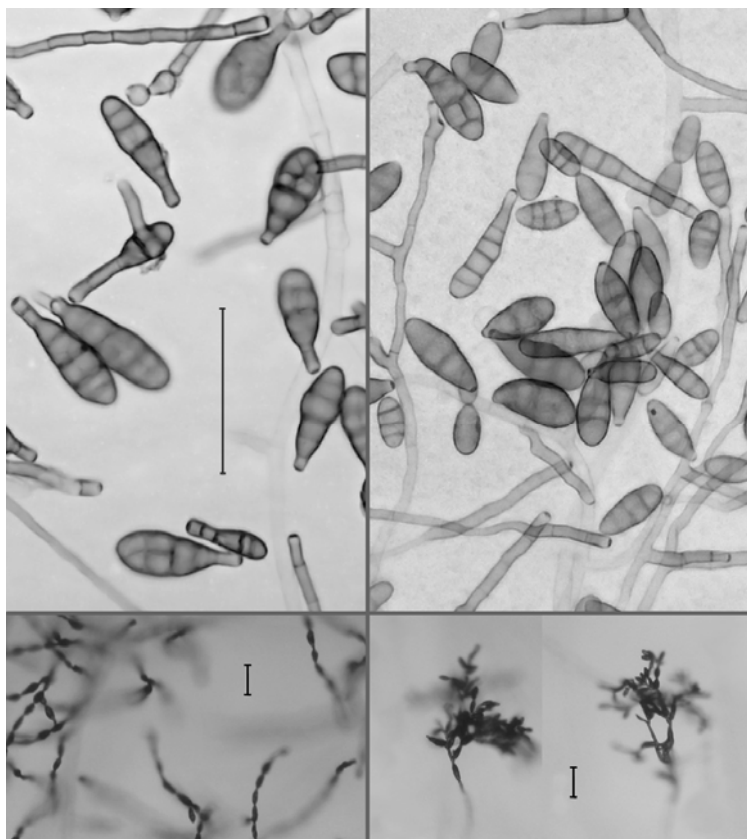


Рис. 5. *Alternaria tenuissima* (слева) и *A. alternata* (справа): конидии и конидиеносцы (сверху) и габитус споруляции (снизу) на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Конидии *A. arborescens* чаще всего в недлинных ветвящихся цепочках, мелкие обратнобулавовидные, яйцевидные или узко-эллипсоидальные, серо-коричневые или оливково-коричневые, в культуре 10-50(60) × 7-11 мкм. Поперечных перегородок 1-4, продольных – 0-2. Первичные конидиеносцы разной длины, часть из них длинные (до мкм), ветвистые. Вторичные конидиеносцы короткие апикальные (обычно не более 5-10 мкм длиной, изредка до 35 мкм), очень редко латеральные. Морфология *A. arborescens* представлена на рис. 6.

Сумчатая стадия ни у одного из этих видов не выявлена. Популяции мелкоспоровых видов имеют клональную структуру, присутствие регулярных рекомбинационных процессов не доказано; генное и генотипическое разнообразие умеренное. Плотность популяции обычно высокая, с большим количеством генераций за сезон и обильным спороношением, что делает вероятность появления

мутаций относительно высокой. Сапротрофный образ жизни способствует поддержанию генетического разнообразия в популяциях мелкоспоровых видов, однако, регулярная смена условий обитания может препятствовать закреплению новых признаков, связанных с усилением паразитизма и специализации.

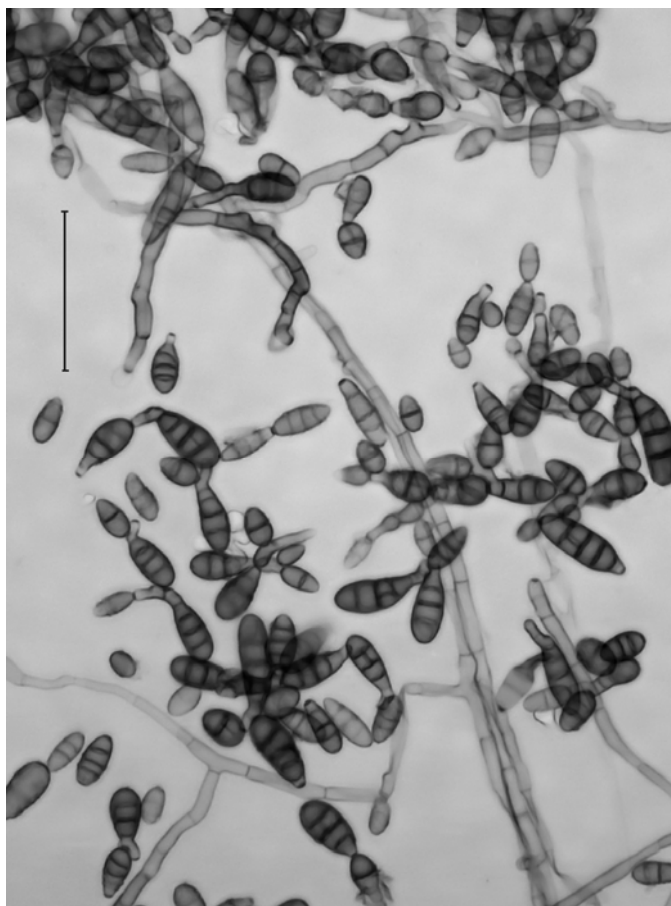


Рис. 6. Конидии и конидиеносцы *Alternaria arborescens* на картофельно-морковном агаре. Масштабная линия соответствует 50 мкм.

Обычно мелкоспоровые виды относят к сапротрофам. Они часто бессимптомно присутствуют в семенах растений, в т.ч. крестоцветных масличных культур, или поражают плоды с механическими повреждениями и солнечными ожогами. Будучи способными к синтезу микотоксинов, мелкоспоровые виды *Alternaria* делают сельскохозяйственную продукцию опасной для человека и животных. Нередко они заражают ослабленные и поврежденные ткани, чаще всего в

конце вегетационного периода и нередко вызывают вторичные инфекции на фоне других заболеваний. Такая ситуация характерна, например, для картофеля (Иванюк и др., 2003). Иногда эти виды вызывают эпифитотии пятнистостей на молодых листьях различных растений, причём факторы, способствующие возникновению массовых заболеваний не всегда понятны.

Некоторые формы *Alternaria* способны синтезировать специфические к хозяину фитотоксины (ХСТ), что объясняет их патогенность и высокую агрессивность. К таким патогенам, относиться, например, «томатный патотип *A. alternata*» образующий AAL-токсин и вызывающий стеблевой рак томатов (Akamatsu et al., 1997). В некоторых публикациях томатный патотип *A. alternata* упоминается как *A. alternata* f. sp. *lycopersici* (Grogan et al., 1975; Brandwagt et al., 2001, 2002). После внимательного анализа морфологии эта форма была выделена в самостоятельный вид – *A. arborescens* (Simmons 1999, 2007). Однако морфологический вид *A. arborescens* распространен на различных растениях, принадлежащих разным семействам на разных континентах (Andersen et al, 2002; Pryor, Michailides, 2002; Kosiak et al., 2004) и чаще всего не образует ХСТ и не патогенен для томата. Напротив, установлено, что не все патогенные для томата мелкоспоровые изоляты имеют морфологию, типичную для *A. arborescens* (Pryor, личное сообщение). Таким образом, таксономическое положение и простые способы идентификации вида – продуцента AAL-токсина остаются неясными.

2. Устойчивость растений к альтернариозам

2.1. Крестоцветные культуры

Устойчивость к возбудителям альтернариоза у крестоцветных многокомпонентная и многоуровневая. Устойчивость к *A. brassicae* определяется в основном следующими факторами: развитым слоем эпикутикулярного воска, нечувствительностью к хозяйинно-специфическому токсину деструксину В, продукцией фитоалексинов и реакцией сверхчувствительности (Tewari, Skoropad, 1976; Skoropad, Tewari, 1977; Conn et al., 1984; Tewari, 1991).

Установлено, что устойчивость *Brassica oleracea* var. *alboglabra* и *B. napus* и восприимчивость *B. juncea* и *B. campestris* к альтернариозу связана с наличием толстого слоя эпикутикулярного воска у первых двух видов и отсутствием подобного барьера у последних (Tewari, Skoropad, 1976; Munde, Bhowmik, 1985; Conn, Tewari, 1989).

У растений рапса и, вероятно, других крестоцветных, выращенных в теплице, слой воскового налета меньше, чем у полевых растений. Поэтому следует учитывать, что уровень устойчивости, выявленный в лаборатории, в поле может оказаться выше (Skoropad, Tewari, 1977).

Более устойчивые генотипы *Brassica alba*, *B. campestris* ssp. *rapifera*, *B. carinata* и *B. juncea* характеризуются более высоким содержанием хлорофилла и низкой частотой открытых устьиц, также у ряда устойчивых генотипов отмечалось повышенное содержание оксibenзойных кислот (галловой, ванилиновой и других) и более мощное развитие эпикутикулярного слоя воска (Kolte, Awasthi, 1999).

Alternaria brassicae продуцирует фитотоксин деструксин В, который является циклодепептидом $C_{30}H_{51}N_5O_7$ с молекулярным весом 593 (Ayer, Peña-Rodriguez, 1987; Ayer et al., 1987; Bains, Tewari, 1987). Токсин синтезируется уже при прорастании спор *A. brassicae* и затем на более поздних стадиях патогенеза. Обработка листьев токсином вызывает симптомы идентичные с симптомами, вызываемыми заражением *A. brassicae*. Возможность использования деструксина В для более быстрой оценки устойчивости растений была с успехом опробована на сортах *B. campestris* (Tewari, 1991).

Влияние деструксина В на прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок было изучено in vitro на некоторых сортах *Brassica campestris*, *B. juncea*, *B. napus*, *B. nigra* и *Sinapis alba* (Shivanna, Sawhney, 1993). Пыльцевые зерна *B. nigra*, *B. juncea* и *B. campestris* были наиболее чувствительными, а пыльца *S. alba* проявила наименьшую чувствительность к токсину. Установлено, что степень чувствительности листьев изученных растений к токсину коррелировала с чувствительностью их пыльцы.

Также показано, что экстракты из культуральной жидкости *A. brassicicola* могут ингибировать прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок видов *Brassica*, полученный эффект может быть использован в скрининге на устойчивость (McDonald, Ingram, 1985; Hodgkin, McDonald, 1986; Hodgkin, 1990).

Проведено сравнение восприимчивости разных видов семейства *Brassicaceae* к альтернариозам и выявление устойчивых сородичей культурных растений. Бенсел с соавторами (Bansal et al., 1990) оценили устойчивость сортов 16 видов и форм, относящихся к роду *Brassica* (*B. nigra*, *B. juncea* ssp. *rugosa*, *B. juncea* ssp. *oleifera*, *B. campestris* ssp. *pekinensis*, *B. campestris* ssp. *trilocularis*, *B. campestris* ssp. *oleifera*, *B. campestris* ssp. *rapifera*, *B. napus* ssp. *oleifera*, *B. napus* ssp. *rapifera*, *B. oleracea* ssp. *sabauda*, *B. oleracea* ssp. *capitata*, *B. oleracea* ssp. *italica*, *B. oleracea* ssp. *gemmifera*, *B. oleracea* ssp. *botrytis*, *B. oleracea* ssp. *gongylodes*, *B. carinata*) методом инокуляции отделенных листьев споровой суспензией *A. brassicae*. Все образцы оказались восприимчивы к заражению патогеном. Самые крупные пятна развивались на *Brassica nigra* (средний диаметр пятен на 4 сутки составлял 10,5 мм), а самые мелкие – на *B. carinata* (6,3 мм) причём отличия между разными сортами одного вида были минимальными и в том и в другом случае. Выявлены различия по восприимчивости между сортами *B. juncea*, *B. campestris*, *B. napus* и *B. oleracea*.

Г. Шарма с соавторами (Sharma et al., 2002) оценили 38 видов 9 родов семейства *Brassicaceae* на устойчивость к *A. brassicae* методом инокуляции целых растений и отделенных листьев. Учитывались такие показатели как инкубационный период, число пятен на лист, размер пятен и площадь листа, покрытая пятнами. Виды, которые не развивали симптомов в течение всего периода наблюдений, в случае обработки целых растений, и в течение 72 часов после инокуляции на отделённых листьях, рассматривались как устойчивые, те же, на которых развивались симптомы, были отнесены к средне устойчивым, чувствительным или высоко чувствительным. Большинство видов были классифицированы как средне устойчивые (12 видов), восприимчивые (11) и высоко восприимчивые (9). Восемь видов (*Brassica desnottesii*, *Camelina sativa*, *Coincya pseudoerucastrum*, *Diplotaxis berthautii*, *D. catholica*, *D. cretacea*, *D. erucoides* и *Erucastrum gallicum*) продемонстрировали полную устойчивость и были предложены как доноры для интрогрессии генов устойчивости к альтернариозу в индийскую горчицу (Sharma et al., 2002).

В ходе другого исследования было подтверждено, что для селекции на устойчивость к альтернариозу у рапса целесообразно проводить межвидовую и межродовую гибридизацию (Siemens, 2002). Были выделены дикие сородичи *Brassica napus*, устойчивые к *A. brassicicola*, *A. brassicae* и *A. japonica*: *Brassica elongata*, *B. souliei*, *B. fruticulosa*, *Sinapis alba*, *S. arvensis*, *Diplotaxis erucoides*, *D. tenuifolia*, *Capsella bursa-pastoris*, *Camelina sativa*, *Hemicrambe fruticulosa*, *Hesperis matronalis*, *Neslia paniculata* (Plümper, 1995; Klewer et al., 2002; Klewer, Sacristan, 2003). Наиболее перспективным источником устойчивости для рапса при межвидовых скрещиваниях является, вероятно, *S. alba* (Plümper, 1995; Никоноренков, 2002).

Оценка ряда масличных, овощных и дикорастущих крестоцветных на устойчивость к *A. brassicae* показала, что высокая степень устойчивости присутствует у *Camelina sativa*, *Capsella bursa-pastoris*, *Eruca sativa* (Tewari, 1991). У *B. campestris* ssp. *rapifera* отмечена средняя устойчивость.

Высоко устойчивые образцы были найдены у *B. napus* и *B. alba*, умеренно устойчивые – у *B. juncea* и *B. nigra* (Hussain, Thakur, 1963). Есть сообщения об обнаружении устойчивости у *B. napus*, *B. alba*, *B. juncea* и *B. campestris* ssp. *oleifera* var. *toria* (Rai et al., 1976; Ansari et al., 1989).

Оценка большого числа индийских и европейских сортов рапса показала, что все сорта почти в равной степени восприимчивы к *A. brassicae*, в том числе все коммерческие сорта (Hardwick et al., 1991). Однако, сорта, относящиеся к виду *Brassica napus* ssp. *oleifera* несколько менее восприимчивы, чем сорта *B. campestris* ssp. *oleifera*. Краткий обзор результатов оценки сортов рапса на устойчивость к альтернариозу дан В.А. Никоноренковым (2002).

Из 11 генотипов масличных видов *Brassica* было выделено 6 менее поражаемых *Alternaria brassicae*: *Brassica alba*, *B. campestris* ssp. *rapifera*, *B. carinata*, *B. juncea* (сорта Orna rai и PHR-1), *B. napus* (сорт Target) (Kolte, Awasthi, 1999). Устойчивым к чёрному альтернариозу сортом капусты считается Номер первый Грибовский 147 (Самохвалов и др., 2005).

При искусственном заражении большого количества сортов разных видов крестоцветных культур в вегетационных условиях разные уровни устойчивости были определены по размерам формируемых пятен и интенсивности спороношения *A. brassicae* на них (Bhowmik, Munde, 1987). Высокоустойчивые сорта (*B. carinata*, *B. napus*) характеризовались появлением очень мелких, точечных (< 0.5 мм), темно-бурых, почти черных некротических пятен, слабо спорулирующих (менее 20 тыс. спор/мл), с ореолом специфических оттенков коричневого цвета.

На устойчивых сортах (*B. tournefortii*, *B. nigra*, *B. fruticulosa*) формируются мелкие, округлые некротические пятна (0.5-1.0 мм) с пепельно-серым центром и бледным желто-коричневым ореолом (у *B. tournefortii* ореол темно-фиолетового цвета), слабоспорулирующие (20-50 тыс. спор/мл). На восприимчивых сортах (*B. napus*, *B. juncea*) развиваются небольшие (1.0-1,5 мм), некротические пятна с пепельно-серым центром и концентрической зональностью, ореол светлый хлоротичный, споруляция интенсивная (50-150 тыс. спор/мл). Высоко восприимчивые сорта (*B. deflexa*, *B. spinescens*, *B. repanda*, *B. graminea*, *B. campestris* ssp. *narinosa*, *B. campestris* ssp. *oleifera* var. *brown sarcon*, *B. campestris* ssp. *oleifera* var. *yellow sarcon*, *B. campestris* ssp. *oleifera* var. *toria*) характеризуются крупными (> 1,5 мм) некротическими, быстро распространяющимися пятнами с пепельно-серым центром и концентрической зональностью, ореол хлоротичный, споруляция > 150 тыс. спор/мл.

Наиболее интересными с точки зрения селекции факторами устойчивости являются патогениндуцируемые белки (pathogenesis-related proteins, PR-белки): ингибиторы рибосомальных белков, β -1,3-глюконазы, хитиназы, дефензины и другие противомикробные полипептиды с различными функциями (Тарчевский, 2002). Гены, кодирующие патогениндуцируемые белки, в последние годы всё шире используются для создания устойчивых к болезням и другим биогенным стрессорам трансгенных растений. Наибольшее внимание уделяется белковым элиситорам,

интермедиатам сигнальных систем, белкам, обеспечивающим устойчивость самого растения-хозяина или нарушающим функции патогенных микроорганизмов.

Известен пример успешного получения трансгенных растений *B. juncea* с экспрессирующимся геном глюконазы томата (Mondal et al., 2007). При инокуляции трансгенных растений *in vitro* рост гиф *A. brassicae* подавлялся на 15-54%. В условиях парника степень поражения горчицы альтернариозом также существенно снижалась.

Трансгенные сорта горчицы сарептской (*Brassica juncea*) с введённым геном хитиназы подавляли рост колоний гриба в чистой культуре на 12–56%. В вегетационных условиях на искусственном инфекционном фоне уменьшалось количество пятен и их размер, увеличивался латентный период (Mondal et al., 2003).

2.2. Паслёновые культуры

Среди культивируемых сортов картофеля и томатов полностью устойчивые к альтернариозу сорта не выявлены (Дорожкин, Иванюк, 1978; Иванюк, 2003; Rotem, 1994; Vloutoglou et al, 2000; Demir, Levent, 2002; Rodriguez et al, 2006).

Устойчивость картофеля и томатов к альтернариозу связана с целым рядом особенностей растения и, во-первых, со сроком созревания урожая: ранние и среднеранние сорта более восприимчивы, чем поздние (Rotem, 1994; Demir, Levent, 2002). Считается, что для устойчивых сортов характерно высокое осмотическое давление и высокое содержание сухих веществ. Восприимчивые сорта обладают большей проницаемостью мембраны, поэтому на поверхности растения находится больше органических веществ, что создает благоприятные условия для первичного развития патогена (Иванюк, 2003).

С устойчивостью коррелируют биохимические показатели – активность ферментов и продуцирование фитоалексинов. В фазу бутонизации-цветения, когда растение наиболее восприимчиво, наблюдается наиболее низкая активность пероксидазы и о-дифенолоксидазы. Уровень фитоалексинов ришитина и любимицина в тканях также влияет на устойчивость растения, что сделало возможным проводить оценку устойчивости селекционного материала, основываясь на этих показателях (Иванюк, 2003).

У устойчивых к альтернариозу линий томата выявлено высокое конститутивное содержание PR-белков и способность их быстро накапливать, включая такие противогрибные ферменты, как хитиназа и β -1,3-глюконаза (Lawtence et al., 1996; 2000).

Устойчивость пасленовых культур к альтернариозу полигенна (Maierco et al., 1989; Rao et al., 2008) и контролируется, как было установлено ранее (Nash, Gardner, 1988) как минимум тремя основными генами. Характерен аддитивный и доминантный контроль устойчивости с присутствием эффекта эпистатического взаимодействия генов (Сайчук, 1989; Maierco et al., 1989; Nash, Gardner, 1988; Thirthamallappa, Lohithaswa, 2000).

Исследования генетики устойчивости пасленовых в последнее время проводятся с помощью QTL-анализа (анализа локусов количественных признаков). Разными авторами были идентифицированы 14, 7 и 6 QTL-фрагментов, ответственных за устойчивость томатов к альтернариозу, которые располагались практически на всех хромосомах (Foolad et al., 2002; Zhang et al., 2003; Chaerani, Voorrips, 2006). Однако большая часть из них влияет на устойчивость в слабой степени, а положение QTL определено недостаточно точно (Chaerani, Voorrips, 2006). Генетика устойчивости картофеля к альтернариозу почти не изучена.

Одним из первых связанных с устойчивостью томата к альтернариозу участков был открыт Asc-локус на хромосоме 3 (Witsenboer et al., 1989), который отвечает за уменьшение чувствительности к действию AAL-токсина (Biezen et al., 1994, 1996), продуцируемому отдельными клонами мелкоспоровых видов *Alternaria*. На чувствительность к AAL-токсину было протестировано 200 видов растений семейства паслёновых (Mesbah et al., 2000). Двадцать пять видов, 14 из которых принадлежит роду *Solanum*, оказались восприимчивы к действию токсина в концентрации 0,2 мкМ, которая обычно используется для тестирования сортов томата. Причём 3 вида (*S. lyratum*, *S. septemlobum* и *S. scabrum*) были столь же чувствительны как наиболее чувствительные линии томата.

Основные приёмы селекции пасленовых на устойчивость к альтернариозу – межлинейные и насыщающие скрещивания и отбор устойчивых форм после заражения (Аврова и др., 1993; Сайчук, 1989; Рог-Кустов, 2003), причем для оценки устойчивости возможно использование меристемных пробирочных растений или каллусных тканей (Дмитриева, 1988).

Селекция устойчивых сортов картофеля и томата в мире ведется долгие годы, и за это время было найдено большое количество доноров устойчивости пасленовых к альтернариозу (Caligari, Nachmias, 1988; Lynch et al., 1991; Foolad et al., 2000). По результатам работ последних лет были рекомендованы следующие отечественные доноры устойчивости картофеля – сорта Азия, Биния, Весна, Дезире, Ева, Кайюга, Лада, Маевка, Невский, Памир, Пересвет, Филатовский, Эрлайн и др.; гибриды 123К-150А, 575047, 88.16/20 (Дмитриева, 1988; Анненков, 1999; Иванюк, 2003; Рог-Кустов, 2003). Среди коллекционных сортов и образцов картофеля ВНИИ растениеводства им. Н.И.Вавилова (ВИР) высокопродуктивными и устойчивыми к фитофторозу и альтернариозу являются Солист, Arkadia, Barycz, Baszta, Bzura, Drog, Jantar, KT-12, r-22900 и Triada (Горковенко, 2011). Исходным материалом для селекции устойчивых томатов могут стать линии 677/90, 180/93, 412/93, 419/93, 486/93 (Сайчук, 1989).

В качестве селекционного материала наиболее перспективно использование диких видов пасленовых культур. Так, например, в селекцию были вовлечены диплоиды диких видов *Solanum phureja* и *S. stenotomum* (Boiteux et al., 1995; Christ, Haynes, 2001), *Lycopersicon hirsutum* (Maierco et al., 1989), *L. pimpinelliform* (Martin, Hepperly, 1987) и *L. esculentum* var. *cerasiforme* (Fageria, 1994). Обнаружена высокая

устойчивость каллусных клеток дикого вида картофеля *S. acaule* к высоким концентрациям токсина в питательной среде (Анненков, 2002). Небольшой обзор литературы и собственные результаты оценки разных видов и сортов картофеля даны Б.Г. Анненковым (1990).

Оценка 265 сортов томата показала, что восприимчивыми к стеблевому раку (томатный патотип *A. alternata*) является около 25% (Grogan et al., 1975). Устойчивость к этому заболеванию, по мнению авторов, наследуется как простой доминантный признак. Позже было установлено, что основным фактором патогенности гриба является хозяин-специфический токсин – AAL-токсин (Akamatsu et al., 1997), являющийся аналогом сфинганина (Gilchrist et al., 1995). Устойчивость томата к группе сфинганин-подобных токсинов связана с мутацией в гене Asc-1 (Brandwagt et al., 2001, 2002).

Основной проблемой селекции, как правило, является низкое хозяйственное качество получаемых устойчивых гибридов – позднеспелость и низкая урожайность (Foolad et al., 2000; Maierco et al., 1990). Альтернативой традиционной селекционной работе является получение устойчивых растений с помощью методов генной инженерии (de Benito et al., 1995; Lusso, Kuc, 1996; Bliffeld et al., 1999; Kim et al., 2003; Nishizawa et al., 2003).

3. Оценка устойчивости растений к альтернариозам на естественном инфекционном фоне

Определение устойчивости крестоцветных и пасленовых культур к альтернариозам с использованием естественного инфекционного фона заключается в планомерном учете распространения заболевания и степени поражения растений в полевых условиях на коллекционных посевах (Шнейдер и др., 1980). Это трудоемкий метод, требующий многолетних наблюдений. Кроме того, интенсивность развития болезни сильно зависит от неконтролируемых погодных условий и неравномерного распределения инфекционной нагрузки (Дорожкин, Иванюк, 1978; Иванюк, 2003; Bussey, Stevenson, 1991). Однако многолетний полевой анализ позволяет получить достоверные данные о присутствии эффективных факторов устойчивости у растения-хозяина и о характере взаимоотношений конкретного генотипа растения с местной популяцией патогена в определённых агроклиматических условиях.

На уровень устойчивости растений к таким факультативным сапротрофам и факультативным паразитам, какими являются многие виды *Alternaria*, в заметной степени влияют внешние условия, в том числе, например, соотношение азота и фосфора в почве (Barclay et al., 1973). Это следует принимать в расчёт при проведении учётов в поле, равно как и при постановке лабораторных экспериментов.

3.1. Сроки и способы учёта

Для выявления и учёта альтернариозов сельскохозяйственных культур проводят обследования посевов несколько раз за сезон. Виды *Alternaria* являются некротрофами и сильнее поражают старые ткани растений, поэтому альтернариозы чаще всего появляются во второй половине периода вегетации. Тем не менее, обследования рекомендуется проводить каждые 10 дней, начиная после появления второй пары настоящих листьев и заканчивая с началом отмирания ботвы или незадолго до уборки урожая. Во-первых, это позволит определить время начала проявления заболевания, которое у сортов разных сроков созревания может отличаться. Во-вторых, это даст возможность провести учёт в период, когда заболевание в поле уже распространилось, но ткани растения ещё физиологически не старые и способные к проявлению защитных реакций, в результате чего наиболее явно заметны различия между генотипами по признаку устойчивости.

Наблюдения проводят визуально по симптомам. Однако из-за сходства симптомов альтернариозов, вызываемых разными видами *Alternaria*, а также симптомами других заболеваний, велик риск неверной идентификации возбудителя болезни в случае диагностики в поле по симптомам. По этой причине учёт распространения альтернариозов в поле необходимо сопровождать лабораторной идентификацией вида патогенного микроорганизма.

Учитывают степень поражения, распространенность заболевания и степень развития альтернариозов. Для получения более точной информации по устойчивости растений к листовым пятнистостям, вызываемым *Alternaria* spp. оценку

степени поражения проводят отдельно для молодых листьев, листьев среднего яруса и нижних физиологически старых листьев.

3.2. Шкалы учёта

Для учёта альтернариозов применим целый ряд различных шкал, как универсальных, так и разработанных специально для одной болезни. Со многими общеупотребимыми шкалами можно ознакомиться в следующих изданиях: Степанов, Чумаков, 1972; Эльчибаев, 1981; Интегрированные ..., 2005). Учет степени поражения растений от альтернариоза ведут либо в процентах, оценивая площадь пораженной поверхности, либо в баллах, отражающих диапазоны площадей поражения. В полевых условиях удобнее использовать балльные шкалы, т.к. они, как правило, составлены с учетом погрешностей, допускаемых при глазомерной оценке.

Одной из первых шкал учета степени развития заболевания, которой исследователи пользуются до сих пор и на основе которой разрабатывалось большинство других шкал является шкала Хорсфалла-Баррета (Horsfall, Barratt, 1945). 1 балл – нет поражения; 2 – поражено 0-3% листовой поверхности растения; 3 – 3-6%; 4 – 6-12%; 5 – 12-25%; 6 – 25-50%; 7 – 50-75%; 8 – 75-87%; 9 – 87-94%; 10 – 94-97%; 11 – 97-100%; 12 – 100%.

Для фитосанитарного мониторинга альтернариозов целесообразно использовать стандартную балльную шкалу учёта: 0 – отсутствие поражения; 1 – поражено до 10% поверхности; 2 – от 11 до 25%; 3 – от 25 до 50%; 4 – свыше 50% (Билай, Элланская, 1982). Данная шкала является универсальной для листовых пятнистостей и подходит для работы с альтернариозами листьев. Однако для оценки устойчивости растений к болезням целесообразно использовать более дробные шкалы.

Оценка встречаемости и интенсивности развития альтернариоза на стручках рапса и других крестоцветных культур может проводиться с использованием разнообразных шкал (Babadoost, Gabrielson, 1979; Evans, Gladders, 1981; Humpherson-Jones, 1983; Daebeler, Amelung, 1988; Агейчик и др., 2005), которые являются незначительными вариациями упомянутой выше универсальной шкалы.

Для учёта альтернариозов листьев, стеблей и стручков рапса и горчицы можно использовать и альтернативные шкалы и способы учёта. Степень поражения каждого стручка оценивается по следующей процентной шкале: 0, 1, 5, 10, 20, 30 и 50% пораженной поверхности (Conn et al., 1990; Brazauskienė, Petraitienė, 2006).

Изучение комплекса эпидемиологических компонентов устойчивости рапса к *A. brassicae* показало наличие положительной корреляции между числом пятен на стеблях и размером пятен на листьях, степенью дефолиации, числом и размером пятен на стручках и степенью поражения растений в целом (Kolte, Awasthi, 1999). Поэтому авторы считают, что число пятен на 15-сантиметровом отрезке стебля за 15 дней до созревания является простым и надёжным показателем устойчивости рапса в полевых условиях.

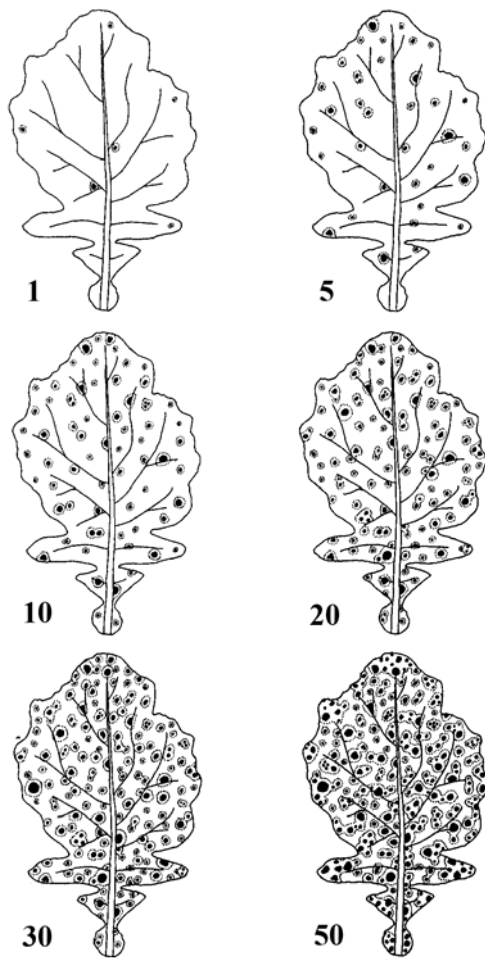


Рис. 7. Листья, поверхность которых покрыта пятнами чёрной пятнистости рапса на 1, 5, 10, 20, 30 и 50%. Пунктирные линии обозначают зоны хлорозов вокруг некротических пятен и также учтены при расчёте поражённой поверхности (Conn et al., 1990).

Для оценки устойчивости сортов картофеля и томатов к альтернариозу используется специальная 6-балльная шкала (Дмитриева, 1988; Schaefer et al., 2005): 1 балл – степень поражения 0-4%; 2 – 5-15%; 3 – 16-25%; 4 – 26-50%; 5 – 51-95%; 6 – 96-100%. Также для этих целей применялась шкала подобная универсальной (см. выше), отличающаяся баллами, присваиваемыми высоким значениями заражённости: 4 –

51-75%; 5 – 75-100% (Vakalounakis, 1983). Для повышения точности визуальной оценки альтернариоза картофеля разработаны стандартные иллюстрации, изображающие 0, 2,5, 12, 25 и 50% поражённой поверхности (Reifschneider et al., 1984) (рис. 8).

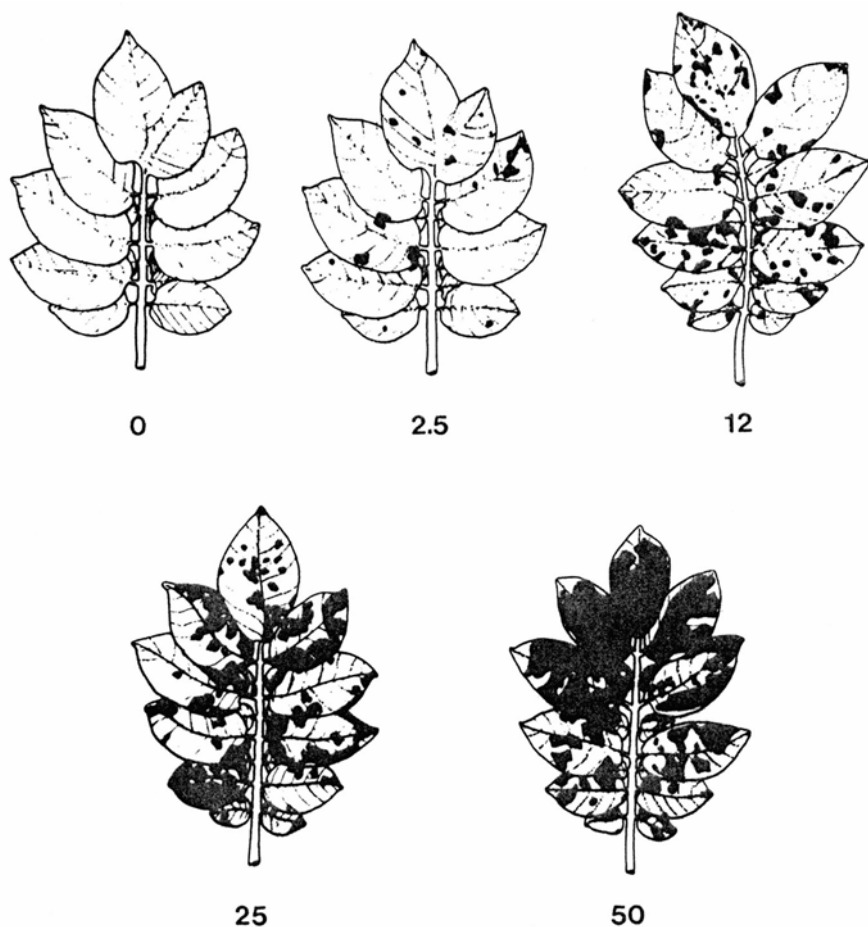


Рис. 8. Листья, поверхность которых покрыта пятнами ранней пятнистости картофеля на 0, 2,5, 12, 25 и 50% (Reifschneider et al., 1984).

4. Оценка устойчивости растений к альтернариозам с использованием искусственного инфекционного фона

Искусственная инокуляция растений в полевых условиях – наиболее трудоёмкий вариант изучения устойчивости растений, однако при правильной постановке эксперимента он приводит к получению наиболее достоверных результатов. При искусственном заражении инокулом равномерно распределяется по опытным делянкам и состоит из популяции фитопатогена, изученной в той или иной степени хорошо.

Оценка устойчивости растений в лабораторных условиях на искусственном инфекционном фоне основывается на предположении о наличии сильной связи между лабораторной и полевой устойчивостью. При изучении альтернариозов крестоцветных и паслёновых культур такая корреляция была показана (Иванюк, 1986; Bussey, Stevenson, 1991).

Существует большой ряд методов и вариаций оценки устойчивости растений в лабораторных условиях. Методы сильно отличаются по скорости получения результатов, по трудоёмкости и по точности. Заражение целых взрослых растений может дать более надёжные результаты, но требует большего времени на эксперимент, больших площадей и трудозатрат, чем экспресс-методы, основанные на инокуляции всходов, частей растений, листьев или даже небольших отрезков листьев. Выбор метода зависит от условий, имеющихся в распоряжении экспериментатора.

Лабораторные методы, подразумевающие использование для исследования отдельных небольших частей растений, позволяют размещать их в герметичных компактных влажных камерах, т.е. создавать одинаковые строго контролируемые условия для всех вариантов опыта и изолировать варианты и/или повторности друг от друга, что в определённой степени повышает объективность результатов. Однако, невысокая жизнеспособность отрезков листьев, например, некоторых сортов картофеля не всегда позволяет проводить длительные наблюдения развития инфекции во влажных камерах. Кроме того, заражение листового диска не может полноценно воспроизводить процесс, протекающий в целом растении.

На данный момент разработано множество методов, позволяющих проводить инокуляцию растений для оценки на устойчивость к альтернариозу. Поскольку *A. solani* – преимущественно листовой патоген, то оценку иммунитета сортов картофеля и томатов проводят на отрезках листьев, целых листьях или целых растениях. Существуют более оригинальные методы, предполагающие обработку культуры клеток культуральными фильтрами гриба. Для оценки устойчивости крестоцветных культур был использован более широкий арсенал методов. Разнообразие связано с возможностью и целесообразностью проводить заражение грибами рода *Alternaria* разных органов растений семейства крестоцветные на разных фенофазах.

Общим правилом является использование листьев среднего яруса, т.к. виды *Alternaria* чаще всего приурочены к более старым тканям и заражают их намного легче, чем молодые листья. Использование в экспериментах молодых или старых листьев, а также листьев с больных ослабленных растений может привести к получению недостоверных результатов и слабой дифференциации устойчивых и восприимчивых образцов.

Показателями устойчивости являются инкубационный период, число некротических пятен, скорость их увеличения, а также интенсивность формирования спор гриба на поверхности листьев (Pelletier, Fry, 1989, 1990; Christ, 1991; Christ, Haynes, 2001; Rodriguez et al., 2006).

4.1. Получение инокулюма

Изоляты (штаммы) одного и того же вида фитопатогенного микромицета могут значительно отличаться по агрессивности. В том числе это характерно и для видов *Alternaria* – патогенов крестоцветных и паслёновых культур (Иванюк и др., 2003; Nachmias et al., 1990; Castro et al., 2000; Kapsa, 2003; Martinez et al., 2004). Кроме того, штаммы при длительном хранении в условиях чистой культуры, особенно при многократных пересевах часто теряют агрессивность. Поэтому большое значение имеет выбор штамма гриба для проведения заражений. Штаммы, утратившие агрессивность во время хранения в пробирке могут её восстановить после заражения растения-хозяина и реизоляции патогена.

Наследование признака устойчивости растений к альтернариозам, равно как и признака агрессивности видов и штаммов *Alternaria*, – полигенное. Чёткого проявления взаимодействия по типу «ген-на-ген» в системе *Alternaria*-растение не обнаружено. Соответственно не существует идентифицированных рас видов *Alternaria*, отличающихся по генам вирулентности, и наборы сорто-дифференциаторов для разных рас и популяций данных патогенов не создавались. По этим причинам при выборе штамма, на основе которого будет создаваться инокулюм, нет сильной необходимости учитывать расовую и популяционную принадлежность штамма или его генетические особенности. Однако для получения достоверных результатов целесообразно проводить оценку устойчивости сортов не к одному штамму, а к 2-3 не относящимся к единому клону (географической популяции).

В лаборатории микологии и фитопатологии ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии создана коллекция агрессивных штаммов видов *Alternaria* патогенных для рапса, редиса, капусты, картофеля и томатов.

Многие виды *Alternaria* характеризуются низкой споровой продуктивностью при культивировании на искусственных питательных средах. Нередко активно спороносящие штаммы теряют эту способность после нескольких пассажей. Поэтому получение инокулюма некоторых видов для осуществления заражения растений представляет собой непростую задачу. Особенности затруднения

представляет получение спор некоторых штаммов *A. brassicae* и *A. solani*. Напротив, штаммы вида *A. brassicicola* обычно образуют интенсивное спороношение при культивировании в стандартных условиях без каких-либо дополнительных процедур.

Для приготовления небольших количеств инокулюма большинства видов и штаммов *Alternaria* подходит культивирование в чашках Петри на агаризованных питательных средах типа соковых сред V-8 и V-4. При культивировании следует учитывать ряд стандартных факторов. Оптимальной для роста и спороношения большинства видов *Alternaria* является температура в пределах 20-25°C. Более высокая и более низкая температура ингибирует спороношение (Misaghi et al., 1978). Снижение температуры культивирования может приводить к снижению интенсивности спороношения и образованию более крупных конидий. На примере *A. helianthi* и *Ulocladium cucurbitae*, (филогенетически очень близкого к *Alternaria*) показано, что чем ниже температура инкубирования при выращивании конидий, тем в последствии более сильное заражение растений вызывает полученный инокулюм (Zitter, Hsu, 1992; Abbas et al., 1995). Таким образом, для получения инокулюма рекомендуется температура 18-20°C.

Освещение (8-24 ч) в сутки обычно стимулирует спороношение *Alternaria* spp. Для облучения лучше всего использовать флуоресцентные лампы (при культивировании в пластиковых чашках Петри). Некоторые штаммы образуют большое количество конидий только при облучении ближним УФ-светом (эритемные лампы ЛЭ-30, длина волны – 280-380 нм, максимум излучения – 310-320 нм). В этом случае культуры должны находиться в стеклянных чашках Петри.

Установлено, что состав питательной среды и время культивирования влияют на последующее прорастание спор *Alternaria brassicae* и *A. brassicicola* (Mukadam, Deshpande, 1977). Споры, полученные на более богатых средах (агар Чапека-Докса, глюкозо-нитратный агар) начинают прорасть раньше и имеют максимальную всхожесть. Споры, полученные на более бедных средах (водный агар) и комплексных средах (агар Чапека-Докса с карбоксиметилцеллюлозой) имеют больший латентный период и меньшую всхожесть. Прорастание спор, взятых из культуры имеющий возраст более 30 дней, значительно снижается. Для нормального роста и спороношения грибов необходимо использование питательной среды с pH 6-7.

Для получения больших количеств инокулюма некоторых видов *Alternaria* можно использовать культивирование на твердых зерновых субстратах: перловая и овсяная крупы, пшено и др. Культивирование осуществляют в стеклянных колбах. Субстрат смачивают равным количеством воды, стерилизуют, перемешивают, инокулируют и инкубируют при освещении эритемными или люминесцентными лампами.

Ниже в краткой форме рассмотрены некоторые специальные способы культивирования и методы стимуляции спороношения *A. brassicae* и *A. solani*, описанные в литературе. Для культивирования *A. tomatophila* пригодны те же методы, что и для *A. solani*.

Стимуляция спороношения *A. brassicae*:

Одним из несложных способов является выращивание гриба на картофельно-сахарозном агаре при 20°C в течение 10 суток (Billotte, 1963). Воздушный мицелий соскабливают с поверхности среды стеклянной пластинкой и открытые чашки Петри помещают в сосуд с проточной водой на 7 часов. Затем чашки держат открытыми для подсушивания культуры (наиболее благоприятна температура 20°C и влажность 35-50%). Через 72 часа образовавшиеся споры смывают водой, споровую суспензию процеживают через фильтровальную бумагу. Методика позволяет собирать 3-4 урожая спор с одной чашки через каждые 72 часа. Споры на фильтровальной бумаге высушивают в комнатных условиях в течение суток и хранят при 4°C в течение нескольких месяцев. Выход конидий составляет около 4 млн. спор на чашку.

Для индукции спороношения у неспорулирующих штаммов *A. brassicae* может использоваться метод совместной культуры гриба на культуре каллусов *Brassica juncea* (Joshi et al., 1988).

Установлено, что помещение стерильной фильтровальной бумаги на поверхность агаризованной питательной среды приводит к незначительному снижению мицелиального роста, но значительному (почти в 2 раза) увеличению споруляции (Claassen et al., 1991; Mridha, Wheeler, 1993). Подобное использование фильтровальной бумаги было признано целесообразным также для получения конидий *A. solani* (Lukens, 1960), других видов этого рода и видов, близких к *Alternaria* родов (*Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera* и *Exserohilum*) (Pratt, 2006).

Стимуляция спороношения *A. solani*:

Для провокации культуры *A. solani* на переход от вегетативного роста к формированию обильного спороношения используются следующие приёмы. Наиболее простым способом является помещение 10-12-суточной культуры, выращенной под эритемными лампами при 22°C на картофельно-глюкозном агаре, на несколько дней в холодильник (4°C) (Козловский и др., 1981). Есть рекомендации, советующие 8-9-суточную культуру, выращенную на голодном агаре, подвергнуть обработке холодной стерильной водой 4°C с последующим удалением воздушного мицелия и воды, после чего чашки Петри в течение 2 суток оставляют открытыми во влажной камере при температуре 21-24°C (Кваснюк, 1985; Барлюк и др., 1991). Родригес с соавторами (Rodriguez et al., 2006) выращивали гриб на декстрозном агаре в течение 10 дней, затем смывали воздушный мицелий 10 мл стерильной воды. Поверхность колонии снова заливали 10 мл стерильной воды и чашки инкубировали при комнатной температуре. Через 2 суток воду сливали и чашки оставляют с открытыми крышками на 2 суток. Также спороношение стимулируется подсушиванием колонии, для чего с поверхности колонии гриба стерильным скальпелем удаляют воздушный мицелий и чашку с частично открытой крышкой оставляют на столе при дневном освещении (Barksdale, 1969).

Эффективным, но мелкомасштабным является следующий метод. Культуру гриба выращивают на картофельно-декстрозном агаре в течение 7 суток в темноте при 22°C, после чего стерильным скальпелем удаляют воздушный мицелий с поверхности чашки, вырезают агаровый блок 1 см³ и помещают его на голодный агар с CaCO₃ (3 г/л) на 1-2 сут в темноте или на влажную фильтровальную бумагу (Bussey, Stevenson, 1991, Chaerani, Voorrips, 2006).

Возможно выращивание колоний на стерильных целлофановых дисках, уложенных поверх агаризованной питательной среды или стерильной воды, при 23°C. Гриб в течение 10-12 суток полностью покрывает диск и формирует интенсивное спороношение (Дорожкин, Иванюк, 1978; Иванюк, 2003).

Некоторые авторы при работе со своими штаммами сочли достаточным культивирование *A. solani* на питательной среде V-8 (содержание сока – 18%) в течение 14 дней при 23°C и 12 часовом освещении УФ-светом (Schaefer et al., 2005). Исходя из нашего опыта, последний метод является достаточно эффективным. Среда V-8 может быть заменена на V-4 (150 мл соковой смеси, включающей соки свёклы, сельдерея, моркови и томата в соотношении 4:3:2:1, 3 г карбоната кальция, 850 мл воды и 20 г агара; Михайлова и др., 2002), а продолжительность экспозиции под УФ-светом может быть увеличена до 24 ч./сут. Для штаммов *A. solani* и *A. tomatophila*, характеризующихся слабым спороношением, отсевая отдельные конидии без мицелия, через 1-2 пассажа можно добиться увеличения интенсивности спороношения. Отсев изолятов удобно осуществлять путём переноса стерильной иглой отдельных конидий в чашки Петри с V-4, наблюдая процесс переноса под бинокулярном.

Для приготовления инокулюма различных видов *Alternaria* в чашки Петри с культурами 1-2-недельного возраста, занявшими всю поверхность и имеющими обильное спороношение, добавляют 3-5 мл стерильной водопроводной воды или раствора 0.01% Tween-80 (для лучшей смачиваемости спор), споры тщательно отделяют от поверхности колонии шпателем, количество спор в суспензии подсчитывают при помощи камеры Горяева или аналогичных устройств.

Концентрацию инокулюма патогенных видов (*A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. japonica*, *A. solani* и *A. tomatophila*) обычно оставляют в пределах 1×10³–1×10⁵ конидий/мл. Для слабопатогенных мелкоспоровых видов этот показатель должен быть выше – 0,5–1×10⁶ конидий/мл. При такой концентрации конидий *A. tenuissima* достигался наиболее короткий латентный период и наибольшая интенсивность заболевания, несмотря на то, что наблюдалось небольшое ингибирование прорастания конидий (Singh et al., 2000). В более концентрированных суспензиях *A. tenuissima* значительно снижалась доля проросших спор и уменьшалась длина проростковых гиф через 6-24 ч инкубации во влажных условиях.

Иногда суспензию конидий фильтруют через газовую ткань, чтобы убрать фрагменты мицелия. Однако следует учитывать, что существенная часть конидий

также застревает в порах, поэтому фильтрование приводит к падению концентрации инокулюма.

При невозможности получения конидиального инокулюма некоторые исследователи используют для заражения мицелиальную массу гриба (Сайчук, 1989). Мицелий может быть соскоблен с колонии из чашки Петри с поверхности агаризованной среды подобно конидиям либо получен в жидкой культуре и размельчён пестиком в ступке или в гомогенизаторе. Для рекогносцировочных экспериментов в качестве инокулюма используют блоки, вырезанные из культуры гриба, полученной на агаризованной питательной среде.

4.2. Обзор методов оценки устойчивости крестоцветных культур

Для изучения устойчивости крестоцветных культур к альтернариозу и агрессивности видов *Alternaria* был использован ряд методов, отличающихся по трудоёмкости и временным затратам, а также достоверности и воспроизводимости результатов. Технические отличия методов состоят в использовании растений разного возраста, целых растений или их фрагментов, различного типа инокулюма, разных способов учёта степени поражения.

Тест на проростках рапса (Claassen et al., 1991). Проростки рапса в стадии семядолей (Е 13) опрыскивали споровой суспензией *A. brassicae* и *A. brassicicola* (5×10^3 конидий/мл) при помощи пульверизатора до появления стекающих капель. После инокуляции растения накрывали прозрачными колпаками и содержали при режиме день/ночь (25/15°C, освещение 8000 лк/темнота; 12/12 часов). Относительная влажность воздуха поддерживалась на уровне 99%. Учет симптомов проводили на 3-4 сутки. В случае заражения *A. brassicicola* под бинокулярной лупой подсчитывали количество пятен, приходящихся на единицу поверхности. В случае *A. brassicae* учитывали степень поражения растений по 9 бальной шкале (Daebeler, Amelung, 1988).

Тест на семядолях (Doullah et al., 2006). Семена замачивали на ночь в растворе гиббереллина (100 мг/л) при 4°C. По 15 семян помещали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу и инкубировали 4-5 суток при 23°C при режиме день/ночь (освещение/темнота; 12/12 часов). Затем в каждой чашке оставляли по 10 самых развитых проростков, которые использовали для инокуляции (всего 30 проростков каждого сорта – три повторности по 10 проростков). Семядоли погружали в споровую суспензию с концентрацией 5×10^4 конидий/мл. Проростки инкубировали в темноте 3 суток при 22°C. Степень поражения оценивали по шкале: 0 – нет пятен, 2 – единичные точечные пятна, 4 – мелкие пятна и 1-2 ограниченных больших пятна, 6 – распространяющиеся пятна, 8 – распространяющиеся пятна с хлорозами, 10 – распространяющиеся пятна с мицелием, хлорозами и загниванием.

Тест на отделённых листьях (Gugel et al., 1990). Полностью развернувшийся четвертый лист различных растений семейства крестоцветных (примерно на 18 день после посева) помещали в прозрачные пластиковые контейнеры, выстланные увлажненными бумажными полотенцами. Для инокуляции использовали споровую

суспензию *A. brassicae*, $4\cdot 5 \times 10^5$ конидий/мл. Листья повреждали в двух местах симметрично центральной жилки посевной иглой для удаления воскового слоя. На каждое место с поранением наносили каплю споровой суспензии объемом 25 мкл. Пластиковые контейнеры закрывали прозрачной пленкой и инкубировали при комнатной температуре при непрерывном освещении. Через 4 дня измеряли диаметр пятен, включая зону хлороза.

Тест на отделённых листьях рапса (Doullah et al., 2006). Для инокуляции использовали листья среднего яруса (третий и четвёртый настоящие листья) 30-дневных растений, концентрация инокулюма составляла 5×10^4 конидий/мл, температура инкубации – 20-25°C. Повторность состояла из 3-х листьев, собранных с нескольких растений. Инокулюм наносили на верхнюю поверхность листьев при помощи пульверизатора до появления стекающих капель. После инокуляции листья помещали в пластиковые кюветы с полосками увлажненной бумаги, размещенной на 4-х вертикальных стенках кюветы. Кюветы инкубировали 3 дня при 22°C в темноте.

Тест на отделённых листьях рапса – 2 (Dakowska, Jędruczka, 2001). Листья среднего яруса (третий и четвёртый настоящие листья) 2-месячных растений помещали в кюветы на увлажненную водой фильтровальную бумагу. На каждом листе делали два укола иглой симметрично относительно центральной жилки и на место поранения наносили агаровые блоки с мицелием и спорами гриба, вырезанные из культуры *A. brassicicola*. Кюветы накрывали прозрачной пленкой для поддержания высокой влажности. Степень поражения листьев оценивали на 7 сутки по 6-балльной шкале (0 – отсутствие симптомов, 6 – диаметр некроза превышает 15 мм).

Тест на листовых дисках рапса (Claassen et al., 1991). Первые настоящие листья молодых растений (Е 15) использовали для получения листовых дисков, диаметром 10 мм, диски с центральной листовой жилкой не включали в тест. Листовые диски помещали на водный агар с 0,01% бензимидазола и опрыскивали споровой суспензией *A. brassicae* и *A. brassicicola* (5×10^3 конидий/мл) при помощи пульверизатора до появления крупных капель. Учёт заражения проводили так же, как и в тесте на проростках рапса.

Тест на листовых дисках и стручках (Mridha, Wheeler, 1993) Для инокуляции использовали диски диаметром 10 мм, вырезанные из листьев среднего яруса (третий – пятый настоящие листья рапса). Конидиальную суспензию (1×10^4 конидий/мл) наносили на верхнюю (адаксиальную) поверхность диска (по 1 капле, 10 мкл) или на стручки (по 5 капель, 5 мкл). Заражённый растительный материал инкубировали во влажной камере при 25°C. Через 48 ч. подсчитывали количество инфекционных пятен (группы побуревших эпидермальных клеток)

Тест на стручках рапса (Gieffers, 1989; Claassen et al., 1991). Полностью созревшие, но еще зеленые стручки, собранные в полевых условиях, помещали вертикально в стаканы, приливали стерильную воду, что бы уровень воды достигал 0,5 см, и опрыскивали споровой суспензией *A. brassicae* и *A. brassicicola* (5×10^3 конидий/мл) при помощи пульверизатора до появления стекающих капель. Стаканы

выдерживали закрытыми при 25°C. Учёт заражения проводили также, как и в тесте на проростках рапса.

Тест на взрослых растениях (Doullah et al., 2006). Для инокуляции использовали 30-дневные растения в фазе 6 настоящих листьев. Инокулюм (5×10^4 конидий/мл) наносили на верхнюю поверхность растений до появления стекающих капель. После инокуляции растения накрывали полиэтиленовыми пакетами и инкубировали в теплице при 25/15°C днем/ночью в течение 3-х суток. Через 3 суток определяли степень поражения листьев и растений при помощи 10-балльной шкалы: 1 – нет пятен и хлорозов, 2 – единичные точечные пятна без хлороза, 3 – несколько небольших пятен без хлорозов, 4 – несколько небольших пятен с небольшим хлорозом, 5-9 – увеличение числа и размера пятен и хлорозов, 10 – пятна с хлорозами на более чем 90% поверхности листа. Сорта с баллом поражения 1-3 классифицировали как высоко устойчивые, 3,1-4 умеренно устойчивые, 4,1-10 – чувствительные. Поражённость двух нижних листьев в расчёт не принимали.

Тест на взрослых растениях рапса – 2 (Mridha, Wheeler, 1993). Инокулировали целые растения в стадии 8 листа, выращенные в вегетационных сосудах. Растения опрыскивали до появления стекающих капель споровой суспензией с концентрацией 1×10^4 конидий/мл, после инокуляции растения помещали во влажные камеры на 24 часа при температуре 20°C, а затем перемещали в теплицу, где температура колебалась от 10°C ночью до 25°C днём. Через пять дней подсчитывали количество пятен на всех листьях растений.

Сравнение методов (Doullah et al., 2006). Японские исследователи сравнили 3 метода оценки устойчивости сортов *Brassica rapa* к *Alternaria brassicicola*: метод инокуляции семядолей, отделенных листьев и проростков. По их мнению, наиболее подходящим оказался метод инокуляции отделенных листьев. Он имел следующие достоинства: проявление четких симптомов через 24 часа, возможность оценки большого количества материала в стандартных условиях. Отмечена положительная корреляция между результатами методов инокуляции отделенных листьев и растений. Определено, что оптимальной температурой для инкубации является температура 20-25°C и концентрация инокулюма 5×10^4 конидий/мл.

4.3. Обзор методов оценки устойчивости паслёновых культур

Тест на целых растениях (Vloutoglou, 1999; Castro et al., 2000; Vloutoglou, Kalogerakis, 2000; Chaerani et al., 2007). Проводили опрыскивание растений из пульверизатора инокулюмом с концентрациями от $1,25 \times 10^3$ до 8×10^4 конидий/мл. Растения помещали во влажную камеру на 48-72 ч. Оценку заражения проводили несколько раз с 3 по 35 день после заражения по балльной шкале. Некоторыми методиками предусмотрено повторная инокуляция растений через на 2-3 сутки (Schaefer et al., 2005; Thirthamallappa, Lohithaswa, 2000).

Недостатком метода является трудоемкость и потребность в больших площадях для выращивания растений. Также при использовании данного метода возможны существенные погрешности, из-за субъективности глазомерного учёта и

вероятного появления некрозов, вызванных нецелевыми фитопатогенами и насекомыми. Последних проблем удастся избежать при нанесении инокулюма отдельными дозированными каплями и последующем измерении некрозов под каплями (Chaerani et al., 2007).

Тест на листьях (Дорожкин, Иванюк, 1978; Иванюк и др., 2003; Nash, Gardner, 1988). Каплю 50 мкл суспензии конидий с концентрацией от 4×10^3 до 1×10^4 конидий/мл наносили на нижнюю сторону листьев среднего яруса и накрывали микрокамерой. Через 24 или 48 часов камеры снимали. Наблюдение проводили каждый день, учитывали инкубационный период, балл поражения, скорость развития некрозов. Тест может быть модифицирован: на четвёртый день инфицированные листья переносили во влажную камеру, а результат заражения оценивали на седьмые сутки. Недостатком метода является трудоемкость и потребность в больших площадях для выращивания растений.

Тест на отделённых листьях картофеля (Киселев, Анненков, 1985). Заражение отдельных листьев определенного возраста в лабораторных условиях является самым распространенным методом оценки. Для заражения используют листья среднего яруса, собранные в период бутонизации – цветения. Листья помещают во влажную камеру на фильтровальную бумагу, на самые крупные доли наносят по 1 капле инокулюма (диаметр 5 мм, концентрация 5×10^3 конидий/мл) с каждой стороны от центральной жилки. Через 24 ч. капли просушивают фильтровальной бумагой, каждые сутки проводят увлажнение листьев стерильной водой из пульверизатора. Учет результатов заражения проводят на шестые сутки, например, по 4-балльной системе.

Разными авторами были использованы разные концентрации инокулюма ($1 \times 10^3 - 5 \times 10^4$), разный размер капель (10-20 мкл) и разное время проведения учётов (3-7 сутки) (Foolad et al., 2000; Jansky, Rouse, 2003). Заражение целых листьев также проводили опрыскиванием листьев из пульверизатора суспензией 5×10^3 конидий/мл (Broggio, Ranucci, 1990). Листья затем помещали во влажную камеру, учет заражения проводили на 7-е сутки. В.Г.Иванюком с соавторами (Иванюк и др., 2003) было показано, что концентрация 4×10^4 конидий в 1 мл суспензии обеспечивает наибольшую агрессивность патогенов при заражении картофеля.

Тест на фрагментах листьев и листовых дисках (Bussey, Stevenson, 1991). Для заражения использовали листовые диски диаметром 10-14 мм, полученные с листьев картофеля среднего яруса в период бутонизации – цветения (4-недельные растения). Картофель был выращен в лабораторных условиях. Листовые диски раскладывали во влажные камеры на фильтровальную бумагу, смоченную водой либо растворами фитогормонов. Было показано, что использование во влажных камерах для листовых дисков картофеля 4 мМ раствора 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) обеспечивает лучшую корреляцию результатов лабораторных экспериментов с полевыми по сравнению со стерильной водой, 1-нафталинуксусной кислотой, бензаминопирином и др. Листовые диски опрыскивали суспензией *A. solani* с концентрацией $2 \times 10^3 - 3 \times 10^3$ конидий/мл. Также возможно вместо опрыскивания

наносить в центр листовых дисков по 1 капле (10 мкл) суспензии конидий. Учет заражения проводили на 5 сутки. О патогенности судили по длине инкубационного периода, площади поражения и интенсивности спороношения гриба.

Тест в полевых условиях (Сайчук, 1989; Nash, Gardner, 1988; Chaerani et al., 2007). Заражение растений в закрытом и открытом грунте проводили на делянках опрыскиванием или капельным нанесением суспензии конидий в период бутонизации-цветения. Оценку степени поражённости осуществляли несколько раз в течение вегетации. Учитывали балл поражения и в последствии рассчитывали скорость увеличения некротических пятен.

Возможны методические вариации теста в полевых условиях. Другие исследовательские коллективы (Дорожкин, Иванюк, 1978, Иванюк, 2003) проводили 5-6 последовательных инокуляций в течение сезона, т.к. устойчивость растений меняется в процессе онтогенеза. Суспензию конидий наносили отдельными каплями на нижнюю сторону листа среднего яруса и на 24 ч. накрывали микрокамерами. Первое заражение проводили перед бутонизацией и повторяли каждые 6-7 дней до момента отмирания ботвы. Проявление симптомов фиксировали ежедневно. Учитывали диаметр некрозов, интенсивность спороношения по 3-балльной шкале (1 – слабое, 2 – среднее, 3 – сильное) и длину инкубационного периода. На основании этих трёх показателей рассчитывали индекс поражения.

Тест на каллусах картофеля (Анненков, 2002). Анализ устойчивости проводили, добавляя в питательную среду для каллусных клеток сублетальное количество (около 1 г/л среды) токсина гриба *A. solani* – альтернариновой кислоты. На 5-й месяц после отмирания основной массы каллуса появлялись жизнеспособные мутантные каллусные клетки в виде светлых точек, которые переносили на новую среду с увеличенной концентрацией токсина (1,5 г/л). После подращивания каллусов создавали условия для регенерации из них целых растений. Таким образом были получены сортовые формы, имеющие более высокую степень устойчивости к альтернариозу и несколько повышенную продуктивность по сравнению с исходными образцами. Сходным образом были получены соматоклональные линии томата, устойчивые к альтернариозу (Евстигнеева, 1995).

4.4. Рекомендуемый алгоритм оценки устойчивости

Разнообразие методов оценки устойчивости крестоцветных и паслёновых культур к альтернариозам позволяет делать выбор, учитывающий имеющиеся в распоряжении исследователя материальные и временные ресурсы. Опыт, накопленный авторами во время изучения экологии и физиологии взаимоотношений между видами *Alternaria* и растениями, в совокупности с критическим анализом существующего в настоящее время арсенала методов оценки устойчивости позволяет нам рекомендовать следующий алгоритм работы при тестировании селекционного материала.

Иногда достаточным для выявления устойчивых образцов является проведение учётов заражённости на коллекционных посевах в течение трёх или

более лет. Это возможно в том случае, когда на коллекционных посевах ежегодно или с высокой регулярностью складываются все условия для сильного развития альтернариоза (благоприятная погода и наличие инокулюма). Однако в большинстве случаев наблюдения приходится дополнять экспериментальной работой. Традиционным и вполне рациональным на наш взгляд представляется последовательное проведение исследования, состоящего из трёх этапов: нетрудоёмкая и быстрая лабораторная оценка большого количества образцов; вегетационные опыты на образцах, показавших среднюю или высокую степень устойчивости; тщательное полевое тестирование избранных образцов на искусственном инфекционном фоне. При небольшом количестве тестируемого материала и наличие его предварительной характеристики возможно исключение первого или первого и второго этапов. Наиболее универсальные методы тестирования устойчивости растений к *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. japonica*, *A. solani* и *A. tomatophila* изложены ниже.

1. Тест на листовых дисках (отрезках листьев или целых листьях). Листовые диски, диаметром 10 мм или более вырезают из первых настоящих листьев молодых растений либо из листьев среднего яруса взрослых растений. Листья по возможности должны быть одного возраста и размера и не иметь механических или физиологических повреждений. Листовые диски помещают на влажную фильтровальную бумагу по 10 шт. на каждую повторность (3-5 повторностей в варианте). Листья картофеля раскладывают на бумагу, смоченную 4 мМ раствор 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д). В каждой повторности должны присутствовать листовые диски, взятые с нескольких растений. Конидиальную суспензию (1×10^4 конидий/мл) с помощью пипетки или автоматического дозатора наносят на верхнюю (адаксиальную) поверхность диска (по 1 капле, 10 мкл). При использовании целых листьев на один лист можно наносить несколько капель, сократив при этом размер каждой повторности до 3-5 листьев, также взятых с разных растений. Растительный материал инкубируют во влажной камере при 25°C. Через 3, 5 и 7 суток измеряют диаметр некрозов и хлорозов.

2. Тест на взрослых растениях. Для инокуляции используют молодые 3-6-недельные растения с несколькими настоящими листьями. Одной повторностью служит 1 вегетационный сосуд с 3-5 растениями капусты, рапса, редьки, томата или 1 растением картофеля. На каждый вариант должно приходиться не менее 5 повторностей. Инокулюм (1×10^4 конидий/мл) с помощью пульверизатора наносят на поверхность растений до появления стекающих капель. После инокуляции растения инкубируют в климатической камере или теплице при 25/15°C днем/ночью, создав условия повышенной влажности воздуха, например, накрыв полиэтиленовыми пакетами. Через 24 ч. (или 48 ч.) пакеты снимают и продолжают инкубировать растения в режиме день/ночь. Через 5 и 10 (или 3 и 7) суток учитывают степень поражения листьев (доля поражённой поверхности в баллах или процентах). Поражённость двух нижних листьев крестоцветных культур в расчёт не принимают.

3. Тест в полевых условиях. Инокулируют растения перед началом бутонизации или в фазу бутонизации – цветения. Капусту первого года инокулируют в фазу розетки и завязывания кочана. Одной повторностью служит делянка площадью не менее 1 м² и с не менее чем 10 растениями. На каждый вариант должно приходиться не менее 4 повторностей. Инокулюм (1×10^4 конидий/мл) с помощью пульверизатора наносят на поверхность растений до появления стекающих капель. Через 5 и затем через каждые 7 суток учитывают степень поражения листьев (доля поражённой поверхности в баллах или процентах). Также в конце сезона могут учитываться показатели, характеризующие качество и количество урожая.

Литература

Аврова А.О., Тютюрев С.Л., Козырева О.Г., Евстигнеева Т.А. Методы отбора форм томата, устойчивых к *Alternaria solani* (Ell. Et Mart.) Jones et Gront., в культуре in vitro // Микология и фитопатология, 1993, 27, 6, с. 52–56.

Агейчик В.В., Полозняк Е.Н., Сорока С.В., Саскевич П.А. Технические культуры. Крестоцветные культуры. В: Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации. Под ред. С.В.Сороки. Минск, Нац. акад. наук Респ. Беларусь, Ин-т защиты растений НАН Беларуси, Бел. Наука, 2005, 462 с.

Анненков Б.Г. Оценка исходного и гибридного материала картофеля в селекции на устойчивость к макроспориозу // Селекция, семеноводство и технология возделывания сельскохозяйственных культур в Приморье. Сб. науч. тр. Новосибирск: ПримНИИСХ, Сиб. Отд. ВАСХНИЛ. 1990, с. 55–66.

Анненков Б.Г. Устойчивость сортов картофеля к болезням в Приамурье // Защита и карантин растений. 1999. Вып. 11, с. 15–16.

Анненков Б.Г. Методические основы клеточной селекции картофеля. Хабаровск: ДальНИИСХ, 2002, 40 с.

Барлюк Т.И., Чумакова А.И., Сметанина Т.И. Внутривидовая неоднородность возбудителей альтернариоза картофеля и томатов, отбор агрессивных форм // Иммуитет сельскохозяйственных культур к возбудителям грибных болезней. М., 1991, с. 100–104

Билай В.И., Элланская И.А. Основные микологические методы в фитопатологии // Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под ред. В.И.Билай. Киев: Наукова думка, 1982, 551 с.

Воловик А.С. Грибные болезни картофеля // Распространение вредителей и болезней сельскохозяйственных культур из РСФСР в 1970 и прогноз их проявления в 1971. М., 1971, с. 168–174.

Воловик А.С., Литун Б.П. Вредоносность заболеваний картофеля // Защита растений, 1975, 7, с. 4–6.

Ганнибал Ф.Б. Видовой состав, таксономия и номенклатура возбудителей 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., Гасич Е.Л. Возбудители альтернариоза растений семейства крестоцветные в России: видовой состав, география и экология // Микология и фитопатология, 2009, 43, 5, с. 79–88.

Ганнибал Ф.Б., Орина А.С., Левитин М.М. Альтерналиозы сельскохозяйственных культур на территории России // Защита и карантин растений, 2010, 5, с. 30–32.

Гасич Е.Л. Фитотоксичность *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. и *A. alternata* (Fr.) Keissl., паразитирующих на рапсе в Ленинградской области // «Микотоксины в

экосистемах Санкт-Петербурга и Ленинградской области». Сб. тез. докл. межвуз. конф. СПб.: Менделеев, 2003, с. 47–53.

Горковенко М.Н. Ценный генофонд для селекции картофеля в условиях северо-кавказского региона // Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция). Научны труды. М.: Россельхозакадемия, 2011, 4, 1, с. 588–593.

Дмитриева Е.П. Разработка методов оценки устойчивости картофеля к альтернариозу и характеристика картофеля по этому признаку // Автореферат ... к.с.-х.н. - М.: НИИКХ, 1988, 21 с.

Дорожкин Н.А., Ремнева З.И., Иванюк В.Г. Возбудители ранней сухой пятнистости картофеля и их специализация на других видах сем. Solanaceae // Ботаника. Мн.: Наука и техника, 1973, 15, с. 160–167.

Дорожкин Н.А., Иванюк В.Г. Методы оценки томатов на устойчивость к ранней сухой пятнистости // Овощеводство. Межведомственный тематический сборник, 1978, 4, с. 149–153.

Евстигнеева Т.А. Биохимическое изучение соматоклональных линий томата, устойчивых к альтернариозу // Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса: экономика, эффективность, экологичность. Тезисы докладов. СПб.: ВИЗР, 1995, с. 188–189.

Еланский С.Н., Побединская М.А., Романова С.С., Александрова А.В., Пляхневич М.П. Устойчивость возбудителей фитофтороза и альтернариоза картофеля и томатов к некоторым фунгицидам // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2010, 1, с. 234–235.

Иванюк В.Г. Сравнение эффективности методов оценки картофеля на устойчивость к ранней сухой пятнистости на естественном и искусственном инфекционном фоне // Сельскохозяйственная биология, 1986, 9, с. 85–88.

Иванюк В.Г., Банадысев С.А., Журомский Г.К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Мн.: РУП «Белорусский НИИ картофелеводства», 2003, 550 с.

Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации. Под ред. С.В.Сороки. Минск, Нац. акад. наук Респ. Беларусь, Ин-т защиты растений НАН Беларуси, Бел. Наука, 2005, 462 с.

Кваснюк Н.Я. Интенсивность споруляции и патогенность изолятов *Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Sor. // Микология и фитопатология, 1985, 19, 2, с. 148–150.

Киселев Е.П., Анненков Б.Г. Методика ускоренной оценки картофеля на устойчивость к макроспориозу способом конидиального заражения отдельных листьев // Сибирский вестник с.-х. наук, 1985, 3, с. 45–48.

Козловский Б.Е., Попова Т.А., Тверской Д.Л., Кваснюк Н.Я. Особенности применения инфекционного материала *Macrosporium solani* Ell. et Mart. при оценке сортов картофеля на устойчивость к макроспориозу. – Тезисы докладов VII Всесоюзного совещания по иммунитету с.-х. растений к болезням и вредителям (Омск, 4-7 августа, 1981г.), Новосибирск, 1981, с. 271–276.

Коняева Н.М., Золотарёва Е.В., Куликова Г.А., Локтина Г.И. Возбудители грибных болезней картофеля. В кн. Возбудители болезней сельскохозяйственных растений Дальнего Востока. Под ред. З.М.Азбукиной. М.: Наука, 1980, с. 251–293.

Левитин М.М. *Alternaria solani* Sorauer. – Альтернариоз картофеля. В: Афонин А.Н., Грин С.Л., Дзюбенко Н.И., Фролов А.Н. Агроэкологический атлас России и сопредельных государств: сельскохозяйственные растения, их вредители, болезни и сорняки [Интернет-версия 2.0], 2008, http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Solani/Solani_Macrosporium_solani/

Михайлова Л.А., Гоголева С.Г., Гульяева Е.И. Взаимодействие штаммов *Bipolaris sorokiniana* и образцов пшеницы // Микология и фитопатология, 2002, 36, 2, с. 63–66.

Нелен Е.С. К биологии гриба *Macrosporium solani* Ell. et Mart. – возбудителя макроспориоза картофеля в Приморском крае // Сообщения дальневосточного филиала им. В.Л.Комарова СО РАН СССР. Владивосток, 1959, 2, с. 69–77.

Никоноренков В.А. Исходный материал для селекции рапса на устойчивость к болезням // Сельскохозяйственная биология, 2002, 1, с. 27–31.

Орина А.С., Ганнибал Ф.Б., Левитин М.М. Видовое разнообразие, биологические особенности и география грибов рода *Alternaria*, ассоциированных с растениями семейства *Solanaceae* // Микология и фитопатология, 2010, 44, 2, с. 150–159.

Орина А.С. Видовой состав возбудителей альтернариоза паслёновых культур на территории России // Автореф. ... канд. биол. наук. СПб, 2011, 20 с.

Осницкая Е.А. Болезни овощных культур // Распространение вредителей и болезней сельскохозяйственных культур из РСФСР в 1965 и прогноз их проявления в 1966, М., 1966, с. 163–170.

Попов Ф.А. Вредоносность альтернариоза капусты // Защита растений, 1993, 10, с. 30.

Рог-Кустов А.К. Анализ новых гибридных комбинаций картофеля на устойчивость к альтернариозу // Фитопатологическая обстановка, самозащита и химзащита с.-х. растений в Приамурье. Хабаровск, 2003, с. 95–100.

Сайчук А.И. Оценка вредоносности *Alternaria solani* на исходном селекционном материале томата // Селекция, агротехника и орошение овощных культур. Кишинев: «Штиинца», 1989, 143 с.

Саламатова Е.В. Вредоносность ранней сухой пятнистости картофеля на Камчатке // Актуальные вопросы защиты растений от болезней и сорняков на Дальнем Востоке. Научно-техническая бюллетень, 1986, 5, с. 21–26.

Самохвалов А.Н., Маслова А.А., Старцев В.И., Ушаков А.А., Бондарева Л.Л. Фитопатологическая оценка исходного селекционного материала белокочанной капусты на устойчивость к болезням и вредителям // Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур. Материалы докладов сообщений международного симпозиума. М., 2005, 2, с. 245–250.

Степанов К.М., Чумаков А.Е. Прогноз болезней сельскохозяйственных растений. Л.: Колос, 1972, 271 с.

- Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002, 294 с.
- Шнейдер Ю.И., Яшина И.М., Ерохина С.А. Методические указания по оценке селекционного материала картофеля на устойчивость к фитофторозу, ризоктониозу, бактериальным болезням и механическим повреждениям. М.: НИИКХ, 1980, 25 с.
- Эльчибаев А.А. (сост.) Шкалы для оценки поражения болезнями сельскохозяйственных культур (методические рекомендации). Воронеж: ВНИИЗР, 1981, 82 с.
- Abbas H.K., Egley G.H., Paul R.N. Effect of conidia production temperature on germination and infectivity of *Alternaria helianthi* // *Phytopathology*, 1995, 85, 6, p. 677–682.
- Akamatsu H., Itoh Y., Kodama M., Otani H., Kohmoto K. AAL-toxin deficient mutants of *Alternaria alternata* pathotype by restriction enzyme-mediated integration // *Phytopathology*, 1997, 87, p. 967–972.
- 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, p. 170–182.
- Anonymous. *Alternaria brassicicola* [Distribution map]. Edition 4 // Distribution maps of plant diseases, CAB International, 1999, map 457.
- Anonymous. *Alternaria japonica* [Distribution map]. Edition 1 // Distribution maps of plant diseases, CAB International, 2002, map 862.
- Anonymous. *Alternaria brassicae* [Distribution map]. Edition 6 // Distribution maps of plant diseases, CAB International, 2006, map 353.
- Ansari N.A.; Khan M.W.; Muheet A. Reaction of some rapeseed accessions to alternaria blight // *Ann. appl. Biol.*, 1989, 114, suppl., p. 148–149.
- Ayer W.A., Peña-Rodriguez L.M. Metabolites produced by *Alternaria brassicae*, the black spot pathogen of canola. Part 1, The phytotoxic components // *J. Nat. Prod.*, 1987, 50, p. 400–407.
- Ayer W.A., Bains P.S., Peña-Rodriguez L.M., Tewari J.P. Production of a host-specific toxin by *Alternaria brassicae* // *Proc. 7th Intern. Rapeseed Congr.*, Poznan, Poland, 1987, p. 1256–1261.
- Babadoost M., Gabrielson R.L. Pathogens causing *Alternaria* disease of Brassica seed crops in western Washington // *Plant Dis. Repr.*, 1979, 63, p. 815–820.
- Bains P.S., Tewari J.P. Purification, chemical characterization and host-specificity of the toxin produced by *Alternaria brassicae* // *Physiol. Mol. Plant Path.*, 1987, 30, p. 259–271.
- Bansal V.K., Séguin-Swartz G., Rakow G.F.W., Petrie G.A. Reaction of Brassica species to infection by *Alternaria brassicae* // *Can. J. Plant Sci.*, 1990, 70, 4, p. 1159–1162.
- Barclay G.M., Murphy H.J., Manzer F.E., Hutchinson F.E. Effects of differential rates of nitrogen and phosphorus on early blight in potato // *Amer. Potato J.*, 1973, 50, p. 42–48.
- Barksdale T.H. Resistance of tomato seedlings to early blight // *Phytopathology*, 1969, 59, p. 443–446.
- de Benito F.M., Citores L., Iglesias R., Ferreras J.M., Soriano F., Arias J., Méndez E., Gírbés T. Ebullitins: a new family of type 1 ribosome-inactivating proteins (rRNA N-

glycosidases) from leaves of *Sambucus ebulus* L. that coexist with the type 2 ribosome-inactivating protein ebulin 1 // *FEBS Lett.*, 1995, 360, 3, p. 299–302.

Bhowmik T.P., Munde P.N. Identification of resistance in rapeseed and mustard against *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. and some resistant sources // *Beiträge Trop. Landwirtsch. Veterinarmed.*, 1987, 25, p. 49–53.

van der Biezen E.A., van Haaren M.J.J., Overduin B., Nijkamp H.J.J., Hille J. Heterologous transposon tagging as a tool for the isolation of plant genes // *Plant molecular biology manual* / Eds. Gelvin S.B., Schilperoort R.A., Dordrecht N.L. Kluwer Academic publishers, 1994, p. 1–16.

van der Biezen E.A., Brandwagt B.F., van Leeuwen W., Nijkamp H.J., Hille J. Identification and isolation of the FEEBLY gene from tomato by transposon tagging // *Mol. General Genet.*, 1996, 251, 3, p. 267–280.

Billotte J.M. Une methode d'induction de la sporulation de l'*Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. du colza en culture pure // *Extrait du procès-verbal de la Séance du 16 October 1963*, p. 1056–1061.

Bliffeld M., Mundy J., Potrykus I., Futterer J. Genetic engineering of wheat for increased resistance to powdery mildew disease // *Theor. Appl. Genet.*, 1999, 98, 8, p. 1079–1086.

Bock C.H., Thrall P.H., Burdon J.J. Genetic structure of populations of *Alternaria brassicicola* suggests the occurrence of sexual recombination // *Mycol. Res.*, 2005, 109, 2, p. 227–236.

Boiteux L.S., Reifschneider F.J.B., Fonseca M.E., Buso J.A. Search for sources of EB (*Alternaria solani*) field-resistance not associated with vegetative in tetraploid potato germplasm // *Euphytica*, 1995, 83, 1, p. 63–70.

Brandwagt B.F., Kneppers T.J.A., Van der Weerden G.M., Nijkamp H.J.J., Hille J. Most AAL toxin-sensitive *Nicotiana* species are resistant to the tomato fungal pathogen *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* // *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2001, 14, 4, p. 460–470.

Brandwagt B.F., Kneppers T.J.A., Nijkamp H.J.J., Hille J. Overexpression of the Tomato Asc-1 Gene Mediates High Insensitivity to AAL Toxins and Fumonisin B1 in Tomato Hairy Roots and Confers Resistance to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* in *Nicotiana umbratica* Plants // *Mol. Plant Microbe Interact.*, 15, 1, 2002, p. 35–42.

Brazauskienė I., Petraitiene E. The occurrence of *Alternaria* blight (*Alternaria* spp.) and Phoma stem canker (*Phoma lingam*) on oilseed rape in central Lithuania and pathogenic fungi on harvested seed // *J. Plant Prot. Res.*, 2006, 46, 3, p. 295–311.

Broggio M., Ranucci A. In vitro infection systems for potato early blight: *Alternaria solani* // *Rivista di agricoltura subtropicale e tropicale: istituto agronomico per L'oltremare*, 1990, 3, p. 355–366.

Buchwaldt L., Green H. Phytotoxicity of destruxin B and its possible role in the pathogenesis of *Alternaria brassicae*. *Plant Pathol.*, 1992, 41, p. 55–63.

Bussey M., Stevenson W. A leaf disk assay for detecting resistance to early blight caused by *Alternaria solani* in juvenile potato plants // *Plant Dis.*, 1991, 75, 4, p. 385–390.

- Caligari P.D.S., Nachmias A. Screening for field resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potatoes // *Potato Res.*, 1988, 31, 3, p. 451–460.
- Castro M.E.A., Zambolim L., Chaves G.M., Cruz C.D., Matsuoka K. Variabilidade patogênica de *Alternaria solani* agente causal da pinta-preta do tomateiro // *Summa phytopathologica*, 2000, 26, 1, p. 24–28.
- Chaerani R., Voorrips R.E. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance // *General Plant Pathol.*, 2006, 72, 6, p. 335–347.
- Chaerani R., Groenwold R., Stam P., Voorrips R.E. Assessment of early blight (*Alternaria solani*) resistance in tomato using a droplet inoculation method // *General Plant Pathol.*, 2007, 73, 2, p. 96–103.
- Christ B.J. Effect of disease assessment method on ranking potato cultivars for resistance to early blight // *Plant Dis.*, 1991, 75, 4, p. 353–356.
- Christ B.J., Haynes K.G. Inheritance of resistance to early blight disease in diploid potato population // *Plant Breeding*, 2001, 120, 2, p. 169–172.
- Claassen U., Günzelmann A., Paul V.Y., Masuch G. Methods for testing the susceptibility of oilseed rape to *Alternaria brassicae* and *A. brassicicola* // *Proceedings of the meetings of working group "Integrated control in oilseed crops"*, Rothamsted (United Kingdom), 1-3 March 1990 and Paderborn (Germany), 19-20 April 1990 // *IOBC/WPRS Bulletin*, *Bulletin OILB/SROP*, 1991, XIV, 6, p. 162–165.
- Conn K.L., Tewari J.P., Hadziyev D. The role of epicuticular wax in canola in resistance to *Alternaria brassicae* // *Phytopathology*, 1984, 74, p. 851.
- Conn K.L., Tewari J.P. Interactions of *Alternaria brassicicola* conidia with leaf epicuticular wax of canola // *Mycol. Res.*, 1989, 93, 2, p. 240–242.
- Conn K.L., Tewari J.P., Awasthi R.P. A disease assessment key for *Alternaria* blackspot in rapeseed and mustard // *Can. Plant Dis. Sur.*, 1990, 70, p. 19–22.
- Da Motta S., Soares L.M.V. Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol momomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid // *Food Additives and Contaminants*, 2001, 18, 7, p. 630–634.
- Dakowska S., Jędryczka M. Reakcja odmian rzepaku jarego na porażenie przez *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wilt. // *I Krajowa Konferencja Naukowa "Patogeny rzepaku oraz możliwości wykorzystania technik biologii molekularnej w hodowli odpornościowej"* Poznań. 28 września 2001, Poznań, 2001, s. 16–17.
- Daebeler F., Amelung D., Riedel V. Untersuchungen über die Schädwirkung der durch *Alternaria* spp. Verursachten Rapsschwarze an Winterraps // *Wiss. Z. Wilhelm-Pieck-Univ., Rostock, Naturwiss. Reihe* 35, 1986, s. 52–54.
- Daebeler F., Amelung H. Auftreten und Bedeutung der *Alternaria* – Rapsschwarze im Winterraps // *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR*, 1988, 42, 10, p. 196–199.
- Degenhardt K.J., Petrie G.A., Morrall R.A.A. Effect of temperature on spore germination and infection of rapeseed by *Alternaria brassicae*, *A. brassicicola* and *A. raphani* // *Can. J. Plant Pathol.*, 1982, 4, 2, p. 115–118.

- Demir S., Levent R. Reaction of different potato cultivars against to early blight disease // J. Turkish Phytopathol., 2002, 31, 2, p. 97–103.
- Doullah M.A.U., Meah M.B., Okazaki K. Development of an effective screening method for partial resistance to *Alternaria brassicicola* (dark leaf spot) in *Brassica rapa* // Europ. J. Plant Pathol., 2006, 116, p. 33–43.
- Ellis M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew: CAB International Mycological Institute, 1971, 608 p.
- Evans E.J., Gladders P. Diseases of winter oilseed rape and their control, east and south-east England 1977–1981 // Proc. 1981 Brit. Crop Prot. Conf., Brighton, 1981, 2, p. 505–512.
- Fageria N.K. Soil acidity affects availability of nitrogen, phosphorus and potassium // Better crops international, 1994, 10, 1, p. 8–9.
- Farr D.F., Bills G.F., Chamuris G.P., Rossman A.Y. Fungi on plants and plant products in the United States. St. Paul: APS Press, 1989, 1252 p.
- Foolad M.R., Ntahimpera N., Christ B.J., Lin G.Y. Comparison of field, greenhouse and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance // Plant Dis., 2000, 84, 9, p. 967–972.
- Foolad M.R., Subbianh P., Ghanges G.S. Parent-offspring correlation estimates of heritability for early blight resistance in tomato // Euphytica, 2002, 126, 2, p. 291–297.
- Gieffers W., Paul V.H., Ritter E. Der einfluss von sauerstoff und UV-licht auf die konidien produktion von *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton, Merkmale zur morphologie des erregers und dessen nachweis an Dikotyledonen // J. Phytopathology, 1989, 126, p. 115–132.
- Gilchrist D.C., Wang H., Bostock R.M. Sphingosine-related mycotoxins in plant and animal diseases // Can. J. Bot., 1995, 73, p. S459–S467.
- Grogan R.G., Kimble K.A., Misaghi I. A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* // Phytopathology, 1975, 65, p. 880–886.
- Gugel R.G., Séguin-Swartz G., Petrie G.A. Pathogenicity of three isolates of *Phoma lingam* (Tode ex Fr.) Desm. On Brassica species and other crucifers // Can. J. Plant Pathol., 1990, 12, p. 75–82.
- Hardwik N.V., Fitt B.D.L., Wale S.J., Sweet J.B. Oilseed rape diseases // Home Grown Cereal Authority Oilseed Research Review OS4, 1991, 131 p.
- Hodgkin T. In vitro pollen selection in *Brassica napus* L. for resistance to phytotoxic compounds from *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wilts. // Sexual Plant Reproduction, 1990, 3, p. 116–120.
- Hodgkin T., McDonald M.V. The effect of phytotoxin from *Alternaria brassicicola* on Brassica pollen // New Phytologist, 1986, 104, p. 631–636.
- Horsfall J.F., Barratt R.W. An improved grading system for measuring plant disease // Phytopathology, 1945, 35, 1, p. 55.
- Humpherson-Jones F.M. The occurrence of *Alternaria brassicicola*, *Alternaria brassicae* and *Leptosphaeria maculans* in brassica seed crops in south east England between 1976 and 1980 // Plant Pathol., 1983, 37, p. 33–39.

- Humpherson-Jones F.M., Phelps K. Climatic factors influencing spore production in *Alternaria brassicae* and *Alternaria brassicicola* // Ann. Appl. Biol., 1989, 114, 3, p. 449–458.
- Hussain A., Thakur R.N. Some sources of resistance to *Alternaria* blight of rapeseed and mustard // Indian Oilseed J., 1963, 7, p. 259–261.
- Jansky S.H., Rouse D.I. Multiple disease resistance in interspecific hybrids of potato // Plant Dis., 2003, 87, 3, p. 266–272.
- Joshi M.K., Singh U.S., Garg G.K. Use of Brassica callus culture to induce sporulation in *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1988, 14, p. 59–62.
- Kapsa J. Early blight (*Alternaria* spp.) in potato crops in Poland and results of chemical protection // J. Plant Protection Res., 2003, 44, 3, p. 231–238.
- Kim J.K., Jang I.C., Wu R., Zuo W.N., Boston R.S., Lee Y.H., Ahn I.P., Nahm B.H. Co-expression of a modified maize ribosome-inactivating protein and a rice basic chitinase gene in transgenic rice plant confers enhanced resistance to sheath blight // Transgenic Res., 2003, 12, 4, p. 475–484.
- Klewer A., Sacristán M.D. Erschliesung neuer Resistenzquellen bei Raps – Schwerpunkt *Alternaria*-Resistenz. // Vortr. Pfl.-Zücht., 2003, 56, p. 63–70.
- Klewer A., Mewes S., Mai J., Sacristán M.D. *Alternaria*-Resistenz in interspezifischen Hybriden und deren Ruckkreuzungsnachkommenschaften im Tribus Brassicaceae // Vortr. Pfl.-Zücht., 2002, 54, p. 505–508.
- Köhl J., van Tongeren C.A.M., Groenenboom-de Haas B.H., van Hoof R.A., Driessen R., van der Heijden L. Epidemiology of dark leaf spot caused by *Alternaria brassicicola* and *A. brassicae* in organic seed production of cauliflower // Plant Pathol., 2010, 59, p. 358–367.
- Kolte S.J., Awasthi R.P. Epidemiological and biochemical components of host resistance to blackspot disease of rapeseed-mustard // 10th International rapeseed congress, Canberra, Australia, 1999.
- 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, 93, p. 51–62.
- Kubota M., Abiko K., Yanagisawa Y., Nishi K. Frequency of *Alternaria brassicicola* in commercial cabbage seeds in Japan // J. Gen. Plant Pathol., 2006, 72, p. 197–204.
- Lagopodi A.L., Thanassouloupoulos C.C. Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece // Plant Dis., 1998, 82, 1, p. 41–44.
- Lawrence C.B., Joosten M.H.A.J., Tuzun S. Differential induction of pathogenesis related proteins in tomato by *Alternaria solani* and the association of a basic chitinase isozyme with resistance // Physiol. Mol. Plant Pathol., 1996, 48, p. 361–377.
- Lawrence C.B., Singh N.P., Qiu J., Gardner R.G., Tuzun S. Constitutive hydrolytic enzymes are associated with polygenic resistance of tomato to *Alternaria solani* and may function as an elicitor release mechanism // Physiol. Mol. Plant Pathol., 2000, 57, p. 211–220.
- Lee E.J., Lee Y.H., Cho W.D., Kim W.G., Jin K.S. Compendium of medicinal plant diseases with colour plates. Suwon: Nat. Inst. Agric. Sci. Tech., 1991, 210 p.

Logrieco A., Bottalico A., Mulé G., Moretti A., Perrone G. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops // *Europ. J. Plant Pathol.*, 2003, 109, p. 645–667.

Lourenço V., Moya A., González-Candelas F., Carbone I., Maffia L.A., Mizubuti E.S. Molecular diversity and evolutionary processes of *Alternaria solani* in Brazil inferred using genealogical and coalescent approaches // *Phytopathology*, 2009, 99, 6, p. 765–774.

Lukens R.J. Conidial production from filterpaper cultures of *Helminthosporium vagans* and *Alternaria solani* // *Phytopathology*, 1960, 50, p. 867–868.

Lusso M., Kuc J. The effect of sense and antisense expression of the PR-N gene for β -1,3-gluconase on disease of tobacco to fungi and viruses // *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1996, 49, 3, p. 267–283.

Lynch D.R., Wastie R.L., Steward H.R., Mackay G.R., Lyon G.D., Nachmias A. Screening for resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potato (*Solanum tuberosum* L.) using toxic metabolites produced by the fungus // *Potato Res.*, 1991, 34, 3, p. 297–304.

Maierco M., Ng T.J., Barcsdale T.H. Combining ability estimates for early blight resistance in tomato // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1989, 114, 1, p. 118–121.

Maierco M., Ng T.J., Barcsdale T.H. Genetic resistance to early blight in tomato breeding lines // *Hort. Sci.*, 1990, 25, 3, p. 344–346.

Martinez S.P., Snowdon R., Pons-Kuhnemann J. Variability of Cuban and international populations of *Alternaria solani* from different hosts and localities: AFLP genetic analysis // *Europ. J. Plant Pathol.*, 2004, 110, p. 399–409.

Maude R.B., Humpherson-Jones F.M. Studies on the seed-borne phases of dark leaf spot (*Alternaria brassicicola*) and gray leaf spot (*Alternaria brassicae*) of brassicas // *Ann. Appl. Biol.*, 1980, 95, 3, p. 311–319.

Martin F.W., Hepperly P. Sources of resistance to early blight *A. solani* and transfer to tomato // *J. Agric. University of Puerto Rico*, 1987, 71, 2, p. 85–95.

Martinez S.P., Snowdon R., Pons-Kuhnemann J. Variability of Cuban and international populations of *Alternaria solani* from different hosts and localities: AFLP genetic analysis // *Europ. J. Plant Pathol.*, 2004, 110, p. 399–409.

McDonald M.V., Ingram D.S. In vitro selection for resistance to *Alternaria brassicicola* in *Brassica napus* spp. *oleifera* (winter oilseed rape) using partially purified culture filtrates // *Cruciferae NewsLetter*, 1985, 10, p. 97–100.

Mesbah L.A., van der Weerden G.M., Nijkamp H.J.J., Hille J. Sensitivity among species of Solanaceae to AAL toxins produced by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* // *Plant Pathol.*, 2000, 49, p. 734–741.

Misaghi I.J., Grogan R.G., Duniway J.M., Kimble K.A. Influence of environment and culture media on spore morphology of *Alternaria alternata* // *Phytopathology*, 1978, 68, 1, p. 29–34.

Mondal K.K., Chatterjee S.C., Viswakarma N., Bhattacharya R.C., Grover A. Chitinase-Mediated Inhibitory Activity of Brassica Transgenic on Growth of *Alternaria brassicae* // *Curr. Microbiol.*, 2003, 47, p. 171–173.

Mondal K.K., Bhattacharya R.C., Koundal K.R., Chatterjee S.C. Transgenic Indian mustard (*Brassica juncea*) expressing tomato glucanase leads to arrested growth of *Alternaria brassicae* // *Plant Cell Rep.*, 2007, 26, p. 247–252.

Mridha M.A.U., Wheeler B.E.J. In vitro effects of temperature and wet periods on infection of oilseed rape by *Alternaria brassicae* // *Plant Pathol.*, 1993, 42, p. 671–675.

Mukadam D.S., Deshpande K.B. Effect of different substrates and age of the culture on spore germination in *Alternaria brassicae* and *A. brassicicola* // *Indian Phytopathol.*, 1977, 30, p. 374–378.

Munde P.N., Bhowmik T.P. A source of morphological resistance to leaf blight disease of rapeseed and mustard caused by *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. // *Curr. Sci.*, 1985, 54, p. 514–515.

Nash A.F., Gardner R.G. Tomato early blight resistance in a breeding line from *Lycopersicon hirsutum* P.I.136445 // *Plant Dis.*, 1988, 72, 3, p. 206–209.

Nachmias A., Caligari P.D.S., Ben-Tullila I., Livescu L. Disease assessment of early blight in potatoes in semi-arid zones // *Potato Res.*, 1990, 33, 4, p. 441–448.

Nishizawa Y., Saruta M., Nakazono K., Nishio Z., Soma M., Yoshida T., Nakajima E., Hibi T. Characterization of transgenic rice plants over-expressing the stress-inducible β -glucanase gene *Gns1* // *Plant Mol. Biol.*, 2003, 51, 1, p. 143–152.

Oh J.T., Shin H.D. Taxonomic studies on the genus *Alternaria* in Korea (abstract) // *KSM News Letter*, 1999, 11, 1, p. 39.

Parada R.Y., Sakuno E., Mori N., Oka K., Egusa M., Kodama M., Otani H. *Alternaria brassicae* produces a host-specific protein toxin from germinating spores on host leaves // *Phytopathology*, 2008, 98, 4, p. 458–463.

Pelletier J.R., Fry W.E. Characterization of resistance to early blight in tree potato cultivars: incubated period, lesion expansion rate and spore production // *Phytopathology*, 1989, 79, 5, p. 511–517.

Pelletier J.R., Fry W.E. Characterization of resistance to early blight in tree potato cultivars: receptivity // *Phytopathology*, 1990, 80, 4, p. 361–366.

Plümper B. Somatische und sexuelle Hybridisierung für den Transfer von Krankheitsresistenzen auf *Brassica napus* L. (PHD Thesis) Free University of Berlin, Berlin, 1995.

Pratt R.G. Enhancement of sporulation in species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, and *Exserohilum* by growth on cellulose-containing substrates // *Mycopathologia*, 2006, 162, 2, p. 133–140.

Pryor B.M., Michailides T.J. Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio // *Phytopathology*, 2002, 92, 4, p. 406–416.

Rai B., Kolte S.J., Tiwari A.N. Evaluation of oleiferous Brassica germ plasm for resistance to *Alternaria* leaf blight // *Indian J. Mycol. Plant Pathol.*, 1976, 6, p. 76–77.

Rao E.S., Munshi A.D., Sinha P., Rajkumar Genetics of rate limiting disease reaction to *Alternaria solani* in tomato // *Euphytica*, 2008, 159, 1-2, p. 123–134.

Reifschneider F.J., Furumoto O., Filgueira F.A.R. Illustrated key for the evaluation of early blight of potatoes // *FAO Plant Prot. Bull.*, 1984, 32, 3, p. 91–93.

Rimmer S.R., Buchwaldt L. Diseases // *Brassica Oilseeds. Production and Utilization* / Eds D. Kimber, D. I. McGregor. Wallingford: CAB International, 1995, p. 111–140.

Rodriguez M.A.D., Brommonschenkel S.H., Matsuoka K., Mizubuti E.S.G. Components of resistance to early blight in four potato cultivars: effect of leaf position // *J. Phytopathol.*, 2006, 154, 4, p. 230–235.

Rotem J. The genus *Alternaria*. St.Paul, 1994, 326 p.

Schaefer S.C., Gasic K., Cammue B., Broekaert W., van Damme E.J., Peumans W.J., Korban S.S. Enhanced resistance to early blight in transgenic tomato lines expressing heterologous plant defense genes // *Planta*, 2005, 222, 5, p. 858–866.

Skoropad W.P., Tewari J.P. Field evaluation of the role of epicuticular wax in rapeseed and mustard in resistance to *Alternaria* blackspot // *Can. J. Plant Sci.*, 1977, 57, p. 1001–1003.

Singh A., Bhowmik T.P. Persistence and efficacy of some common fungicides against *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc., the causal agent of leaf blight of rape seed and mustard // *Indian Phytopathol.*, 1985, 38, p. 35–38.

Sharma G., Kumar V.D., Haque A., Bhat S.R., Prakash S., Chopra V.L. Brassica coenospecies: a rich reservoir for genetic resistance to leaf spot caused by *Alternaria brassicae* // *Euphytica*, 2002, 125, 3, p. 411–417.

Shivanna K.R., Sawhney V.K. Pollen selection for *Alternaria* resistance in oilseed brassicas: responses of pollen grains and leaves to a toxin of *A. brassicae* // *Theor. Appl. Genet.*, 1993, 86, 2-3, p. 339–344.

Shrestha S.K., Mathur S.B., Munk L. *Alternaria brassicae* in seeds of rapeseed and mustard, its location in seeds, transmission from seeds to seedlings and control // *Seed Sci. Technol.*, 2000, 28, 1, p. 75–84.

Siemens J. Interspecific hybridization between wild relatives and *Brassica napus* to introduce new resistance traits into the oilseed rape gene pool // *Czech. J. Genet. Plant Breed.*, 2002, 38, 3-4, p. 155–159.

Singh S.K., Singh U.P., Tuli L., Prithiviraj, Sarma B.K. Effect of spore concentration of *Alternaria tenuissima* on germination and development of germ tubes on host and nonhost // *Indian Phytopathol.*, 2000, 53, 4, p. 419–422.

Su X.J., Yu H., Zhou T., Li X.-Z., Gong J., Chu C.L. First Report of *Alternaria raphani* Causing Black Patches on Chinese Radish During Postharvest Storage in Canada // *Plant Dis.*, 2005, 89, 9, p. 1015.

Simmons E.G. *Alternaria* themes and variations (236-243) // *Mycotaxon*, 1999, 70, p. 325–369.

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

Tewari J.P. Current understanding of resistance to *Alternaria brassicae* in crucifers // *Proc. 8th Int. Rapeseed Congr.*, 9-11 July, Saskatoon, Canada, 1991, 2, p. 471–476.

Tewari, J.P., Bains P.S. Phytotoxins produced by *Alternaria brassicae* and bioassay of destruxin B. Pages 21-35 in: *Toxins in Plant Disease Development and Evolving Biotechnology*. K. Rajeev and K.G. Mukerji, eds. Science Publisher, Enfield, NH, 1997.

Tewari J.P., Skoropad W.P. relationship between epicuticular wax and black spot caused by *Alternaria brassicae* in three lines of rape seed // *Canad. J. Plant Sci.*, 1976, 56, p. 781–785.

Thirthamallappa, Lohithaswa H.C. Genetic of resistance to early blight (*Alternaria solani* Sorauer) in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) // *Euphytica*, 2000, 113, 3, p. 187–193.

Vakalounakis D.J. Evaluation of tomato cultivars for resistance to *Alternaria* blight // *Ann. Appl. Biol.*, 1983, 102, p. 138–139.

Vannacci G., Pecchia S. Location and transmission of seed-borne *Alternaria raphani* Groves et Skolko in *Raphanus sativus* L.: A case study // *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz.*, 1988, 24, 4. p. 305–315.

Vloutoglou T. Evaluation of tomato cultivars and hybrids for resistance to *Alternaria solani* infection // *Tests of Agrochemicals and Cultivars*, 1999, 20, p. 48–49.

Vloutoglou T., Kalogerakis S. Effects of inoculum, wetness duration and plant age of development of early blight (*Alternaria solani*) and on shedding of leaves in tomato plants // *Plant Pathol.*, 2000, 49, 3, p. 339–345.

Witsenboer H.M., Griend E.G., Tiersma J.B., Nijkamp H.J.J., Hille J. Tomato resistance to *alternaria* stem canker: localization in host genotypes and functional expression compared to non-host resistance // *Theor. Appl. Genet.*, 1989, 78, 4, p. 457–462.

Yu S.H. Korean species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Suwon: National Institute of Agricultural Science and Technology, 2001, 212 p.

Zhang L.P., Lin G.Y., Nino L.D., Foolad M.R. Mapping QTLs conferring early blight resistanc in a *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum* cross by selective genotyping // *Mol. Breeding*, 2003, 12, 1, p. 3–19.

Zitter T.A., Hsu L.W. Influence of temperature and fungicide on germination, growth, and virulence of *Ulocladium cucurbitae* on cucumber // *Phytopathology*, 1992, 82, 3, p. 358–362.

Ганнибал Ф.Б., Гасич Е.Л., Орина А.С. Оценка устойчивости селекционного материала крестоцветных и паслёновых культур к альтернариозам. Методическое пособие. Под ред. М.М.Левитина. СПб.: ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии. 2011. 50 с.

Gannibal Ph.B., Gasich E.L., Orina A.S. Evaluation of resistance of cruciferous and solanaceous crops to the alternarioses. A manual. Ed. M.M.Levitin. VIZR, St. Petersburg. 2011. 50 pp.

Научное издание. RIZO-печать
ИННОВАЦИОННЫЙ ЦЕНТР ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ
Лицензия ПЛД № 69-253. Подписано к печати 26 сентября 2011 г.