

ВИДЫ РОДА *STAGONOSPOROPSIS* В КАРАНТИННОМ ПЕРЕЧНЕ ЕАЭС, РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Копина Мария Борисовна, к.с.-х.н., старший научный сотрудник, начальник научно-методического отдела микологии и гельминтологии, ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»

Email: kopinamaria645@gmail.com

Синкевич Ольга Владимировна, к.б.н., научный сотрудник Карельского филиала ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»

Сурина Татьяна Александровна, к.б.н., старший научный сотрудник, начальник научного отдела молекулярно-генетических методов диагностики, ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»

Аннотация: В статье представлены результаты изучения фитопатологического состояния посадок картофеля, срезанных и горшечных хризантем. Даны описания карантинных и некарантинных видов грибов, выделенных с растений. Приводятся данные видовой идентификации микромицетов по морфологическим признакам и с помощью расшифровки нуклеотидных последовательностей.

Ключевые слова: карантинный объект, идентификация, аскохитоз хризантем, фомозная пятнистость, диагностика, фитосанитарные меры.

Организация Объединенных Наций определила 2020 год Международным годом охраны здоровья растений (International Year of Plant Health). Основная цель мероприятий текущего периода обратить внимание общественности как здоровое состояние растений влияет на биологическую безопасность стран, поддерживает экологическое равновесие в биосистемах, способствует укреплению экономики государства. Болезни растений вызывают значительные потери в сельскохозяйственном производстве. Согласно данным ФАО, ежегодно до 40% сельскохозяйственных культур погибает вследствие заселения вредителями и поражения болезнями растений. Особое значение отводится карантинным фитопатогенам, здесь выпадения растений и потери урожая могут достигать в некоторых случаях более 80% процентов, в денежном выражении это сотни миллиардов рублей [1].

Лучшим способом предотвращения распространения карантинных объектов на новые территории, снижением вредоносности в существующих ареалах являются фитосанитарные меры. Основной фитосанитарных мер является своевременное выявление и достоверная идентификация карантинных объектов.

В карантинном перечне ЕАЭС (Евразийского экономического союза) к представителям рода *Stagonosporopsis* относятся два вида: отсутствующий на территории РФ вид *S. andigena* (Turkensteen) Aveskamp, Gruyter & Verkley-возбудитель фомозной пятнистости листьев картофеля (черный ожог) и ограниченно распространенный в России *S. chrysanthemi* (F. Stevens) P.W. Crous, N. Vaghefi & P.W.J. Taylor.-возбудитель аскохитоза хризантем. Кроме стран, участниц ЕАЭС, эти виды регулируются странами Европы, Азии, Африки, Северной и Южной Америки и рядом региональных организации по карантину и защите растений [2]. Целью проводимых исследований являлась разработка методов идентификации двух видов *S. andigena* и *S. chrysanthemi*. Одна из задач заключалась в изучении культуральных признаков целевых видов и близкородственных видов, связанных с поражаемым растением хозяином.

Материалы и методы исследований

Растительный материал картофеля отбирали при фитосанитарных обследованиях в Люберецком районе Московской области, в Пушкинском районе, Ленинградской области, в Сараевском районе Рязанской области. Растительный материал хризантем отбирали при обследованиях организаций, занимающихся реализацией посадочного материала, срезанных и горшечных растений в республике Карелия и при обследовании насаждений в Ботаническом Саду-Институте ДВО РАН, Владивосток.

Микологические исследования растительных образцов проводили, согласно нормативной документации по идентификации вредных организмов, разработанных в ФГБУ «ВНИИКР».

Микроскопирование и морфометрию грибов проводили на микроскопе Axio Scope A1 «Carl Zeiss» с помощью программного обеспечения (ZEN) Zeiss Efficient Navigation, версия Lite. Морфологические признаки грибов сравнивали со стандартными описаниями, представленными в определительной литературе [3,4,5].

Для видовой идентификации проводили расшифровку нуклеотидных последовательностей участков генов (ITS, β -tubulin, actin gene) на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500. Сравнение полученных последовательностей данными в базе GeneBank проводили с использованием приложения BLAST.

Результаты исследований и обсуждения

При обследовании срезанных хризантем, посадочного материала хризантемы горшечной (происхождение Нидерланды) были отобраны пробы растений, имеющих признаки поражения грибными патогенами и увядания. Среди доминирующих видов в структуре микоценозов срезанных и горшечных цветов преобладали анаморфные грибы. Были выявлены возбудители, вызывающие увядание, различные пятнистости цветоносов, бутонов, стеблей и листьев. Это широко специализированные грибы, характеризующиеся регулярным появлением при избытке увлажнения и недостаточном уровне проветривания: *Botrytis cinerea* Pers., *Verticillium* sp., *Botryosporium* sp., *Geotrichum* sp. Кроме того, на листьях с симптомами

некрозов были выделены возбудители родов *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., и карантинный для РФ возбудитель белой ржавчины хризантем *Puccinia horiana* Hennings. А на соцветиях одного из образцов срезанных цветов хризантемы желтой крупноцветковой возбудитель *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Vary. Из отобранных образцов хризантемы Ботанического сада г. Владивосток были выделены 8 изолятов *S. chrysanthemi*. Начало роста колоний было отмечено на 3-й день. На 7 день образовался войлочный воздушный мицелий бледно-оливкового, ближе к серому цвета (Рисунок 1). Наблюдается зональность – образование концентрических колец. Диаметр колонии к этому времени составил около 55 мм. На 10 день колония приобрела дымчато-серый оттенок, образовались поверхностные пикниды.

При фитосанитарных обследованиях вегетирующего картофеля отбирали растения с типичными симптомами поражения фомозом. Основную часть выборки составляли листья с отдельными округлыми мелкими бурыми или темными пятнами разного размера. Как правило на пораженных листьях микрофлора была представлена комплексом видов.

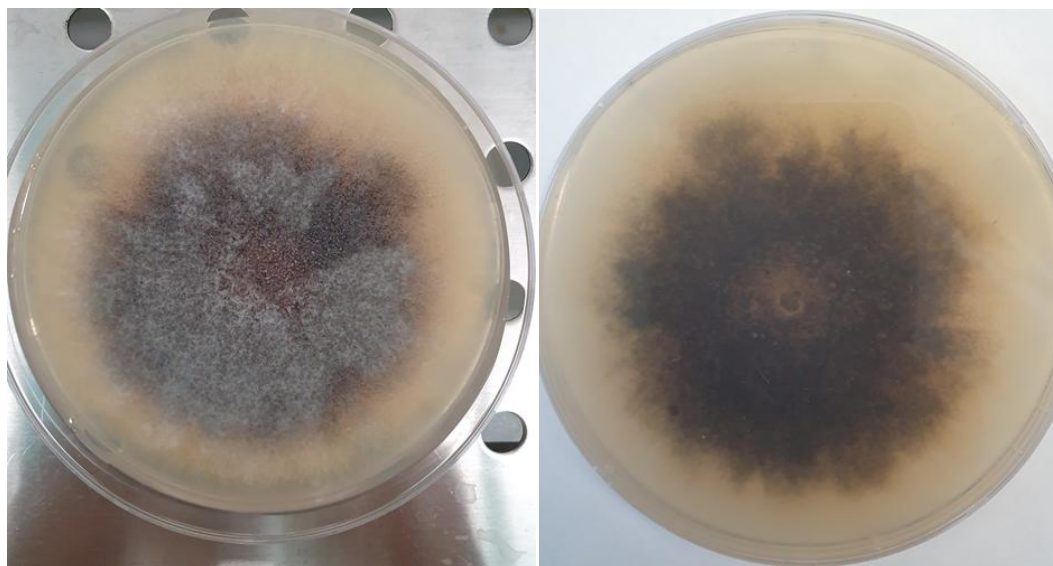


Рисунок 1 – Культура *S. chrysanthemi* на агарозной среде (фото О.В.Синкевич)

В результате проведенных исследований на пораженных листьях картофеля были идентифицированы виды *A. alternata*, *A. solani*, *A. tenuissima*, *Cladosporium herbarum*, *Didymella pinodella* (= *Phoma pinodella*), *Colletotrichum coccodes*, *Aerobasidium pululans*, *Fusarium meqyesi*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *Microsphaera sp.*, *Neoscyta exitialis*, *Epicoccum nigrum*, *Phoma sp.*, *P. herbarum*, *Boeremia sp.*, *B. foveata*, *B. exigua*, *Phytophthora infestans*. Карантинный объект *S. andigena* не был выявлен. Для культурально-морфологических и молекулярно-генетических исследований были отобраны таксоны: *D. pinodella*, (= *P. pinodella*), *Phoma sp.*, *P. herbarum*, *Boeremia sp.*, *B. foveata*, *B. exigua*, *Neoscyta exitialis*.

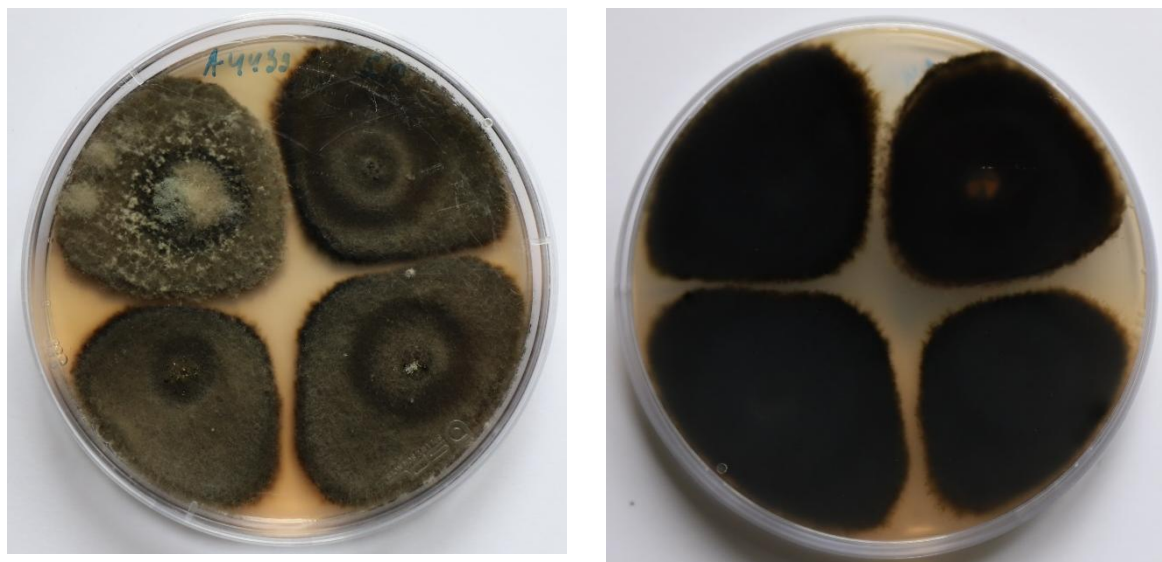


Рисунок 2 – Культуральные признаки *Boeremia foveata* (фото Копина М.Б.)

Наибольший интерес в флористических исследованиях посадок картофеля Ленинградской области представлял гриб *B. foveata*- возбудитель гангрены картофеля. Данный вид широко распространен в большинстве европейских стран, регулируется как карантинный организм в некоторых странах Африки, Северной и Южной Америки, Азии. На территории России значительное распространение имеет возбудитель фомозной гнили клубней *B. exiqua* (= *Phoma exiqua* var. *exiqua*), о выявлении близкородственной формы var *foveata* имеются единичные сообщения [6,7,8].

На питательной среде колонии *B. foveata* сначала светлые, со временем становятся - темноокрашенными. Мицелий воздушный, серый-темно-серый. Скорость роста умеренная. Многочисленные пикниды погруженные или полупогруженные. Пикниды размером (от 70-100 x 120-150 мкм). Одноклеточные конидии в пикнидах имели размеры 4 – 6.5 мкм длиной и 1.3 - 2 мкм шириной.

Все выделенные изоляты микромицетов, связанных с картофелем и хризантемой были депонированы в микологическую коллекцию ФГБУ «ВНИИКР». Чистые культуры грибов послужат основой для разработки оригинальных диагностических тест-систем для идентификации *S. andigena* и *S. chrysanthemi* методом классической ПЦР и ПЦР «в реальном времени» в фитосанитарных исследованиях.

Библиографический список

1. Нерсисян, А.Г. Международный год охраны здоровья растений – 2020. Здоровье растений как глобальная цель / А.Г. Нерсисян, А.С. Шамилов // Фитосанитария. Карантин растений. – № 1. – 2020. – С. 2-5.
2. База данных ЕОКЗР [Электронный ресурс]: URL: <http://gd.eppo.int/> (дата обращения: 30.10.2020).

3. Пидопличко, Н.М. Грибы - паразиты культурных растений. Грибы несовершенные. Определитель/Н.М. Пидопличко. – Киев: Изд-во «Наукова думка». - 1978. Т.3 - 290 с.
4. Voerema, G. N. *Phoma* identification manual /J de Gruyter, M.E. Noordeloos, M.E.C. Hamers. – 2004 – 448 p.
5. Q. Chen. Didymellaceae revisited / Q. Chen, L.W. Hou, W.J. Duan, P.W. Crous, L. Cai // *Studies in Mycology*. – Volume 87. – 2017.
6. Малюга А.А. Биологические особенности и видовой состав возбудителей фомозных и фузариозных гнилей картофеля и обоснование мер борьбы с ними в условиях Западной Сибири: Автореф. дис. . канд. с/х. наук. Новосибирск, 1993. - 17с.
7. Заверткина, И.В. Биологические особенности Сибирской популяции *Phoma exigua* var. *foveata* и совершенствование системы защиты картофеля от фомо-за: автореф. дисс.... канд. с.-х. наук: 06.01.11 / Заверткина И.В. - Новосибирск, 2007. - 14 с.
8. Пилипова Ю.В., Шалдяева Е.М. Болезни картофеля при хранении в Западной Сибири. – Новосибирск: СибУПК, 2012. – 143 с.

Species of the genus stagonosporopsis in the eaeu quarantine list, development of species identification methods

Kopina M.B., PhD in Agricultural Sciences

Sinkevich O.V., PhD in Biology

Surina T.A., PhD in Biology

All-Russian Center for Plant Quarantine

140150, Russia, Moscow region, Ramenskoye district, Ramenskoye, Bykovo, Pogranichnaya str., 32

Abstract: *The article presents the results of the study of the phytopathological condition of plantations potatoes, cut and potted chrysanthemums. Descriptions of quarantine and non-quarantine fungi species isolated from plants are given. Data on species identification of micromycetes by morphological characteristics and nucleotide sequence decoding are specified.*

Key words: *quarantine object, identification, flower blight of chrysanthemum, phoma leaf spot of potato, diagnostics, phytosanitary measures.*