

Галина Валентиновна Якуба¹, Андрей Иванович Насонов^{2✉}, Елена Валерьевна Устюгова³, Вадим Анатольевич Шамрай⁴, Иван Анатольевич Гарезин⁵

^{1,2}Северо-Кавказский ФНЦ садоводства, виноградарства и виноделия, Краснодар, Россия

^{3,4}ООО «Компания Агропрогресс», Краснодар, Россия

⁵СХ АО «Новомихайловское», пгт Новомихайловский, Туапсинский район, Краснодарский край, Россия

¹galyayaku@gmail.com

²nasoan@mail.ru

³ustyugova@agroprogress.org

⁴shamray@agroprogress.org

⁵i@garezzzin.ru

ПЕРВОЕ СООБЩЕНИЕ О *MARSSONINA CORONARIA* (ELLIS & DAVIS) DAVIS НА ЯБЛОНЕ ДОМАШНЕЙ НА ЮГЕ РОССИИ

Цель исследования – идентификация возбудителя пятнистости неизвестной этиологии, поразившей в 2019–2023 г. листья и плоды яблони в насаждениях Краснодарского края. Проведена идентификация возбудителя пятнистости неизвестной этиологии, поразившей в 2019–2023 гг. листья яблони в насаждениях Краснодарского края. Причиной заболевания оказался возбудитель марссониоза – гриб *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis. Это является первым случаем идентификации данного фитопатогена на яблоне в России. Согласно литературным данным, заболевание вызывает преждевременную дефолиацию с потерей от 20 до 40 % листьев. В условиях Краснодарского края на листьях и плодах в результате поражения грибом образуются пятна нескольких типов. Наиболее часто встречаются пятна от темно-зеленых до темно-коричневых или черных, лучистые – состоящие из разветвленных и веерообразно расходящихся гиф. Пятна второго типа темно-зеленые, затем коричневые, округлые. Реже образуются фиолетово-бурые пятна, по форме удлиненные, расплывчатые, не отделенные резко от здоровой ткани. В регионе первые признаки проявления марссониоза на листьях отмечаются в III декаде мая – I декаде июня. Срок образования ацервул был отмечен в 2019–2021 гг. в III декаде июля, в 2022–2023 гг. – в III декаде июня. Конидии *M. coronaria* имеют размеры в пределах 12~25 × 3~8 мкм. По форме они ампуловидные, прямые или слегка изогнутые, состоящие из двух клеток разного размера, слегка суженные в перегородке. Колонии моноспоровых изолятов морщинистые, цвет от темного серо-коричневого до черного, без воздушного мицелия, диаметр от 5 до 9 мм на картофельно-пептонном глюкозном агаре после инкубации в течение 40 дней в темноте при 22 °С. Искусственное заражение саженцев яблони сорта Голден Делишес инокуляцией спор, выделенных из изолятов гриба, и последующая реинкуляция из зараженных листьев в чистую культуру подтвердила патогенность гриба.

Ключевые слова: пятнистость яблони, *Marssonina coronaria*, морфолого-культуральные признаки, искусственное заражение

Для цитирования: Первое сообщение о *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis на яблоне домашней на юге России / Г.В. Якуба [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2024. № 9. С. 49–55. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-9-49-55.

Galina Valentinovna Yakuba¹, Andrey Ivanovich Nasonov^{2✉}, Elena Valerievna Ustyugova³,
Vadim Anatolyevich Shamrai⁴, Ivan Anatolyevich Garezin⁵

^{1,2}North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture and Winemaking, Krasnodar, Russia

^{3,4}OOO Company Agroprogress, Krasnodar, Russia

⁵Agricultural enterprise AO Novomikhailovskoye, Novomikhailovsky settlement, Tuapse District, Krasnodar Region, Russia

¹galyayaku@gmail.com

²nasoan@mail.ru

³ustyugova@agroprogress.org

⁴shamray@agroprogress.org

⁵i@garezzzin.ru

FIRST REPORT OF *MARSSONINA CORONARIA* (ELLIS & DAVIS) DAVIS ON AN APPLE TREE IN SOUTHERN RUSSIA

The aim of the study is to identify the causative agent of spotting of unknown etiology that affected apple leaves and fruits in the orchards of the Krasnodar Region in 2019–2023. The causative agent of spotting of unknown etiology that affected apple leaves in the orchards of the Krasnodar Region in 2019–2023 was identified. The cause of the disease was the causative agent of marssoniosis, the fungus *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis. This is the first case of identifying this phytopathogen on an apple tree in Russia. According to literature, the disease causes premature defoliation with a loss of 20 to 40 % of leaves. In the conditions of the Krasnodar Region, several types of spots are formed on leaves and fruits as a result of damage by the fungus. The most common spots are dark green to dark brown or black, radiant – consisting of branched and fan-shaped diverging hyphae. The spots of the second type are dark green, then brown, round. Less frequently, purple-brown spots are formed, elongated in shape, vague, not sharply separated from healthy tissue. In the region, the first signs of *Marssonioidea* on leaves are noted in the third decade of May - first decade of June. The period of formation of acervules was noted in 2019–2021 in the third decade of July, in 2022–2023 – in the third decade of June. Conidia of *M. coronaria* have sizes within 12~25 × 3~8 μm. In shape, they are ampullate, straight or slightly curved, consisting of two cells of different sizes, slightly narrowed at the septum. Colonies of monospore isolates are wrinkled, dark grey-brown to black in colour, without aerial mycelium, 5 to 9 mm in diameter on potato peptone glucose agar after incubation for 40 days in the dark at 22 °C. Artificial infection of Golden Delicious apple tree seedlings with an inoculum of spores isolated from fungal isolates and subsequent re-isolation from infected leaves into a pure culture confirmed the pathogenicity of the fungus.

Keywords: apple blotch, *Marssonina coronaria*, morphological and cultural characteristics, artificial infection

For citation: First report of *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis on an apple tree in southern Russia / G.V. Yakuba [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2024;(9): 49–55 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-9-49-55.

Введение. Марссониоз яблони (Apple marssonina leaf blotch – AMLB) – опасное заболевание культуры, которое приводит к огромным потерям при производстве яблок во всем мире, особенно в азиатском регионе [1]. Заболевание в основном вызывает преждевременную дефолиацию с потерей от 20 до 40 % листьев [2]. Возбудителем, вызывающим эту пятнистость, является *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis (син. *Marssonina mali*), которая относится к царству *Fungi*, отделу *Ascomycota*, классу *Leotiomycetes*, порядку *Helotiales*, семейству

Dermateaceae, роду *Marssonina*. Из литературных источников следует, что впервые гриб был описан в 1903 г. в США и вскоре после этого, в 1907 г. – в Японии, как патоген, вызывающий пятнистость листьев яблони, поражение которой привело к преждевременному массовому опадению листьев и существенным потерям урожая [3]. В настоящее время гриб наиболее распространен в странах Азии. А также болезнь зарегистрирована в Канаде, Южной Америке; в Европе впервые была обнаружена в 2001 г. – в Италии, в 2010 г. – в Германии, в 2011 г. –

в Австрии и Швейцарии. Прежде всего, марссоноз наиболее вредоносен в садах органического земледелия, где количество фунгицидных обработок минимально, поскольку используются в основном устойчивые к парше сорта [1, 2].

Возбудитель является биотрофом. Цикл развития гриба еще окончательно не изучен. Патоген зимует на опавших листьях, на которых осенью образуются плодовые тела половой стадии *Diplocarpon mali* Y. Harada & K. Sawamura – апотеции, содержащие аскоспоры, являющиеся первичным источником инфекции. Прорастание аскоспор начинается при 5 °С. Однако в условиях Европы образование апотециев не доказано. Распространение гриба осуществляется вторичной инфекцией – с помощью ветра и влаги конидиями, но, возможно, и первичной инфекцией – акоспорами [4, 5].

Цель исследования – идентификация возбудителя пятнистости неизвестной этиологии, поразившей в 2019–2023 г. листья и плоды яблони в насаждениях Краснодарского края.

Объекты и методы. Исследования проводили в садовых насаждениях Краснодарского края и лабораториях биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов ФГБНУ СКФНЦСВВ и ООО «Компания Агропрогресс». Объектами исследования служили пораженные пятнистостью листья сортов яблони Джонаголд, Гала и клоны, Голден Делишес, Голден Резистент, Голд Раш, Флорина. Идентификацию возбудителя проводили сочетанием методов: визуальной диагностики в полевых условиях; микроскопии микроструктур гриба; морфолого-культурального – выделение возбудителя в чистую культуру на агаризованной питательной среде с последующим изучением признаков.

Чистую моноспоровую культуру получали путем отсева проросших спор с поверхности водного агара на питательную среду КПГА (картофельно-пептонный глюкозный агар; 200 г картофеля, 20 г пептона, 20 г глюкозы, 20 г агара и 1,0 л дистиллированной воды) с добавлением антибиотиков тетрациклина (25 мг/л) и хлорамфеникола (25 мг/л) для исключения бактериального роста. Микроскопические исследования выполняли с помощью микроскопа Olympus BX41, оснащенного видеоокулярom DCM–130. Инкубирование моноспоровых посевов проводили при 22 °С. Морфологию колоний и цвет изолятов на средах оценивали после 40 дней инкубации. Для споруляции культуру выдерживали при 12-часовом режиме чередования света и темноты. Измерение спор осуществляли под

микроскопом с использованием калиброванного окулярного микрометра, проводя замер 10–15 спор.

Проверку микромицета на патогенность проводили путем инокуляции листьев двухлетних саженцев яблони в условиях фитотрона суспензией конидий, используя метод, предложенный T. Wöhner et al. [6] с модификациями. Смесь для заражения получали следующим образом. Сорочкадневный моноспоровый изолят соскабливали скальпелем со среды КПГА, гомогенизировали в 20 мл стерильной воды и фильтровали через 4 слоя марли. Полученную суспензию концентрировали центрифугированием. Осадок спор суспензировали в 2 мл стерильной воды и в объеме 0,5 мл вносили на поверхность свежей среды КПГА, распределяя шпателем Дригальского. Посев инкубировали при 25 °С в течение 30 дней. Процедуру по получению суспензии спор из посева повторяли. В смеси определяли количество спор с использованием камеры Горяева. Перед заражением в инокулум добавляли 0,001 % Твин 80 и доводили до конечной концентрации $1 \cdot 10^6$ /мл. Листья саженцев сорта Голден Делишес в условиях фитотрона опрыскивали с обеих сторон смесью спор, оборачивали влажными бумажными полотенцами и накрывали полиэтиленовыми пакетами для создания 100 %-й влажности. Через 72 ч пакеты и влажные полотенца удаляли с инокулированных листьев, и саженцы переносили на вегетационную площадку. Развитие признаков заболевания оценивали в разные дни после инокуляции. Выделение чистой культуры из искусственно зараженных листьев завершало триаду Коха.

Результаты и их обсуждение. По совокупности симптомов поражения листьев и культурально-морфологических признаков чистых культур возбудитель пятнистости листьев яблони был идентифицирован как *Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis.

На территории Краснодарского края признаки проявления болезни были выявлены на листьях яблони сорта Голден Резистент в центральной подзоне прикубанской зоны садоводства, с 2021 г. – в других зонах садоводства: Северной, Предгорной и Черноморской. В южном регионе мы впервые обнаружили *M. coronaria* в коллекционных насаждениях диких форм яблони (*Malus baccata*) в Республике Адыгея в 2016 г. На яблоне домашней болезнью поражаются листья и плоды. На листьях и плодах в результате поражения грибом образуются

пятна нескольких типов, что согласуется с литературными данными [5]. Наиболее часто встречаются пятна от темно-зеленых до темно-коричневых или черных, лучистые – состоящие из разветвленных и веерообразно расходящихся гиф (рис. 1, А, Б, В). Второй тип: пятна второго типа темно-зеленые, затем коричневые, округлые (рис. 1, Г, Д, Е). Реже образуются фиолетово-бурые пятна, по форме удлиненные, расплывчатые, не отделенные резко от здоровой ткани (рис. 1, Ж).

Через 15–20 дней после появления пятнистости на листьях образуются хлоротические участки или полностью пожелтевшие площади.

На листьях пятна образуются на верхней поверхности, по мере прогрессирования заболевания пятна сливаются, затем на пораженной ткани образуются черные округлые подушечки – споролоча, или ацервулы, расположенные под эпидермисом листа (рис. 2, А, Б, В, Г). Листья раньше времени желтеют, во второй половине лета на высоковосприимчивых к болезни сортах – Гала и клоны, Голд Раш, Голден Делишес, Флорина – может наблюдаться сильный листопад (рис. 3). Заболевание выявлено также на сортах Голден Резистент, Джонаголд, Джонапринц и Ренет Симиренко.

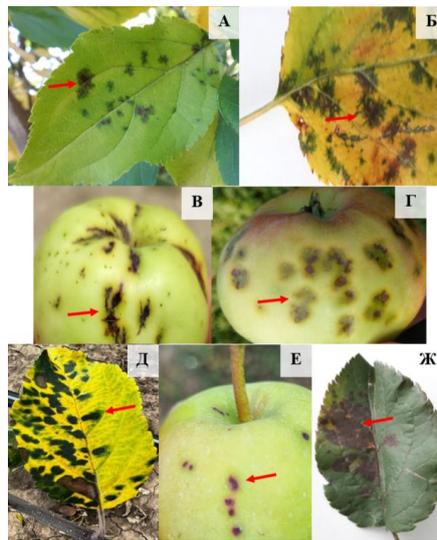


Рис. 1. Признаки проявления марссониоза яблони на листьях и плодах (стрелками показаны пятна заболевания)

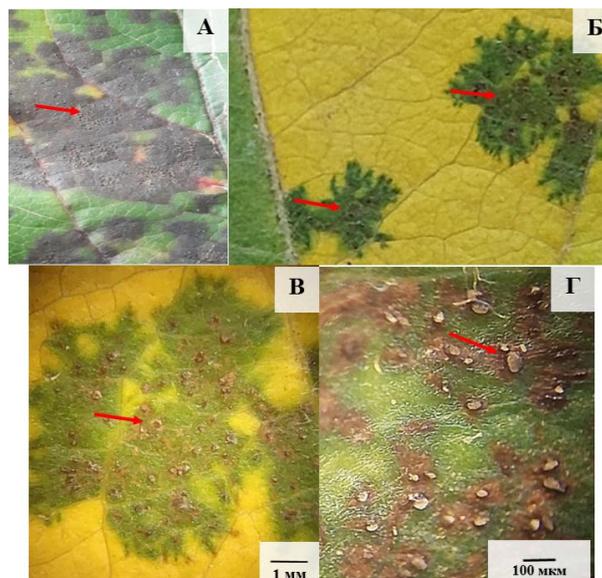


Рис. 2. Развитие ацервул на пораженных марссониной листьях яблони (стрелками показаны ацервулы патогена)

Наиболее благоприятным условием развития болезни является продолжительный период высокой влажности, когда листья долгое время остаются мокрыми в сочетании с умеренными температурами (20–25 °С), что может вызвать эпифитотию болезни. В Краснодарском крае первые

признаки проявления марссониоза на листьях отмечаются в III декаде мая – I декаде июня. Срок образования ацервул был отмечен в 2019–2021 гг. в III декаде июля, в 2022–2023 гг. – в III декаде июня.



Рис. 3. Дерево яблони сорта Флорина с признаками дефолиации из-за сильного развития марссониоза

Морфометрический анализ показал, что размер конидий колебался в пределах 12~25 × 3~8 мкм (см. рис. 1, Б). Размер и форма конидий соответствовали описанным в литературе для

M. coronaria [5, 6]. По форме конидии ампуло-видные, прямые или слегка изогнутые, состоящие из двух клеток разного размера, слегка суженные в перегородке (рис. 4).

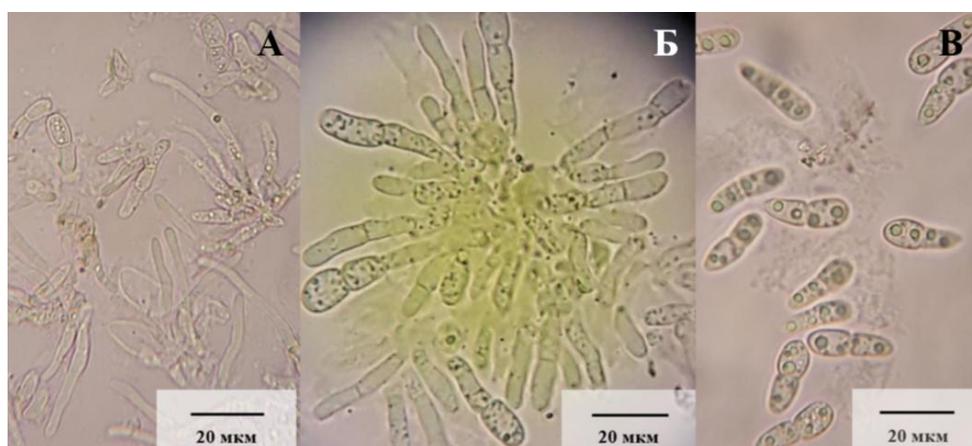


Рис. 4. Морфологические характеристики гриба *Marssonina coronaria*, выделенного с листьев яблони: А – конидиеносцы; Б – конидиогенез; В – конидии

Все полученные моноспоровые изоляты имели схожие культуральные характеристики: колонии морщинистые, цвет от темного серо-коричневого до черного; воздушный мицелий

отсутствовал; диаметр от 5 до 9 мм на КПГА после инкубации в течение 40 дней в темноте при 22 °С (рис. 5). Описанные признаки соответствуют данным литературных источников [7].

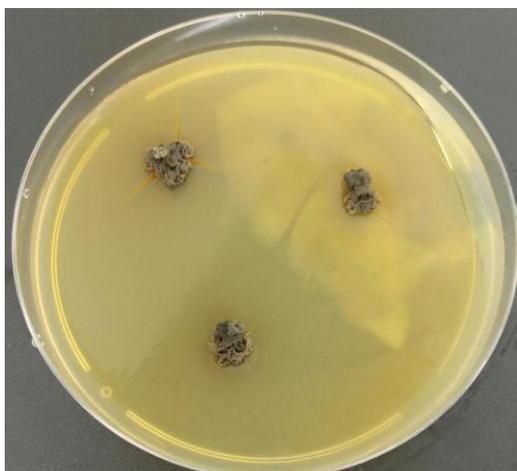


Рис. 5. Моноспоровая культура гриба *Marssonina coronaria*, выделенного с листьев яблони на среде КПГА (чашка Петри, диаметр 90 мм)

В эксперименте по оценке патогенных свойств выделенного гриба видимые симптомы были обнаружены на верхней поверхности листьев на 9–11-й день после инокуляции. Симптомы проявлялись в виде мелких пятен темного цвета. На 15–18-й день отмечалось развитие ацервул и хлороз тканей листа. Реинокуляция патогена из искусственно зараженных листьев в чистую культуру показала соответствие культуральных характеристик исходному изоляту, что подтверждает патогенность гриба.

Заключение. Проведена идентификация возбудителя пятнистости неизвестной этиологии, поразившей в 2019–2023 г. листья яблони в насаждениях Краснодарского края. Причиной заболевания являлся гриб *Marssonina coronaria*. На листьях и плодах в результате поражения грибом образуются пятна нескольких типов. В регионе первые признаки проявления марссониоза на листьях отмечаются в III декаде мая – I декаде июня. Срок образования ацервул был отмечен в 2019–2021 гг. в III декаде июля, в 2022–2023 гг. – в III декаде июня. Можно прогнозировать, что в условиях Краснодарского края опасность болезни будет нарастать в связи с изменением погодно-климатических условий, а именно при выпадении большого количества осадков и пониженном температурном режиме в мае-июне, также отсутствием специальных обработок против *M. coronaria* на устойчивых и иммунных к парше сортах.

Список источников

1. An empirical assessment of the economic damage caused by apple *Marssonina* blotch and pear scab outbreaks in Korea / D. Kwon [et al.] // Sustainability 2015. V.7 P. 16588–16598. DOI: 10.3390/su71215836.
2. Wöhner T., Emeriewen O.F. Apple blotch disease (*Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis) – review and research prospects // Eur. J. Plant Pathol. 2019. V. 153. № 3. P. 657–669.
3. Multiplexed SSR marker analysis of *Diplocarpon coronariae* reveals clonality within samples from Middle Europe and genetic distance from Asian and North American isolates / T. Oberhänsli [et al.] // CABI Agriculture and Bioscience. 2021. V. 2. № 1. P. 21. DOI: 10.1186/s43170-021-00039-6.
4. Monitoring Spore Dispersal and Early Infections of *Diplocarpon coronariae* Causing Apple Blotch Using Spore Traps and a New QPCR Method / C. Boutry [et al.] // Phytopathology. 2023. V. 113(3). P. 470–483. DOI: 10.1094/PHYTO-05-22-0183-R.
5. Resistance to *Marssonina coronaria* and *Alternaria alternata* apple pathotype in the major apple cultivars and rootstocks used in China / Y. Li [et al.] // HortScience. 2012. V. 47. № 9. P. 1241–1244. DOI: 10.21273/HORTSCI.47.9.1241.

6. Evaluation of Malus gene bank resources with German strains of *Marssonina coronaria* using a greenhouse-based screening method / T. Wöhner [et al.] // Eur. J. Plant Pathol. 2019. V. 153. № 3. P. 743–757. DOI: 10.1186/1477-5956-12-7.
7. Biological characterization of *Marssonina coronaria* associated with apple blotch disease / D.H. Lee [et al.] // Mycobiology. 2011. V. 39. № 3. P. 200–205. DOI: 10.5941/MYCO.2011.39.3.200.
4. Monitoring Spore Dispersal and Early Infections of *Diplocarpon coronariae* Causing Apple Blotch Using Spore Traps and a New QPCR Method / C. Boutry [et al.] // Phytopathology. 2023. V. 113(3). P. 470–483. DOI: 10.1094/PHYTO-05-22-0183-R.
5. Resistance to *Marssonina coronaria* and *Alternaria alternata* apple pathotype in the major apple cultivars and rootstocks used in China / Y. Li [et al.] // HortScience. 2012. V. 47. № 9. P. 1241–1244. DOI: 10.21273/HORTSCI.47.9.1241.
6. Evaluation of Malus gene bank resources with German strains of *Marssonina coronaria* using a greenhouse-based screening method / T. Wöhner [et al.] // Eur. J. Plant Pathol. 2019. V. 153. № 3. P. 743–757. DOI: 10.1186/1477-5956-12-7.
7. Biological characterization of *Marssonina coronaria* associated with apple blotch disease / D.H. Lee [et al.] // Mycobiology. 2011. V. 39. № 3. P. 200–205. DOI: 10.5941/MYCO.2011.39.3.200.

References

1. An empirical assessment of the economic damage caused by apple Marssonina blotch and pear scab outbreaks in Korea / D. Kwon [et al.] // Sustainability 2015. V.7 P. 16588–16598. DOI: 10.3390/su71215836.
2. Wöhner T., Emeriewen O.F. Apple blotch disease (*Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis) – review and research prospects // Eur. J. Plant Pathol. 2019. V. 153. № 3. P. 657–669.
3. Multiplexed SSR marker analysis of *Diplocarpon coronariae* reveals clonality within samples from Middle Europe and genetic distance from Asian and North American isolates / T. Oberhänsli [et al.] // CABI Agriculture and Bioscience. 2021. V. 2. № 1. P. 21. DOI: 10.1186/s43170-021-00039-6.

Статья принята к публикации 27.08.2024 / The article accepted for publication 27.08.2024.

Информация об авторах:

Галина Валентиновна Якуба¹, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов, кандидат биологических наук

Андрей Иванович Насонов², заведующий лабораторией биотехнологического контроля фитопатогенов и фитофагов, кандидат биологических наук

Елена Валерьевна Устюгова³, старший специалист отдела технического маркетинга ООО «Компания Агропрогресс»

Вадим Анатольевич Шамрай⁴, руководитель отдела технического маркетинга ООО «Компания Агропрогресс»

Иван Анатольевич Гарезин⁵, главный агроном СХ АО «Новомихайловское»

Information about the authors:

Galina Valentinovna Yakuba¹, Senior Researcher, Laboratory of Biotechnological Control of Phytopathogens and Phytophages, Candidate of Biological Sciences

Andrey Ivanovich Nasonov², Head of the Laboratory of Biotechnological Control of Phytopathogens and Phytophages, Candidate of Biological Sciences

Elena Valerievna Ustyugova³, Senior Specialist at the Technical Marketing Department of OOO Company Agropgress

Vadim Anatolyevich Shamrai⁴, Head of Technical Marketing Department of OOO Company Agropgress

Ivan Anatolyevich Garezin⁵, Chief Agronomist at the Agricultural Enterprise of AO Novomikhailovskoye