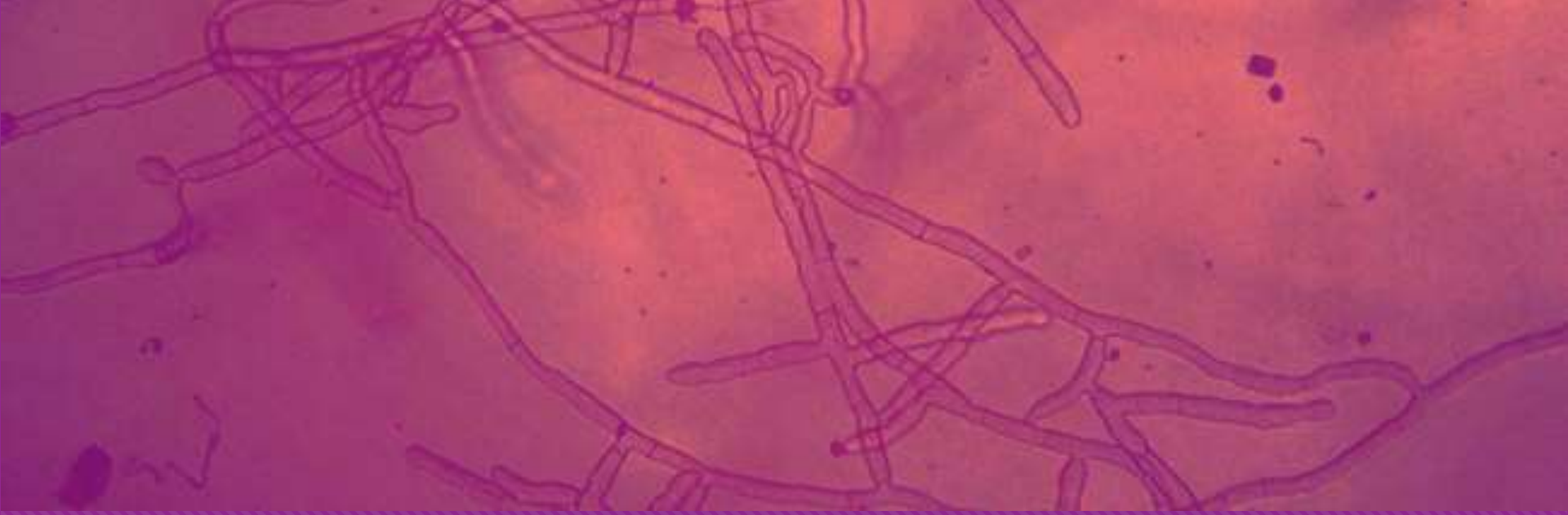




Внутривидовое разнообразие *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn

Выпускная квалификационная работа

студентки 4 курса **Ярмеевой Марии Маратовны**

научные руководители д.б.н. **Еланский Сергей Николаевич**

к.б.н. **Кокаева Людмила Юрьевна**

Ризоктониоз

Rhizoctonia solani J.G.Kühn
(телеоморфа – *Thanatephorus*
cucumberis (A.B.Frank) Donk) –
возбудитель ризоктониоза,
одного из самых опасных
заболеваний картофеля.



Цели и задачи

Цель работы – изучение внутривидового разнообразия фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

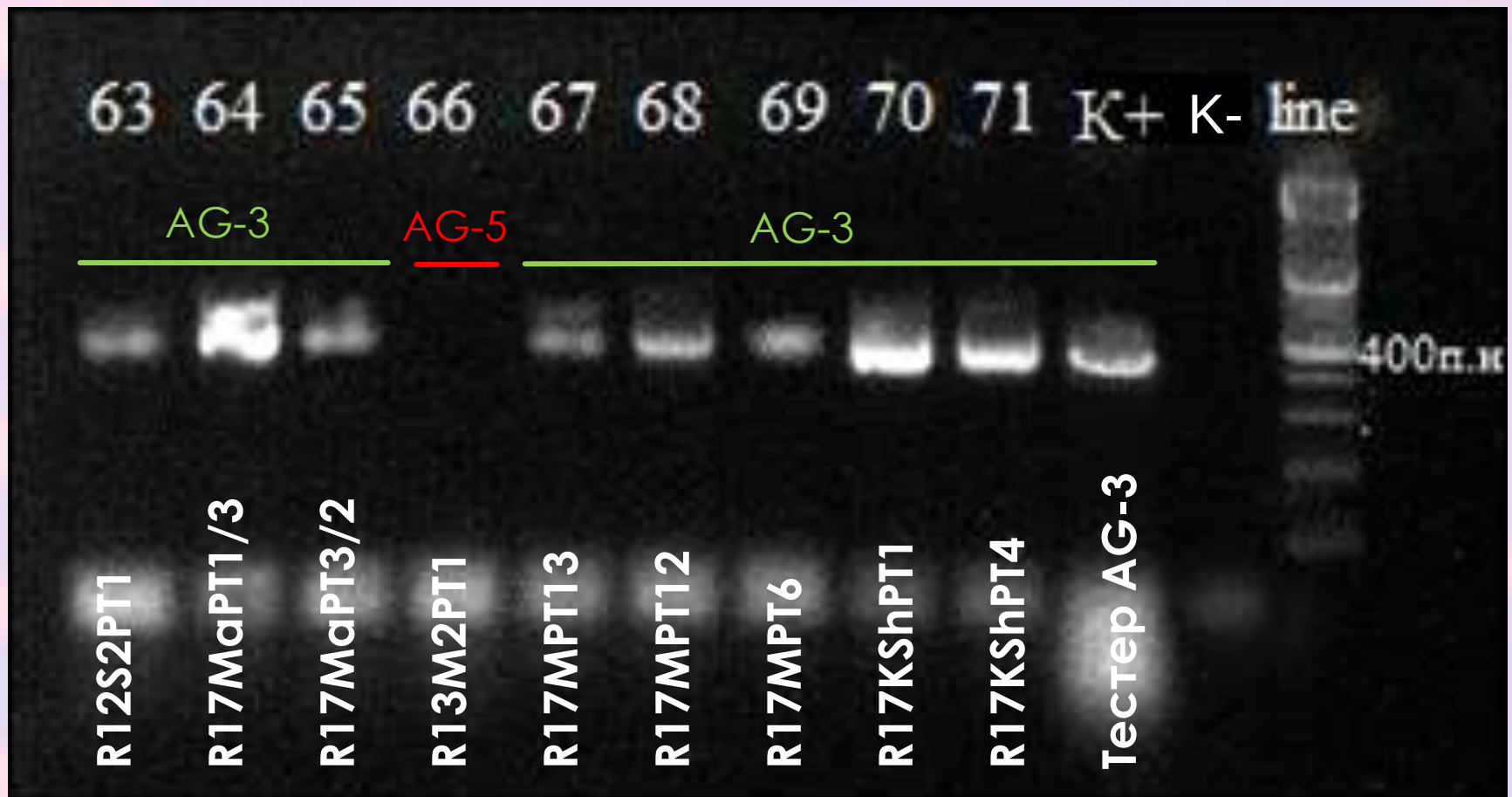
- выделение из клубней картофеля штаммов *R. solani*, пополнение и поддержание коллекции,
- определение анастомозных групп штаммов *R. solani*,
- изучение влияния фунгицидов на штаммы *R. solani*,
- оценка агрессивности штаммов *R. solani*,
- изучение внутривидового разнообразия по специфичным участкам генома (ITS и *tef-1 α*).

Происхождение изолятов

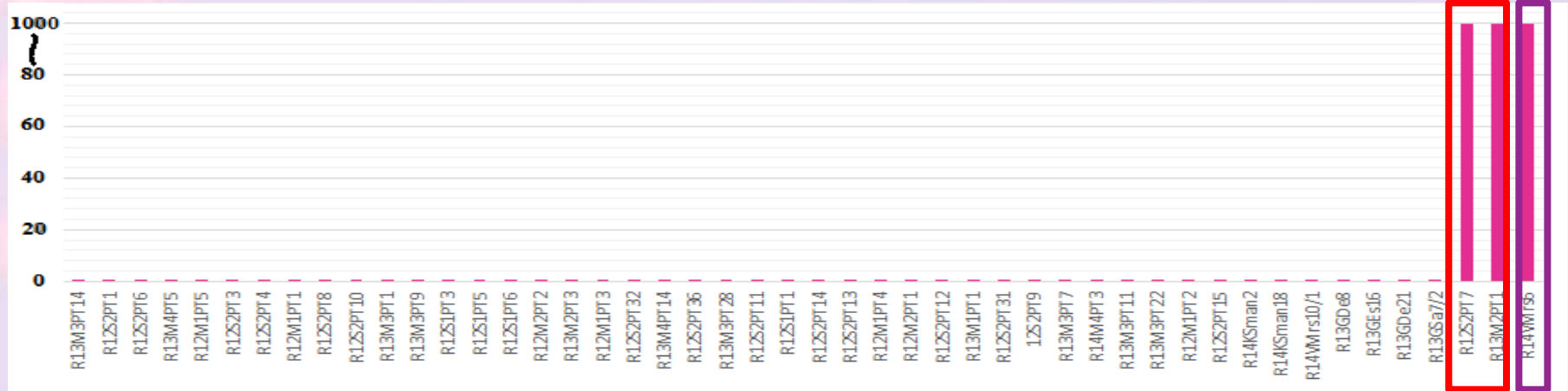
Год	Регион сбора	Код места сбора и года	Проанализировано штаммов			
			ITS	tef-1 ^α	Устойчивость к пенцикурону	Агрессивность к картофелю
2012	Смоленская обл.	R12S1-2	7	2	20	5
	Московская обл.	R12M1	1	1	5	1
	Тульская обл.	R12T	1	0	0	0
2013	Московская обл.	R13M1-5	13	4	13	3
	Германия	R13G	8	4	4	4
2014	Владимирская обл.	R14VM	6	2	2	2
	Костромская обл.	R14KS	12	3	2	2
2017	Московская обл.	R17MSh	1	0	1	0
	Костромская обл.	R17KSh	2	0	6	0
Всего			51	15	53	17

Определение AG-3 с помощью ПЦР

Электрофореграмма продуктов амплификации с праймерами PPT1 и PPT2



Устойчивость к пенцикурону



чувствительный
штамм
(R13GSa7/2)



контроль

устойчивый
штамм
(R13M2PT1)



концентрация
пеницикурона

0,1 мг/л

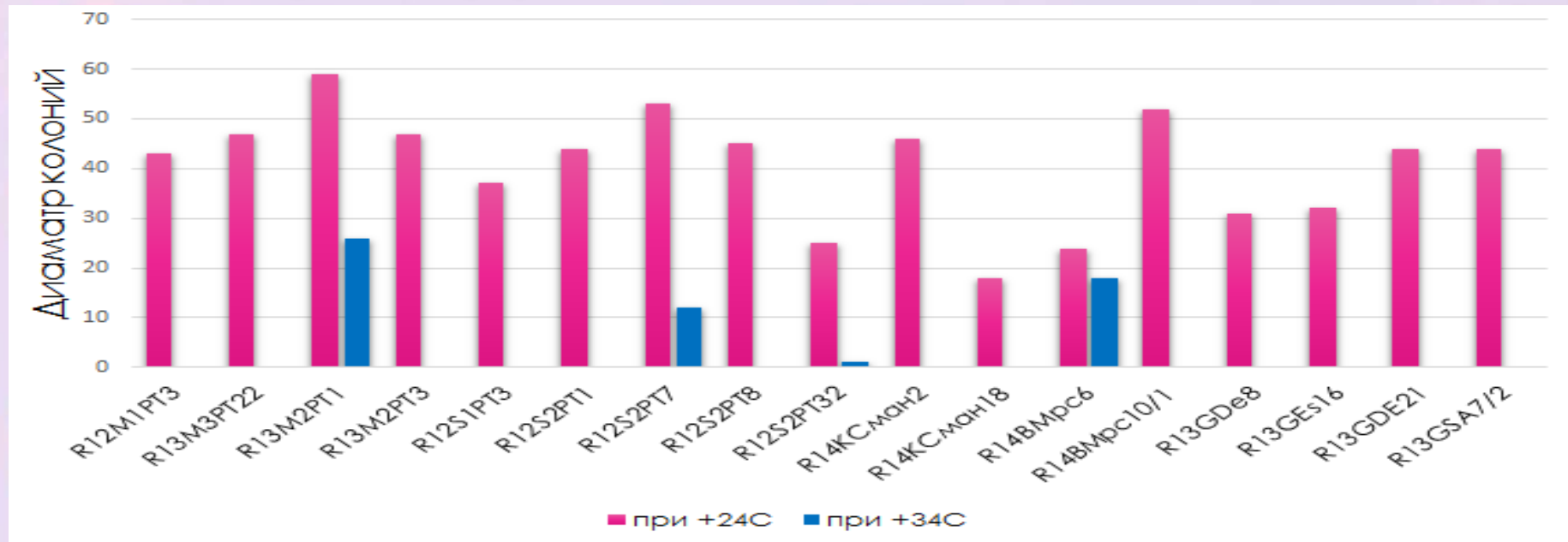
1 мг/л

10 мг/л

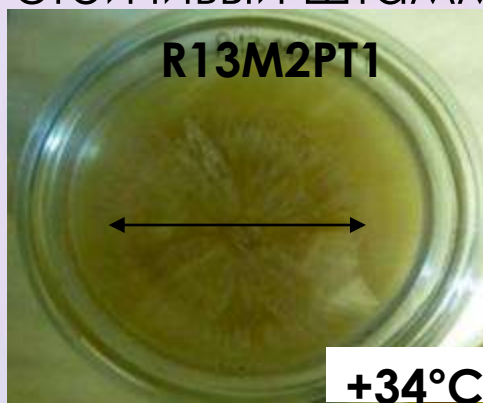
100 мг/л

1000 мг/л

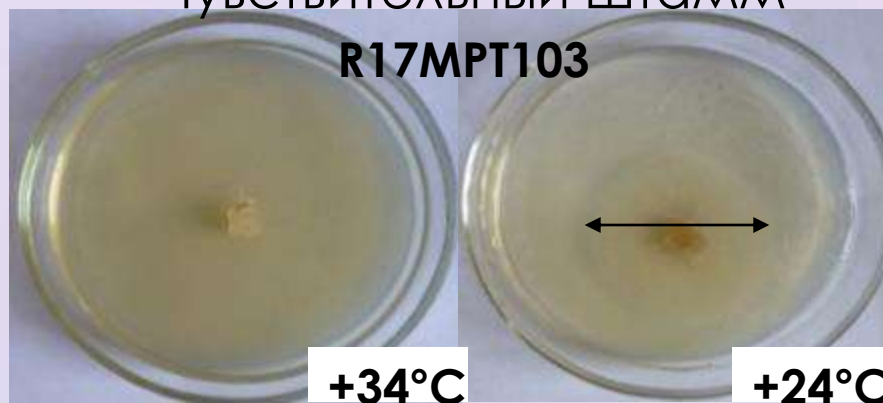
Устойчивость к высоким температурам



Диаметр колоний на вторые сутки роста
Устойчивый штамм



Чувствительный штамм



Агрессивность к картофелю



парафин

стебель картофеля

агаровый блок с мицелием
изолята, помещенный в
стерильную воду

**Индекс Агрессивности =
длина распространения
мицелия (мм) x балл
обрастания.**

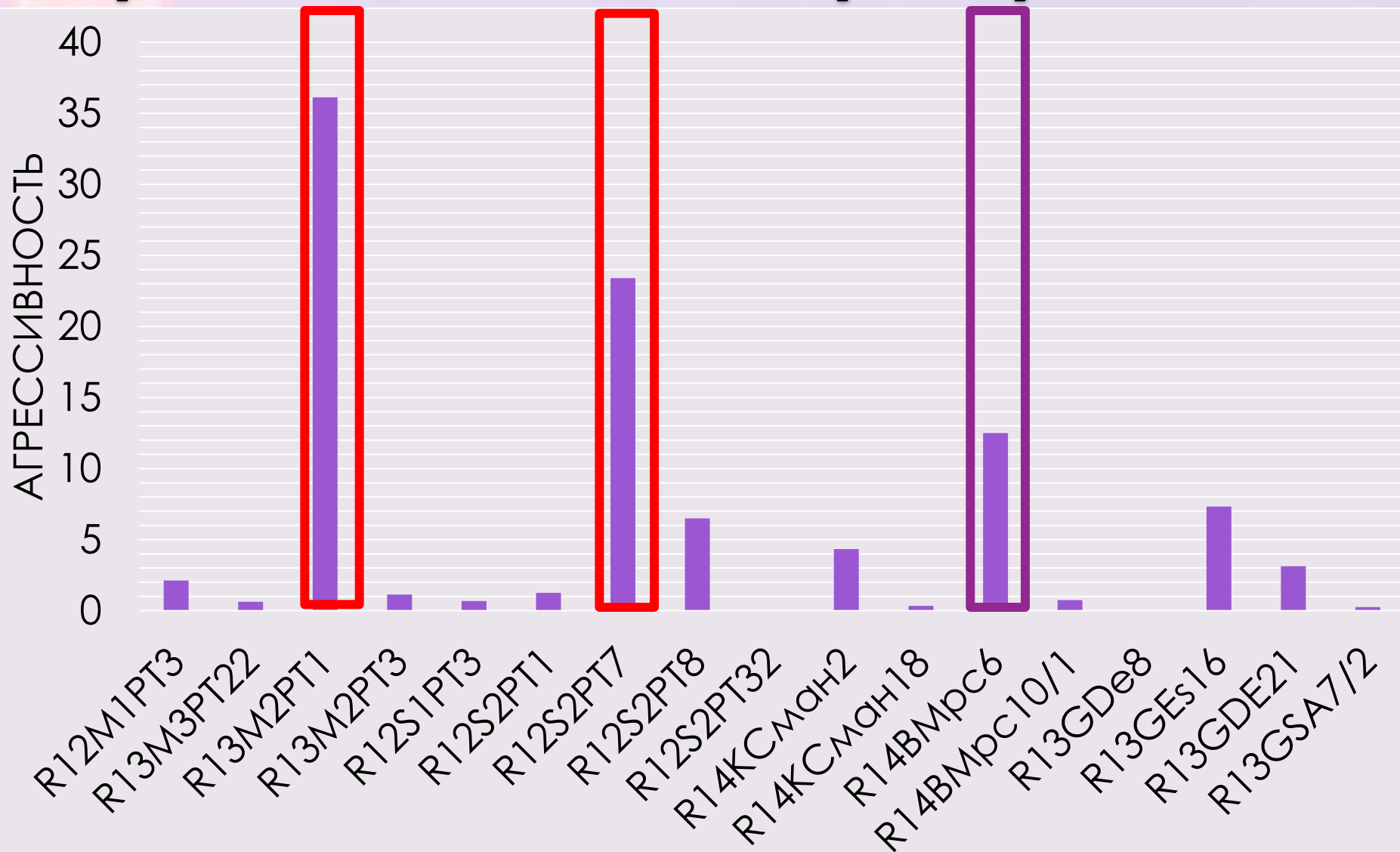
(Балл обрастания: 0 – нет
видимого мицелия,
5 – плотный слой мицелия по
всей длине зоны поражения)



агрессивный
штамм

контроль

Агрессивность к картофелю



Тест на сорте Волат. Протестировано 17 штаммов.

Агрессивность к рапсу



Тест на агрессивность к проросткам рапса проводили на 2% водном агаре. Количество пораженных проростков учитывали на 5 сутки инкубации. Тест проведен на 17 штаммах.

Год анализа	Агрессивность штамма, %*			
	R13M2PT1	12S2PT7	R14BMpc6	Остальные штаммы
2014 г.	93	85	-**	0-17,5***
2017 г.	12,5	15	5	0-17,5***

*доля пораженных проростков

**тест не был проведен

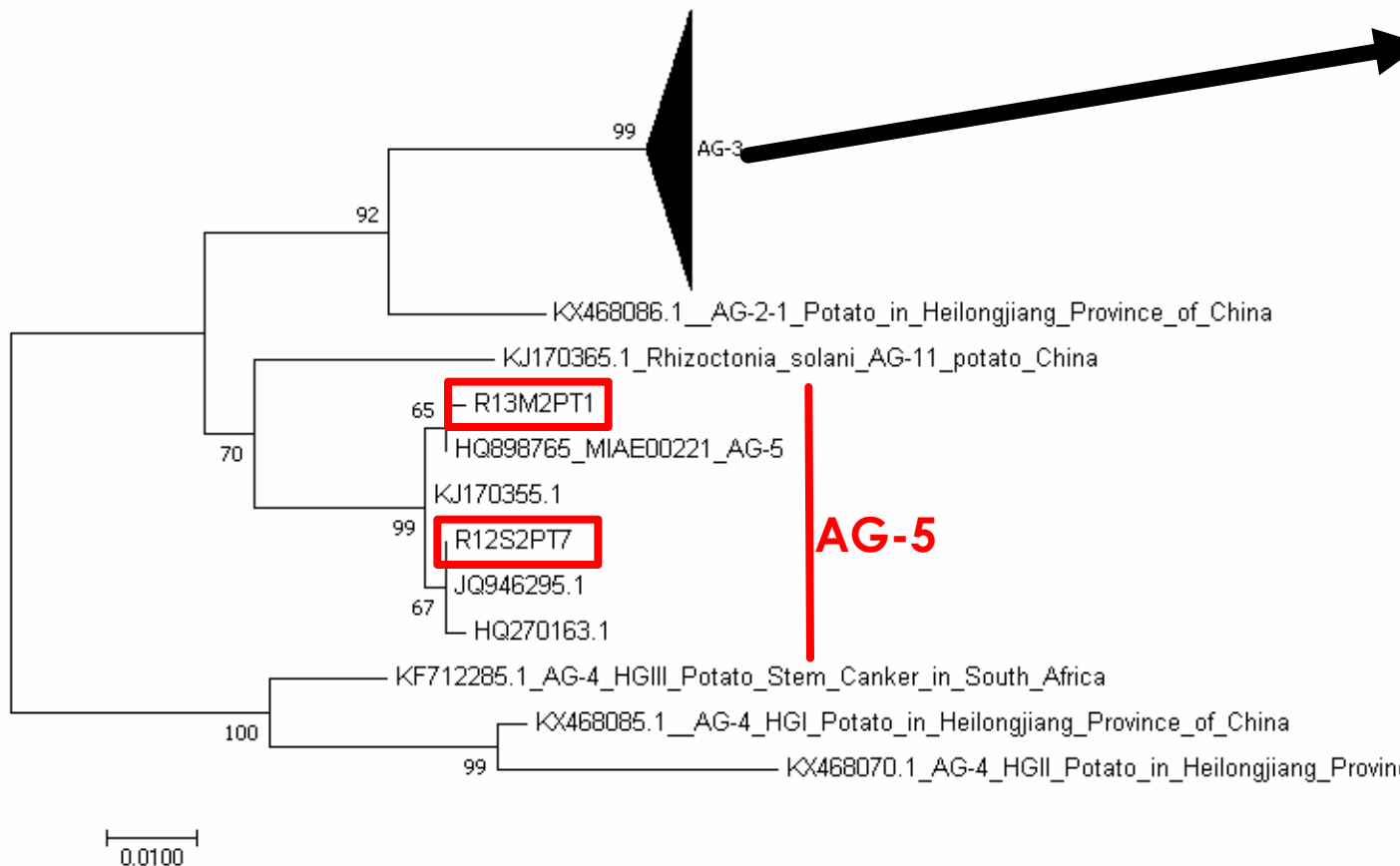
***диапазон показателей агрессивности

Результаты

Штамм	Анасто- мозная группа	Диаметр колонии через 48 часов инкубации:		Устойчивость к пенициурону, EC ₅₀ , мг/л	Агрессив- ность к рапсу, %	Агрессив- ность к картофе- лю
		24°C	34°C			
R12M1PT3	3	43	0	0,02	2,5	2,13
R13M3PT22	3	47	0	0,04	5	0,63
R13M2PT1	5	59	26	>1000	12,5	36,13
R13M2PT3	3	47	0	0,05	7,5	1,13
R12S1PT3	3	37	0	0,03	0	0,67
R12S2PT1	3	44	0	0,05	7,5	1,25
R12S2PT7	5	53	12	>1000	15	23,4
R12S2PT8	3	45	0	0,03	7,5	6,5
R12S2PT32	3	25	1	0,05	17,5	0
R14КСман2	3	46	0	0,05	5	4,33
R14КСман18	3	18	0	0,05	10	0,33
R14ВМрс6	3	24	18	>1000	5	12,5
R14ВМрс10/1	3	52	0	0,05	15	0,75
R13GDe8	3	31	0	0,05	2,5	0
R13GEs16	3	32	0	0,05	17,5	7,33
R13GDE21	3	44	0	0,05	0	3,13
R13GSA7/2	3	44	0	0,05	0	0,25

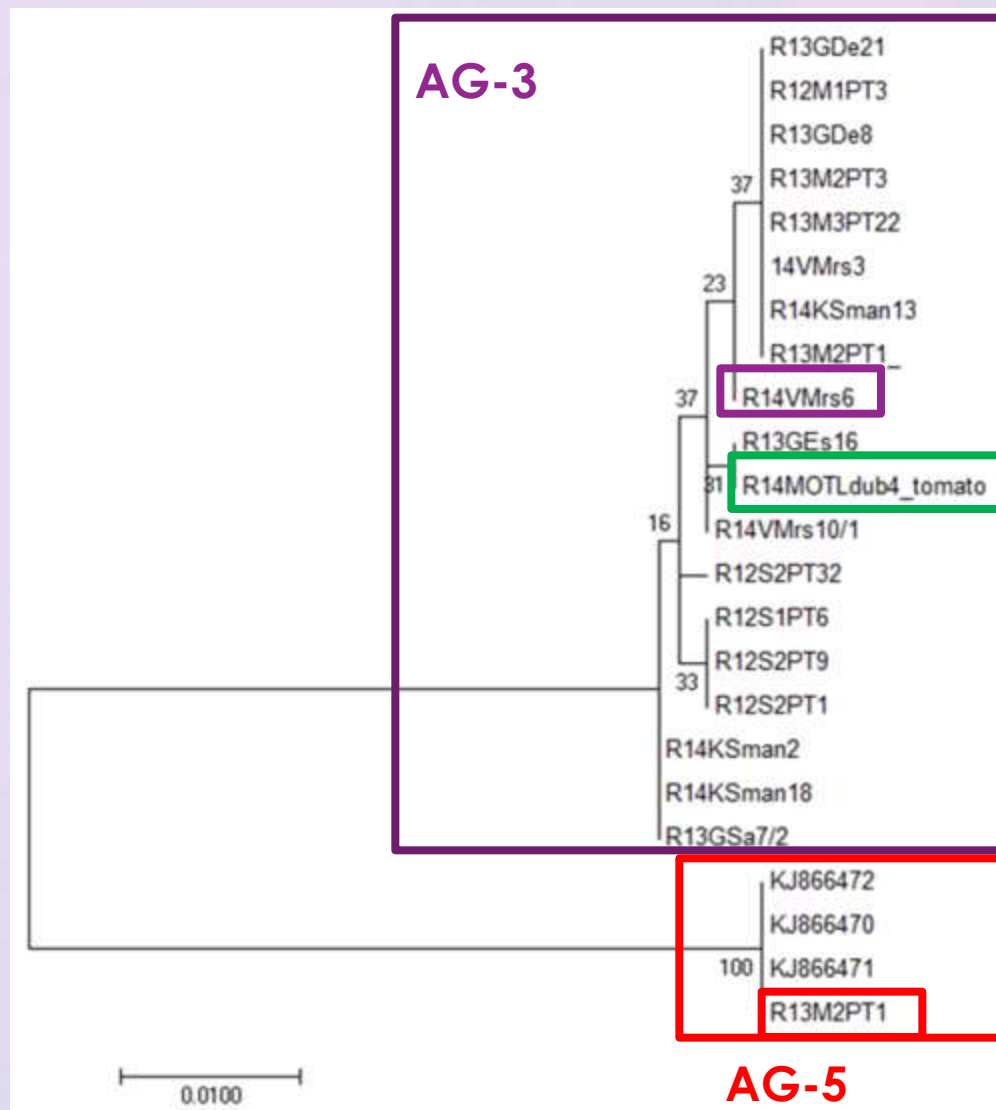
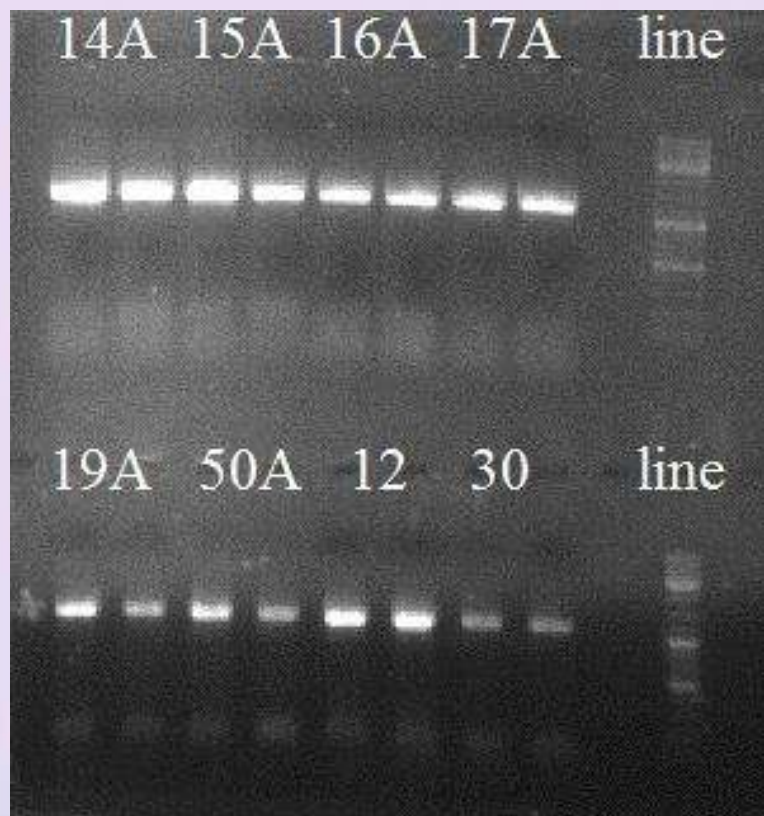
Филогенетическое дерево *R. solani* по региону ITS1-5,8S-ITS2

AG-3



Филогенетическое дерево *R. solani* по гену *tef-1a*

Амплификация с
праймерами TEF1-983F
и TEF1-2218R



Выводы

1. Большинство проанализированных штаммов *R. solani* относились к AG-3. Впервые в России на картофеле были обнаружены штаммы AG-5.
2. Впервые выявлены высокоустойчивые к фунгициду пенцикурон (препарат Престиж) штаммы.
3. Выявлены значительные различия в агрессивности к картофелю между устойчивыми и чувствительными к пенцикурону штаммами.
4. Выявлена генетическая неоднородность среди штаммов *R. solani*, при этом различия наблюдаются как между разными анастомозными группами, так и внутри самих групп. Кластеризации по географическому происхождению не отмечено.

Публикации по теме работы

1. Агрессивные и устойчивые к пенцикурону штаммы *Rhizoctonia solani* анастамозной группы АГ-5 обнаружены на картофеле в России / М. М. Ярмеева, И. С. Проничева, Л. Ю. Кокаева, С. Н. Еланский // Современная микология в России / Под ред. Е. Н. Биланенко, Е. Ю. Воронина, Ю. Т. Дьяков и др. — Т. 7. — Национальная академия микологии М, 2017. — С. 136–138.
2. Устойчивость *Helminthosporium solani*, *Colletotrichum coccodes* и *Rhizoctonia solani* к фунгицидам, используемым для обработки клубней картофеля / С. Н. Еланский, М. А. Побединская, И. А. Кутузова, Ярмеева М.М., Гуркина Т.А., Кокаева Л.Ю.// Достижения науки и техники АПК. — 2018. — Т. 32, № 3. — С. 50–53.

Спасибо

за

внимание!