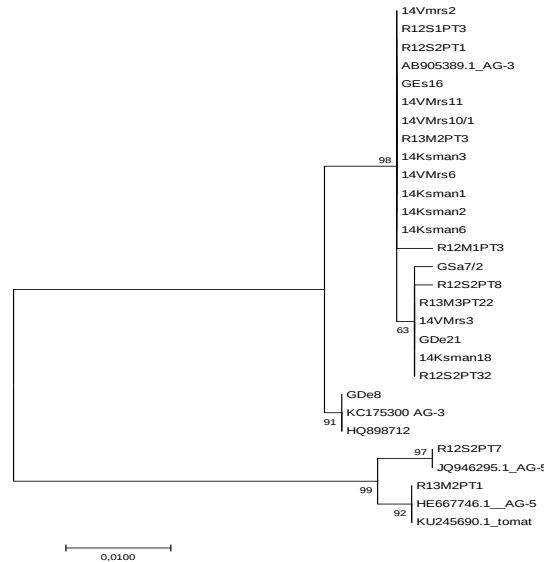
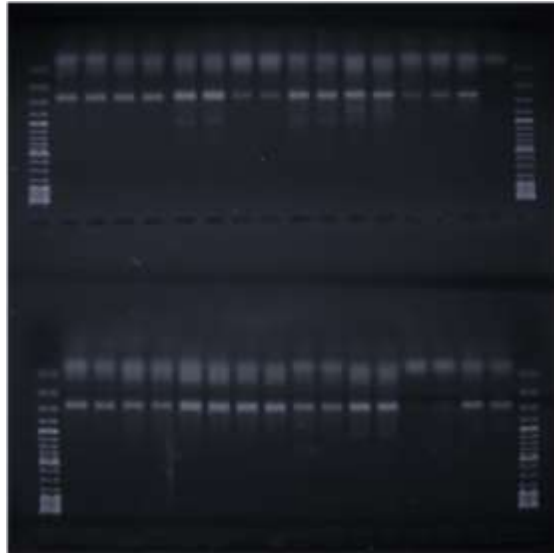


Экология, биоразнообразие, генетика и молекулярные методы мониторинга и идентификации фитопатогенных грибов



Руководитель:
Еланский С.Н.

Участники НИР:
Апрышко В.П.,
Кокаева Л.Ю.,
Побединская М.А.,
Юрина Т.П.,
Белосохов А.Ф.,
Кутузова И.А.,
Ярмеева М.М.



Техническое задание на 2018 год

- 1 Продолжен сбор пораженных образцов и выделение чистых культур фитопатогенных микроорганизмов с картофеля, томата и диких пасленовых в разных регионах РФ и из импортируемого семенного картофеля.

Изучено наличие мутации устойчивости к некоторым фунгицидам у штаммов *Helminthosporium solani*, *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum coccodes*.
- 2 Проведена оценка внутривидового разнообразия по последовательностям нуклеотидов участков ядерных рибосомных генов и межгенных спейсеров (ITS), других специфичных последовательностей генома.
- 3 Проведена работа по верификации тест-систем быстрой диагностики видовой принадлежности и мутаций устойчивости к фунгицидам на основе ПЦР (in silico).

Участие в грантах:

РФФИ 15-29-02512 «Биоразнообразие фитопатогенных грибов рода *Colletotrichum*, возбудителей болезней картофеля, томата и диких пасленовых».

РФФИ 18-29-25017 «Полимерные связующие на основе интерполиэлектролитных комплексов для стабилизации изолирующих покрытий из почв и грунтов на свалках (полигонах) твердых коммунальных отходов»

РНФ 14-50-00029 «Научные основы создания федерального депозитария».

РНФ 18-76-00009 «Мониторинг и картирование высокоагрессивных и устойчивых к фунгицидам штаммов грибов-патогенов растений»

РФФИ 18-34-00280 «Внутривидовое разнообразие, патогенность и устойчивость к фунгицидам *Rhizoctonia solani* – патогена пасленовых»

Минобрнауки РФ 075-02-2018-818 «Идентификация мутаций устойчивости к фунгицидам в геноме грибов-патогенов пасленовых»

Защита кандидатской диссертации:

Кутузова Ирина Алексеевна «**ВНУТРИВИДОВАЯ
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ
COLLETOTRICHUM COCCODES И *HELMINTHOSPORIUM
SOLANI*»**

Защита ВКР бакалавра:

Ярмеева Мария Маратовна «**ВНУТРИВИДОВОЕ
РАЗНООБРАЗИЕ *RHIZOCTONIA SOLANI* J.G.KÜHN**»

Публикации

Статьи в журналах Scopus:

G. L. Belov, A. F. Belosokhov, I. A. Kutuzova, N. V. Statsyuk, E. M. Chudinova, A. V. Alexandrova, L. Y. Kokaeva, and S. N. Elansky. *Colletotrichum coccodes* in potato and tomato leaves in russia. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125:311–317, 2018.

L. Y. Kokaeva, A. F. Belosokhov, E.S. Skolotneva, L.Y. Doeve, S. N. Elansky. Distribution of *Alternaria* species on blighted potato and tomato leaves in Russia. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125:205-212, 2018.

Статьи в журналах РИНЦ-ВАК:

Г. Л. Белов, В. Н. Зейрук, Л. Ю. Кокаева, И. А. Кутузова, С. Н. Еланский. Антракноз, или черная пятнистость клубней картофеля. *Защита и карантин растений*, (10):36–38, 2018.

Т. И. Хуснетдинова, П. Н. Балабко, С. Н. Еланский, Л. К. Батурина, Н. Ф. Черкашина. Использование гуминовых препаратов при выращивании безвирусного картофеля на конструкторах. *Агрохимический вестник*, (2):29–32, 2018.

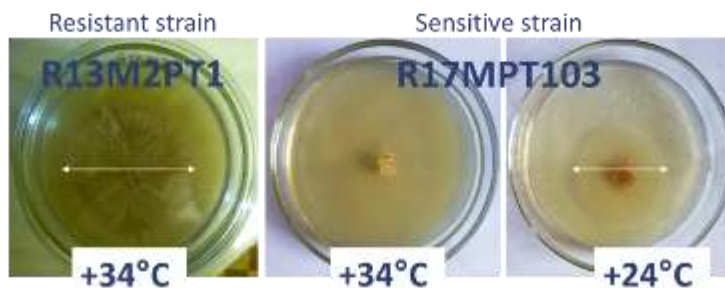
С. Н. Еланский, М. А. Побединская, И. А. Кутузова, М. М. Ярмеева, Т. А. Гуркина, Л. Ю. Кокаева. Устойчивость *Helminthosporium solani*, *Colletotrichum coccodes* и *Rhizoctonia solani* к фунгицидам, используемым для обработки клубней картофеля. *Достижения науки и техники АПК*, 32(3):50–53, 2018.

Внутривидовое разнообразие *Rhizoctonia solani*

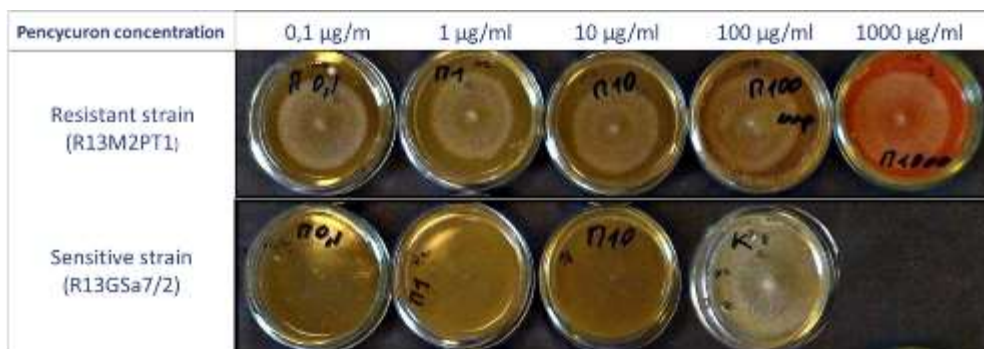
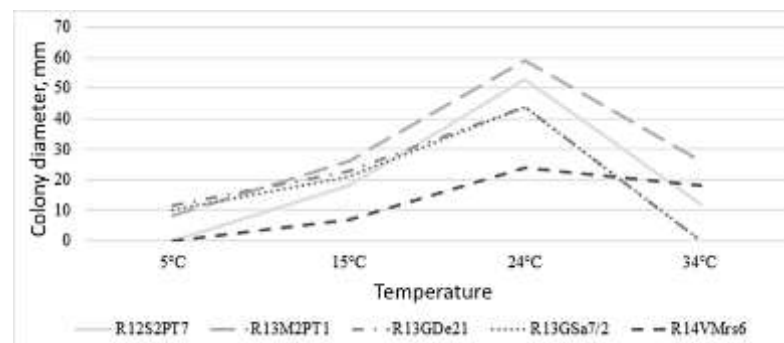
Выделение 2018	Число изолятов
Калужская обл.	7
Московская обл. (3 поля)	3
Уссурийский район	1
Респ. Марий Эл	5
Респ. Саха	2
Всего в коллекции:	151



Colony diameter after 48 h of growth



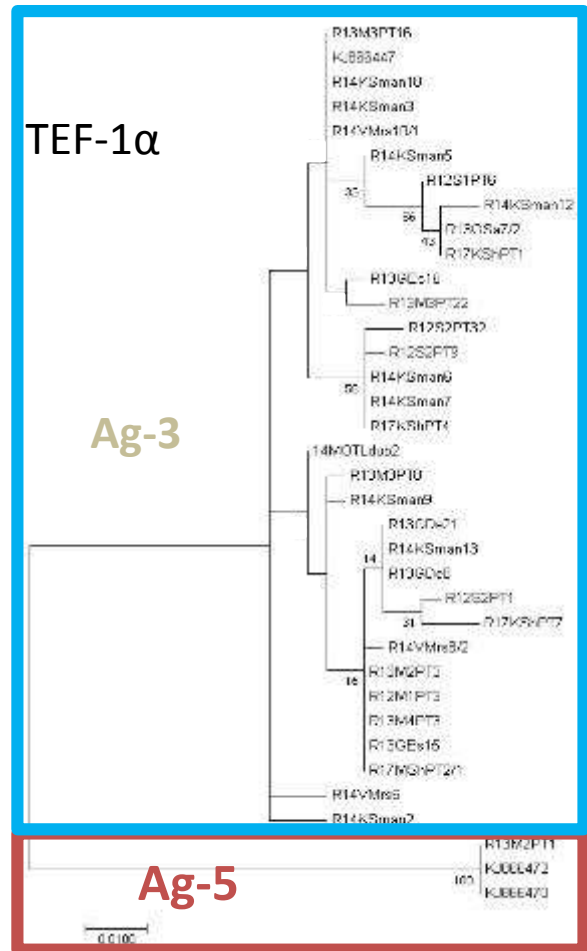
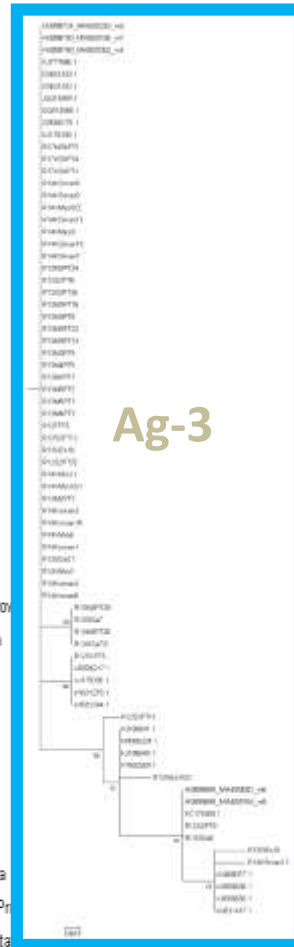
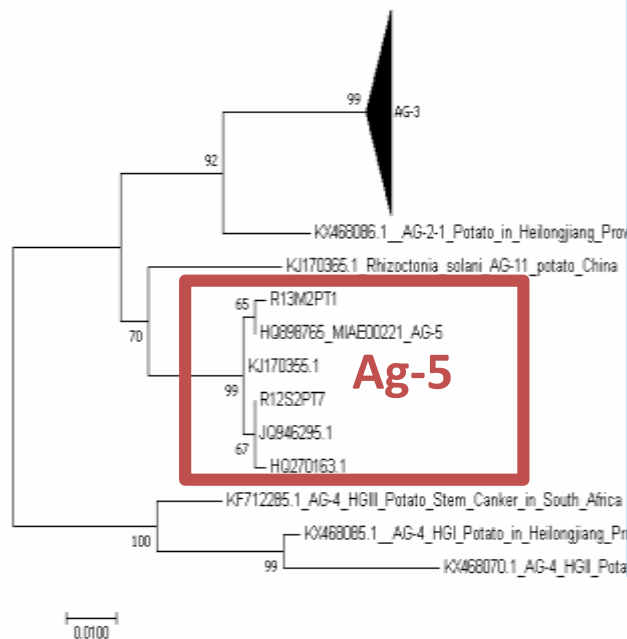
Влияние температуры на рост мицелия



Устойчивость к пенцикурону

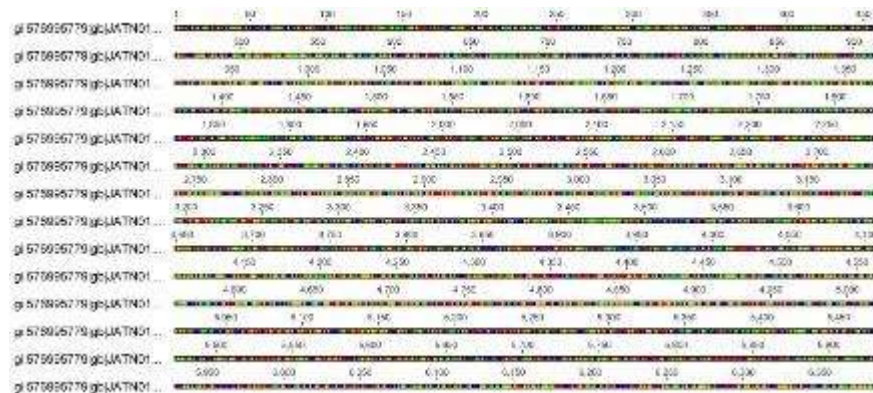
Внутривидовое разнообразие *Rhizoctonia solani*

ITS1-5.8S-ITS2 рДНК

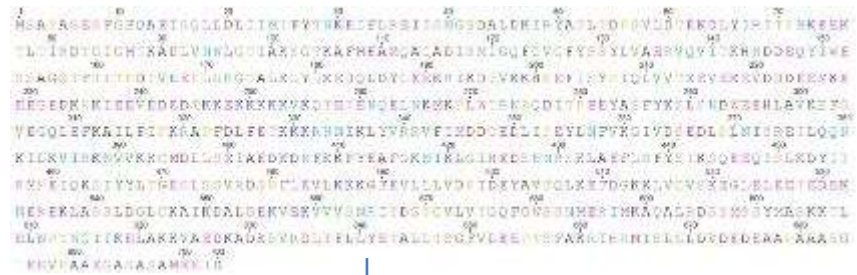


Филогенетические деревья, построенные с помощью метода
Максимального правдоподобия (ML)

Поиск генов, кодирующих hsp в геноме

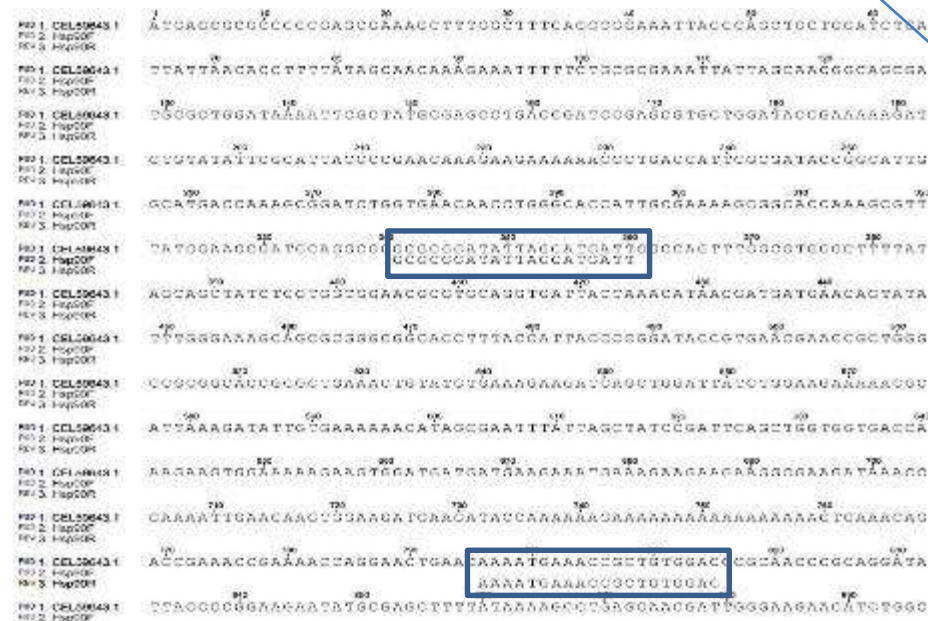


Поиск hsp-подобных последовательностей аминокислот в транскриптом

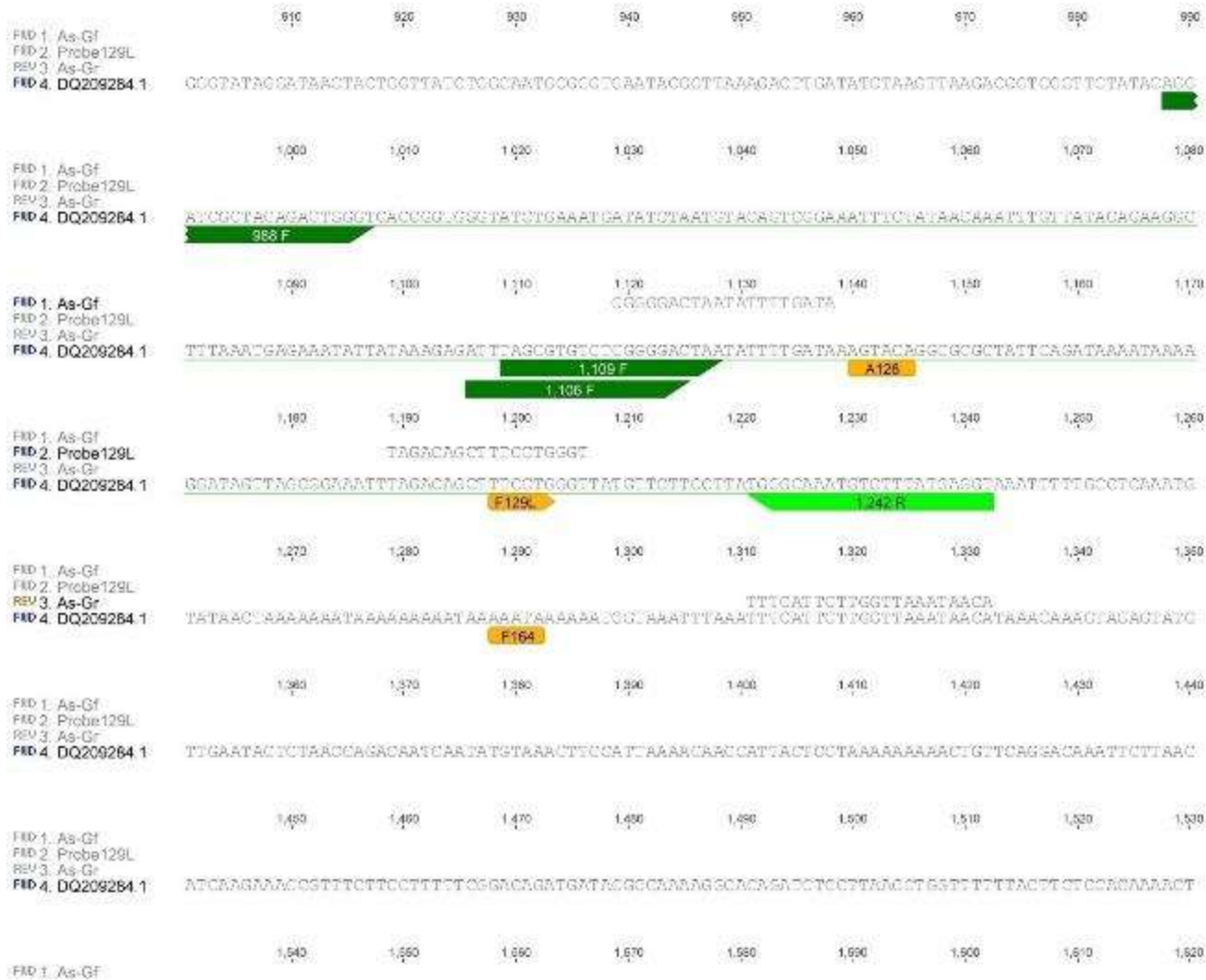


Трансляция в нуклеотидную последовательность

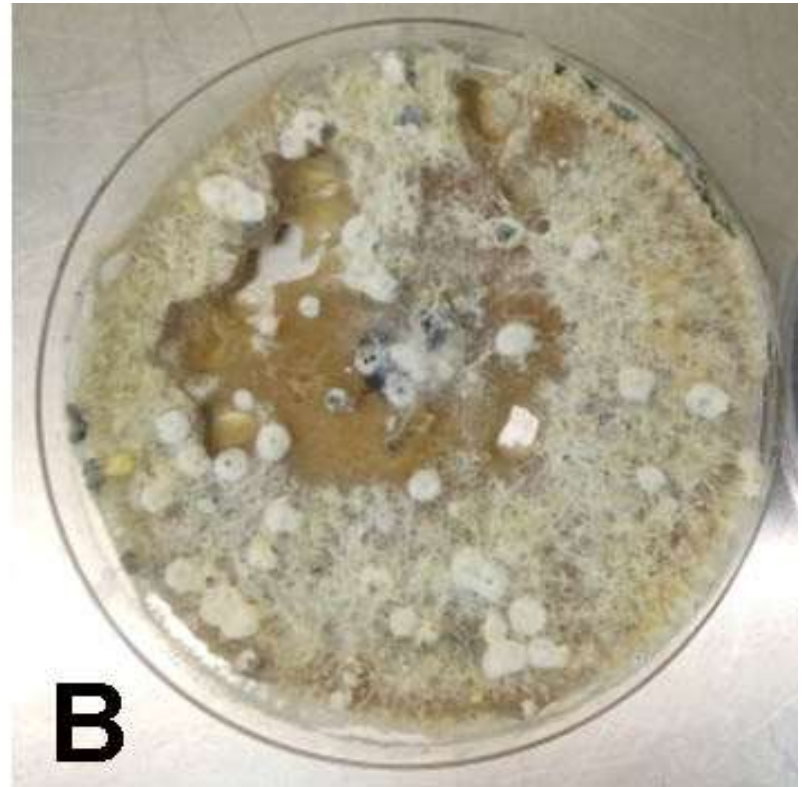
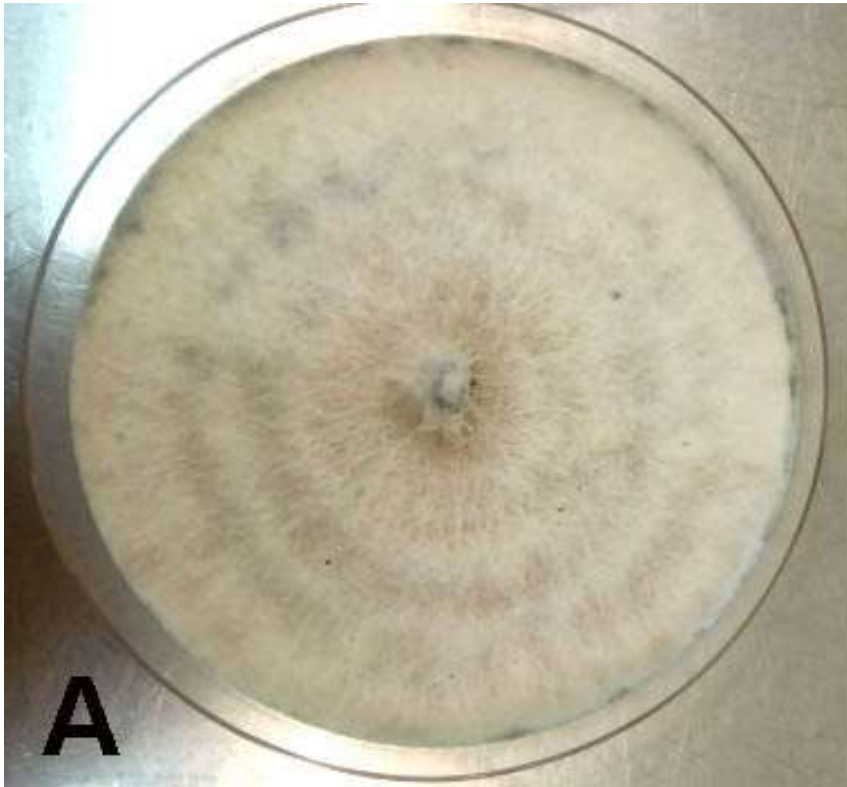
Подбор праймеров и зондов



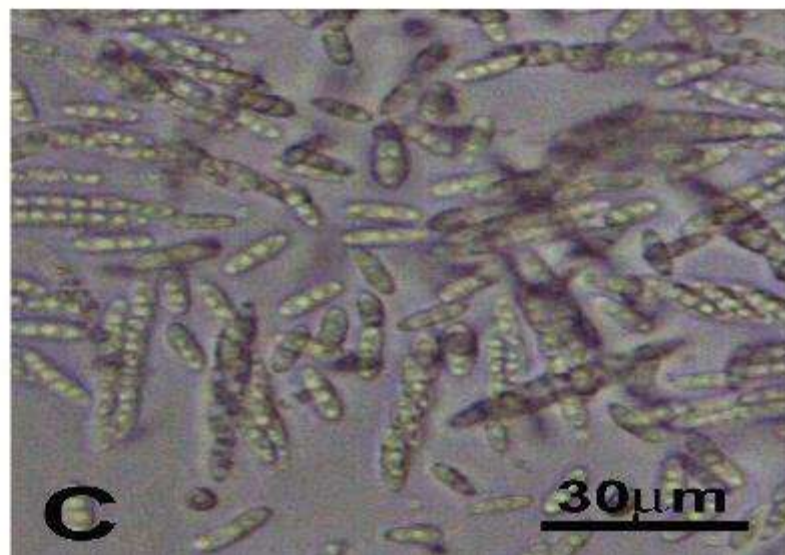
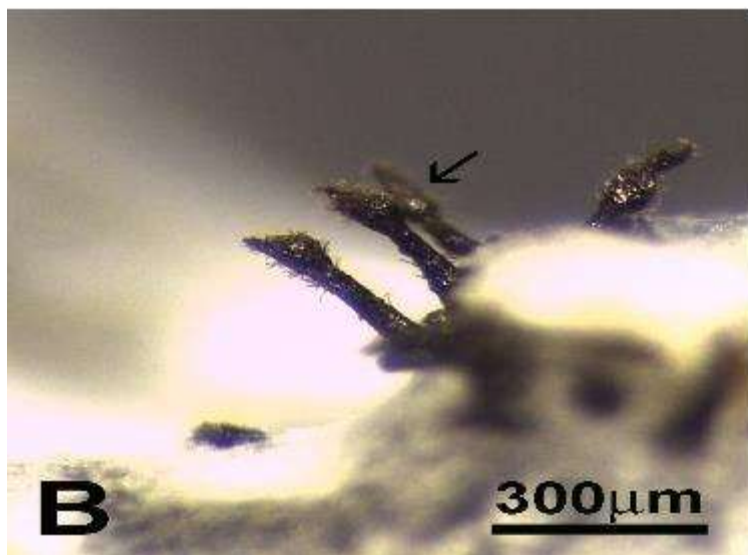
In silico анализ генома *Alternaria* spp. с подбором праймеров и проб для детекции мутаций устойчивости с помощью ПЦР в реальном времени



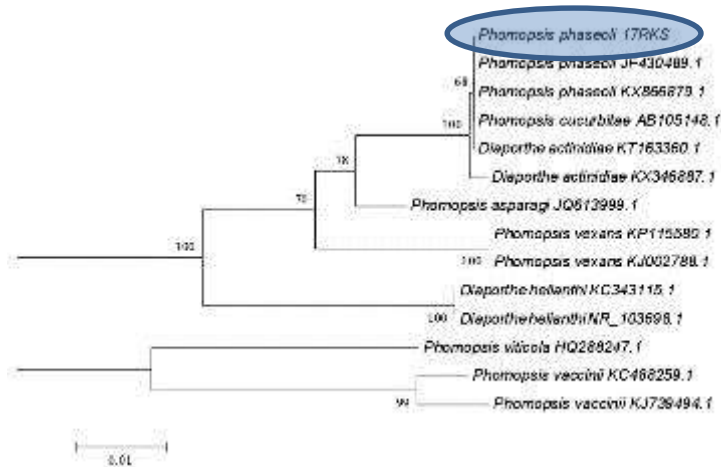
Phomopsis phaseoli – впервые обнаружен на томате



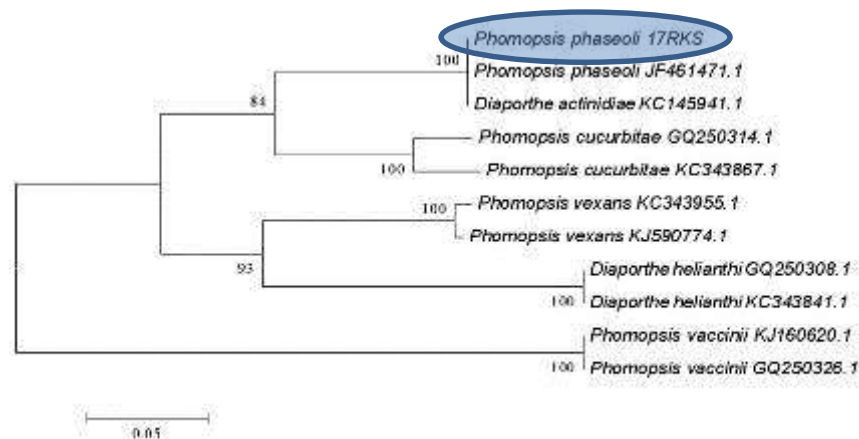
Чистая культура P. phaseoli на агаризованной среде после 14 дней (A) и 28 дней (B) культивирования при температуре 25°C



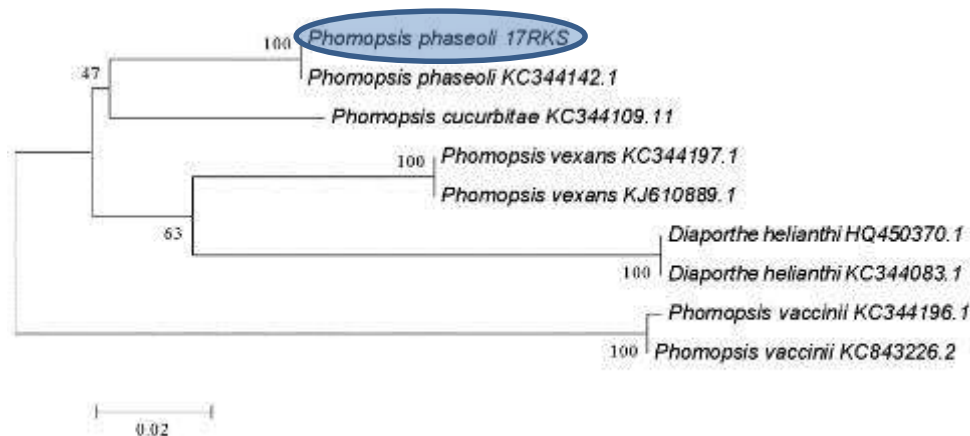
*Микроскопия перитециев (А, В) и аскоспор (С)
изучаемого штамма *P. phaseoli**



ITS1-5,8S-ITS2



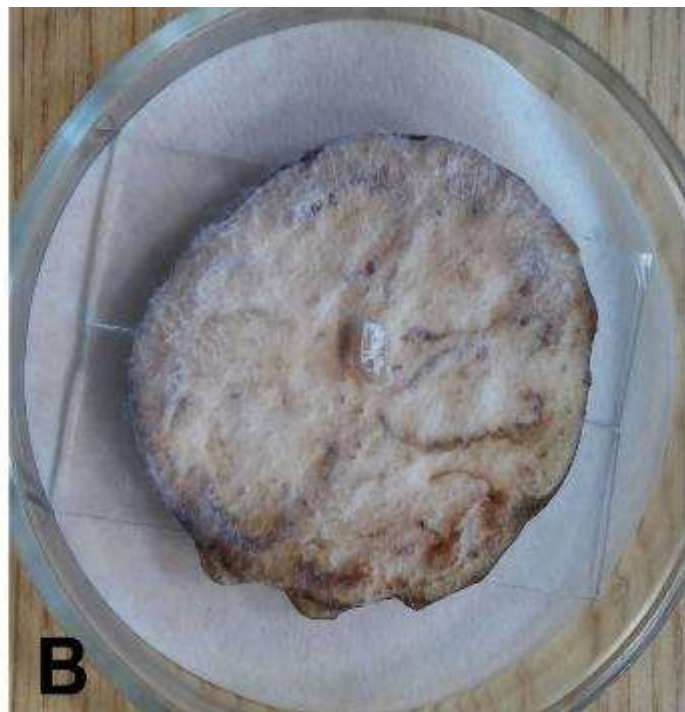
TEF 1α



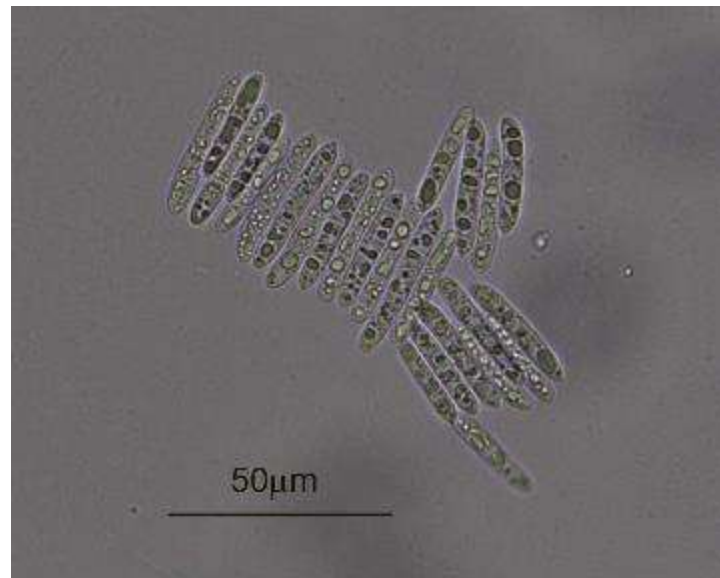
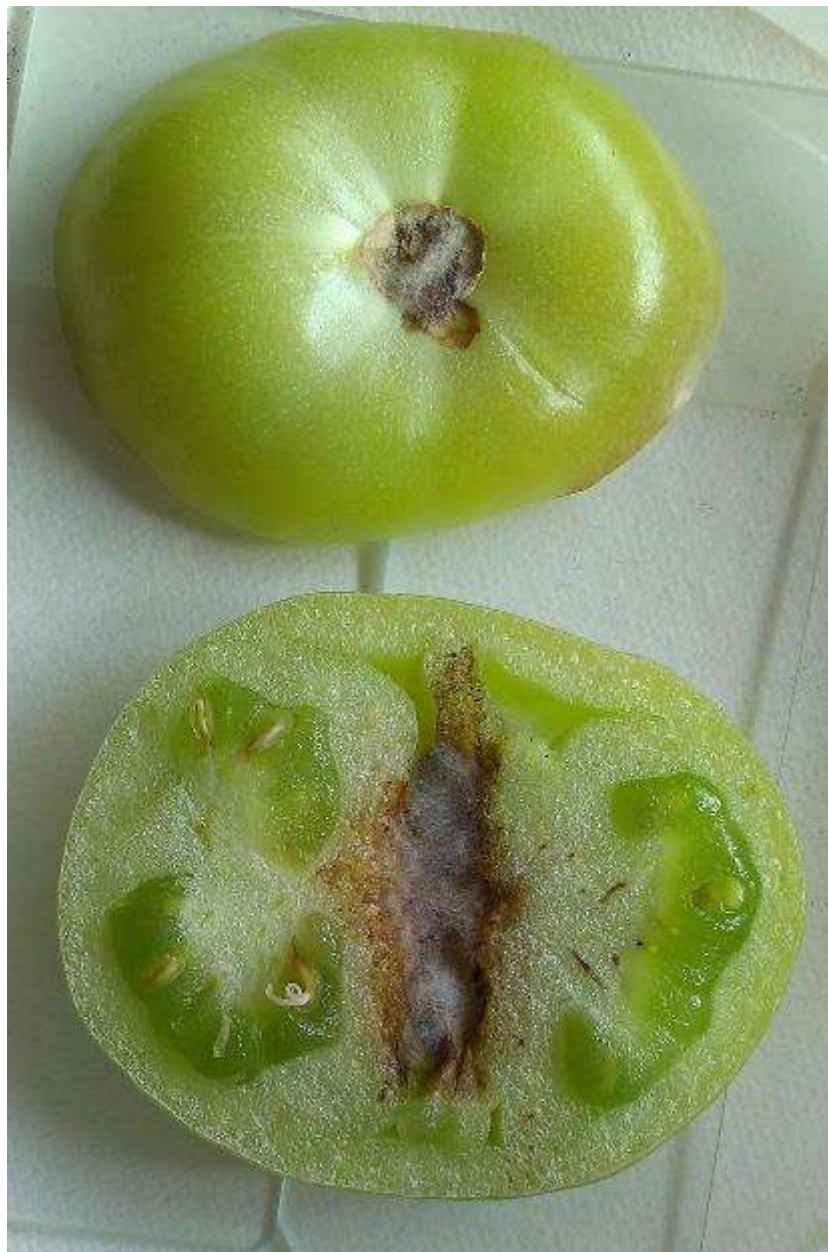
Ген бета-тубулина

По культурально-морфологическим и генетическим маркерам гриб принадлежал виду *Phomopsis phaseoli*

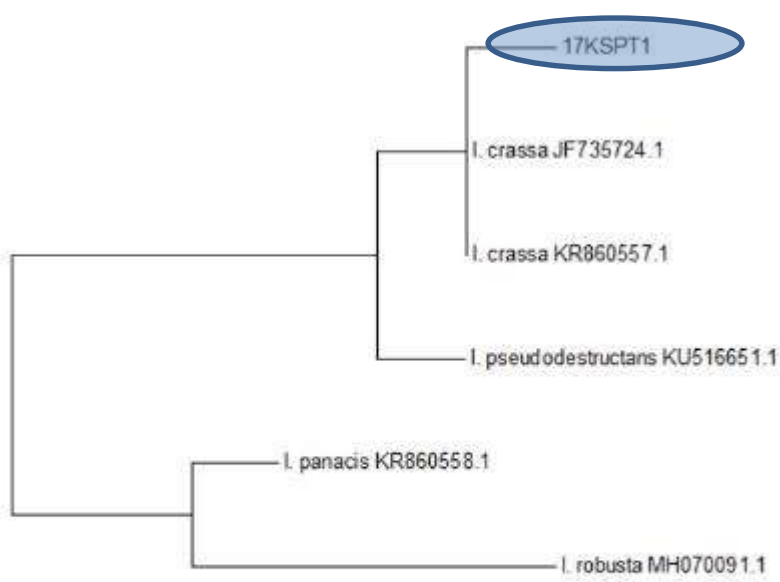
**Рост *P. phaseoli* на клубне картофеля (А),
баклажане (В), томате (С).**



Ilyonectria crassa – новый вид для картофеля

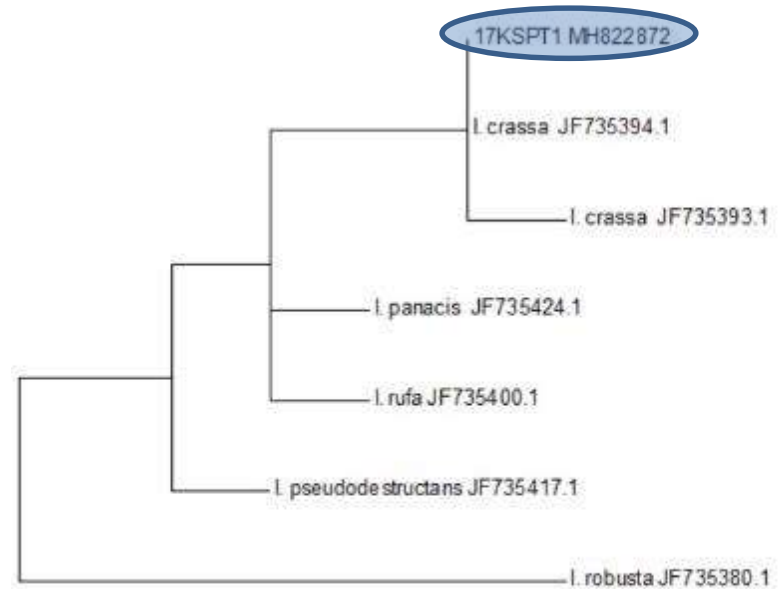


Ilyonectria crassa



0.0050

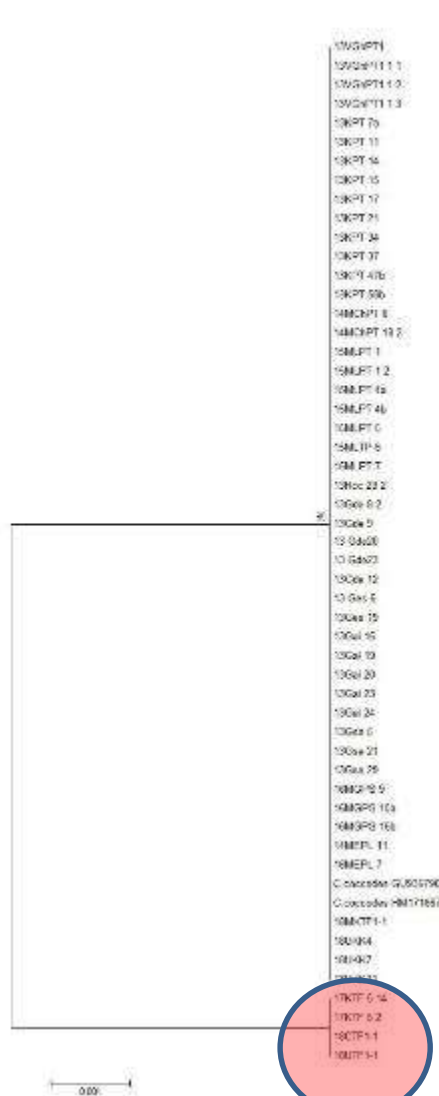
TEF 1α



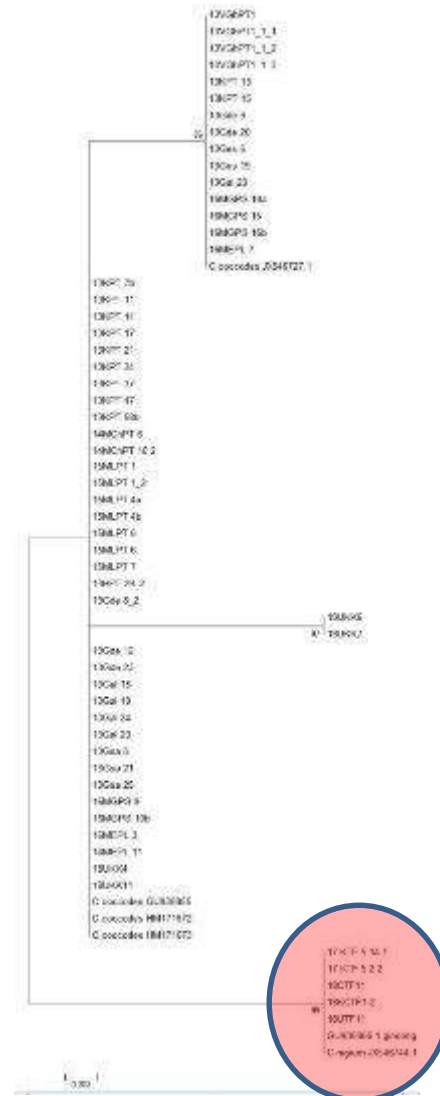
0.0020

Ген бета-тубулина

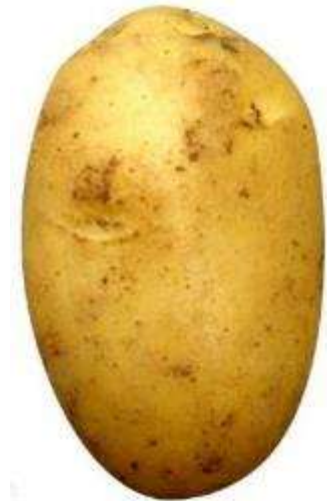
Colletotrichum coccodes: гены актина и GD



Актин



GD



Septotinia populiperda

Идентификация с помощью
секвенирования (ITS) показала
принадлежность к виду
Septotinia populiperda



Новые для клубней картофеля виды

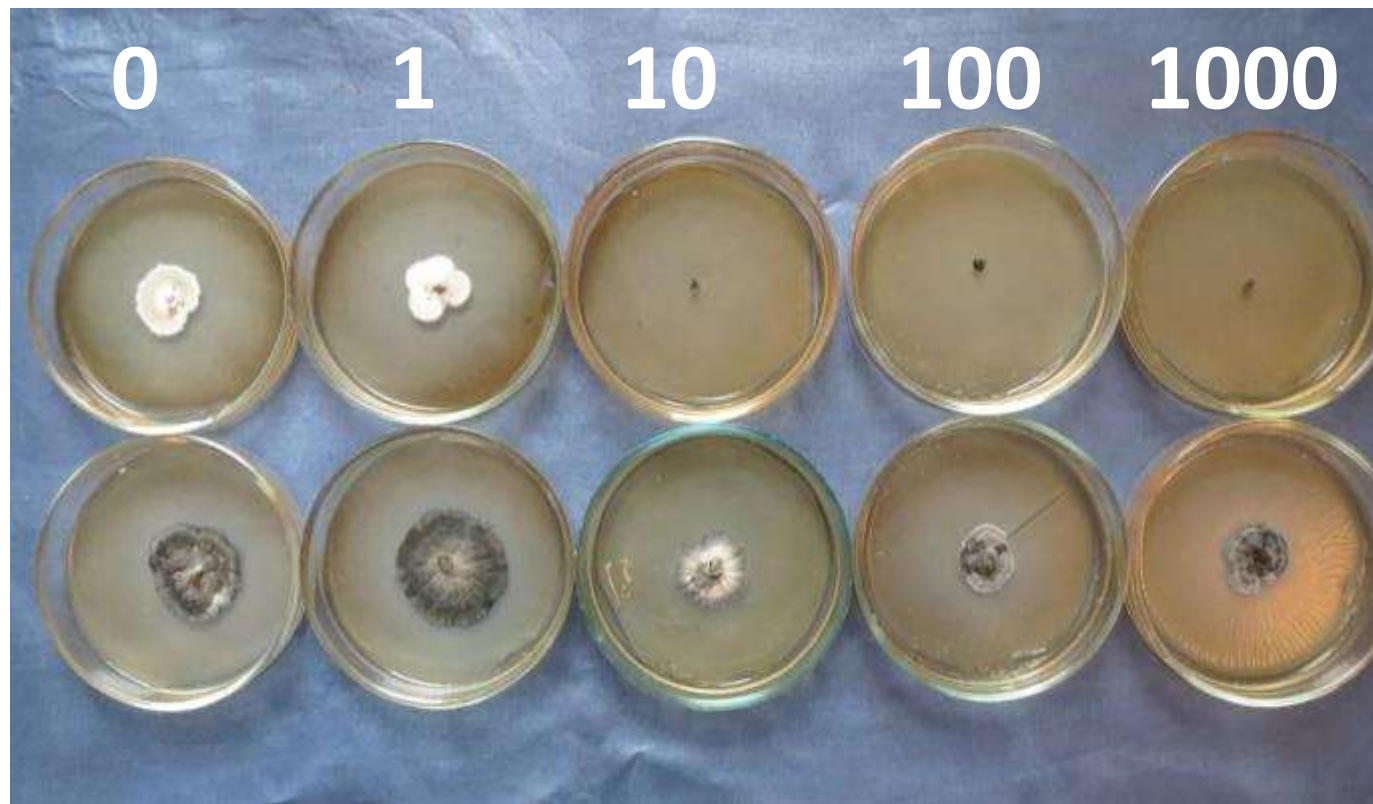
- *Acremonium charticola*
- *Acremonium minutisporum*
- *Clonostachys lasiacidis*
- *Penicillium citrinum*
- *Penicillium steckii*
- *Penicillium waksmanii*
- *Septotinia populiperda**
- *Thielaviopsis basicola*
- *Thrichocladium asperum**

Оценка фунгицидной устойчивости

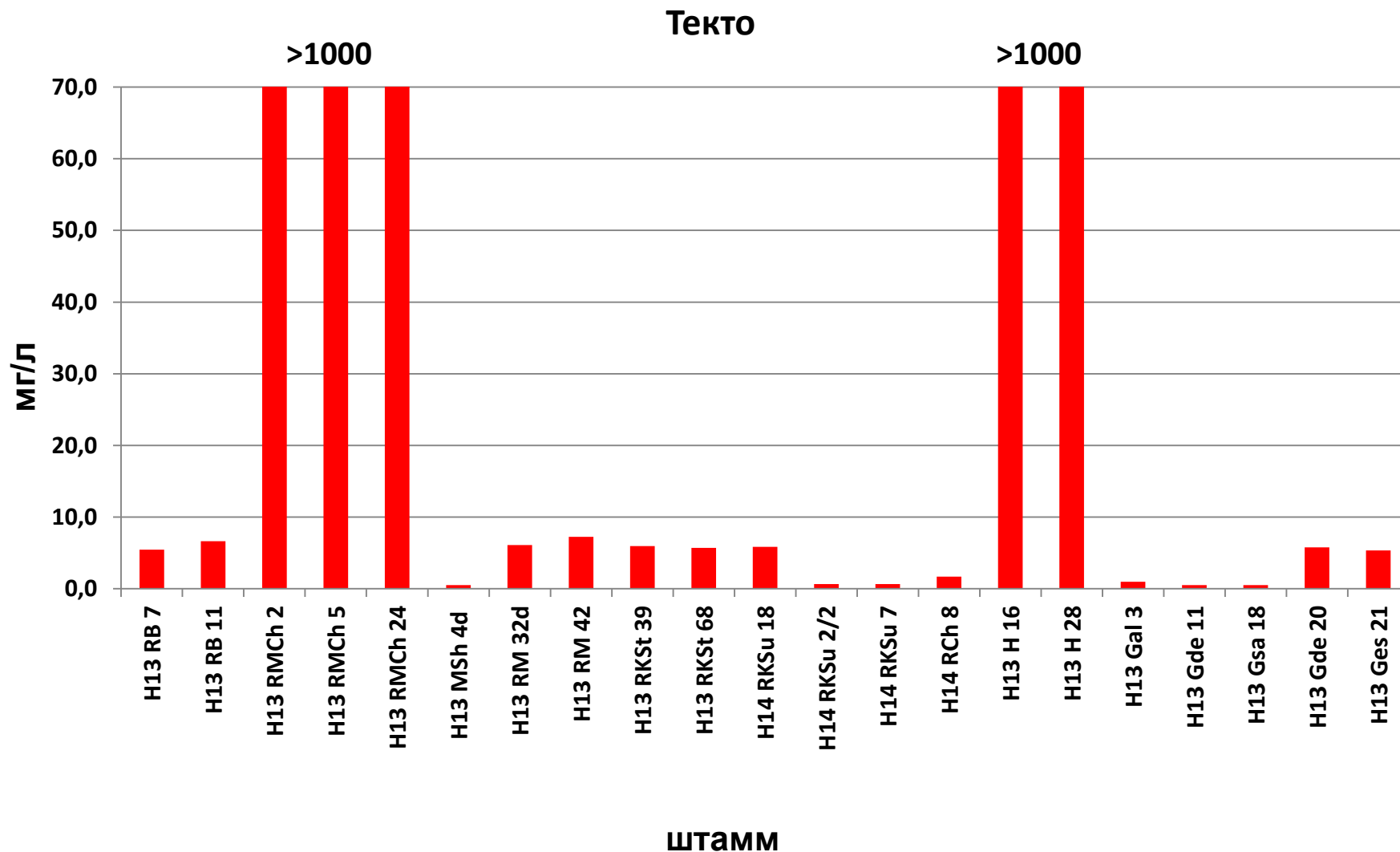
Концентрация
Тиабендазола, мг/л

Чувствительный
штамм

Устойчивый
штамм



Оценка устойчивости *H. solani* к тиабендазолу



Структура гена β-тубулина штаммов *H. solani*

Штамм	Место и год сбора пораженного клубня, сорт картофеля	Устойчивость к тиабендазолу, EC ₅₀ , mg/l	Сиквенс кодонов 197-200 гена β-тубулина
Штаммы выделены из клубней, выращенных в России из отечественного семенного материала			
H13 RB7	Брянская обл., 2013	5,4	GACGAGACCTTC
H13 RMCh2*	Московская обл., 2014	>1000	GACGAGACCT <u>TAC</u>
H13 RMCh24**	Московская обл., 2014	>1000	GAC <u>CAG</u> ACCTTC
H13 RKSt68	Костромская обл., 2013	5,7	GACGAGACCTTC
H13 RCh1	Чувашия, 2014	0,8	GACGAGACCTTC
H13 RCh8	Чувашия, 2014	1,7	GACGAGACCTTC
H13 RKSu2/2	Костромская обл., 2014	0,7	GACGAGACCTTC
H13 RKSu10**	Костромская обл., 2015	>1000	GAC <u>CAG</u> ACCTTC
Штаммы выделены из импортированного семенного картофеля			
H13 H16**	Нидерланды, 2013	>1000	GAC <u>CAG</u> ACCTTC
H13 Ga13	Германия, 2013	1,0	GACGAGACCTTC
H13 Gde 11	Германия, 2013	0,5	GACGAGACCTTC

* – штамм RMCh2 – мутация в 200 кодоне, замена Phe (TTC) на Tyr (TAC).

** – штаммы RMCh24, RKSu10, H16 – мутация в 198 кодоне, замена Glu (GAG) на Gln (CAG)

Спасибо за внимание!

