



Изучение и диагностика некоторых опасных болезней малины и земляники в России.

The study and diagnosis of certain dangerous diseases raspberries and strawberries in Russia.

С.Е. Головин, доктор с.-х. наук, зав. лаб.
фитопатологии и энтомологии ФГБНУ
ВСТИСП (г. Москва)

S.E. Golovin, doctor of agricultural Sciences,
Head. lab. plant pathology and entomology
FGBNU VSTISP (Moscow)

Фитофторозная гниль корней малины

Phytophthora raspberry root rot

- Фитофторозная гниль корней малины, вызываемая *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, является одним из опасных заболеваний и приводит к гибели целых плантаций.
- Phytophthora raspberry root rot caused by *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, it is one of serious diseases and leads to the death of entire plantation.



Рис. 1: Растение малины, пораженное *Ph. fragariae* v. *rubi*

Fig. 1: Raspberry plant struck by *Ph. fragariae* v. *rubi*

Phytophthora fragariae v. *rubi*.

- В 1991 г. нами впервые на территории России была обнаружена корневая гниль малины, вызываемая оомицетом *Phytophthora fragariae* v. *rubi*.
- In 1991 we were the first in Russia raspberry root rot was discovered, caused by Oomycetes *Phytophthora fragariae* v. *rubi*.



Периодичность проявления *Phytophthora fragariae* v. *rubi*.

на малине

Frequency of symptoms *Phytophthora fragariae* v. *rubi*. on raspberries

Исследования, проводившиеся в ФГБНУ ВСТИСП с 1991 по 2008 гг., выявили периодичность интенсивности развития данного патогена по годам.

- Studies conducted in FGBNU VSTISP from 1991 to 2008. Revealed the frequency of the intensity of a given pathogen data.

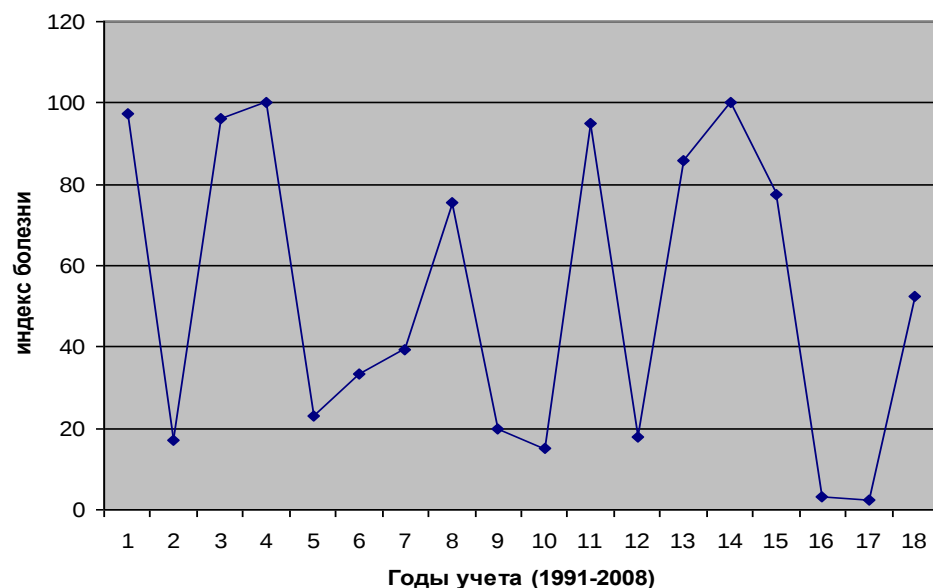


Рис. 3. Изменение интенсивности развития фитофтороза корней малины по годам (1991-2008)

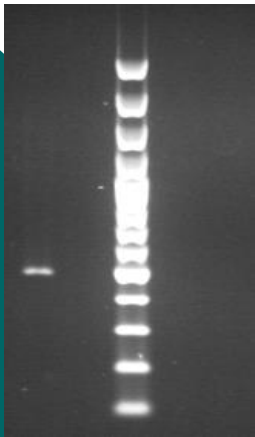
Fig. 3. Change of intensitythe development of late raspberry rot roots over the years (1991-2008)

Диагностика *Phytophthora fragariae* v. *rubi* в почве

Diagnostic *Phytophthora fragariae* v. *rubi* in soil

- В 1990-х годах были проведены исследования по разработке методов диагностики этого патогена как в почве, так и в корнях растений.
- В ходе исследований в качестве универсальной приманки были использованы листья малины, помещенные на затопленную почву в чашках Петри.
- In the 1990s, research on the development of methods for diagnosis of this pathogen in the soil and in the roots of plants were carried out.
- Studies in raspberry leaves were used as a universal bait placed in the flooded soil in Petri dishes.





ПЦР диагностика *Phytophthora fragariae* v. *rubi*

PCR Diagnostics *Phytophthora fragariae* v. *rubi*

- В 2010-2013 гг. совместно с ФГБУ «ВНИИКР» были проведены исследования по разработке методов ПЦР диагностики возбудителя фитофторозной гнили корней малины.
- В результате проведённых исследований было установлено, что оптимальным методом выделения ДНК *Phytophthora* spp. из чистых культур является пробоподготовка с использованием набора «ДНК-Экстран» (ЗАО «Синтол», Москва)
- In the years 2010-2013. together with the State Organization "VNIIEKR" studies have been conducted on the development of diagnostic PCR methods for pathogen *Phytophthora* raspberry roots rot. As a result of investigations it was found that the best method of DNA extraction *Phytophthora* spp. from pure cultures of a sample preparation using a set of "extra DNA" (CJSC "Syntol", Moscow)



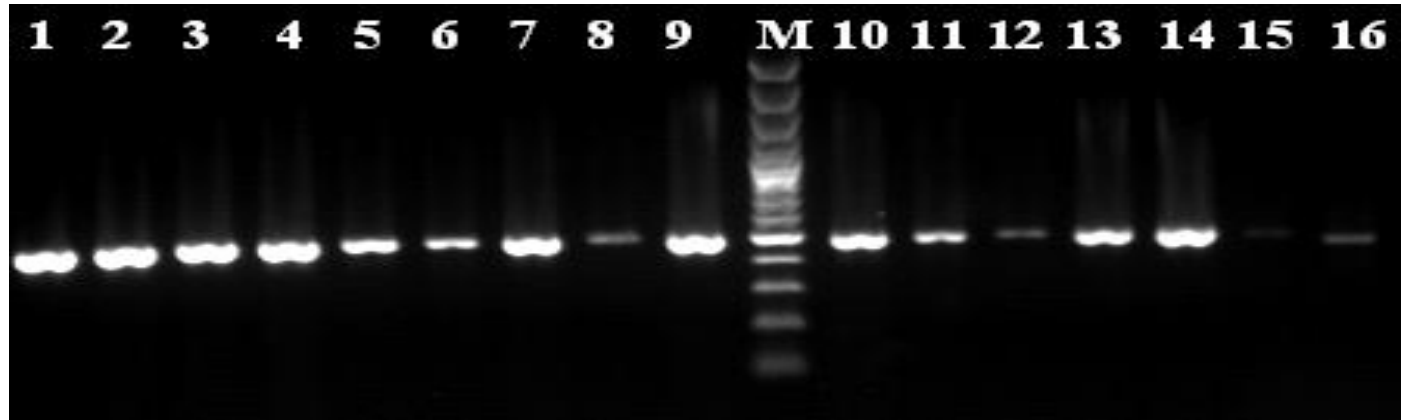
ПЦР диагностика *Phytophthora fragariae* v. *rubi*

PCR Diagnostics *Phytophthora fragariae* v. *rubi*

- При постановке ПЦР с универсальными праймерами для оомицетов из рода *Phytophthora*, были получены ампликоны соответствующего размера (рис. 5). Так, праймеры DC1/DC5 амплифицировали продукт размером 533 п.о., специфичный для биотипа *Ph. fragariae* (рис. 6).
- When PCR amplification with universal primers for Oomycetes of the genus *Phytophthora*, amplicons of the appropriate size were obtained (Fig. 5). Thus, primers DC1 / DC5 amplified product size of 533 bp, specific for biotype *Ph. fragariae* (Fig. 6).

ПЦР диагностика *Phytophthora* spp. на малине

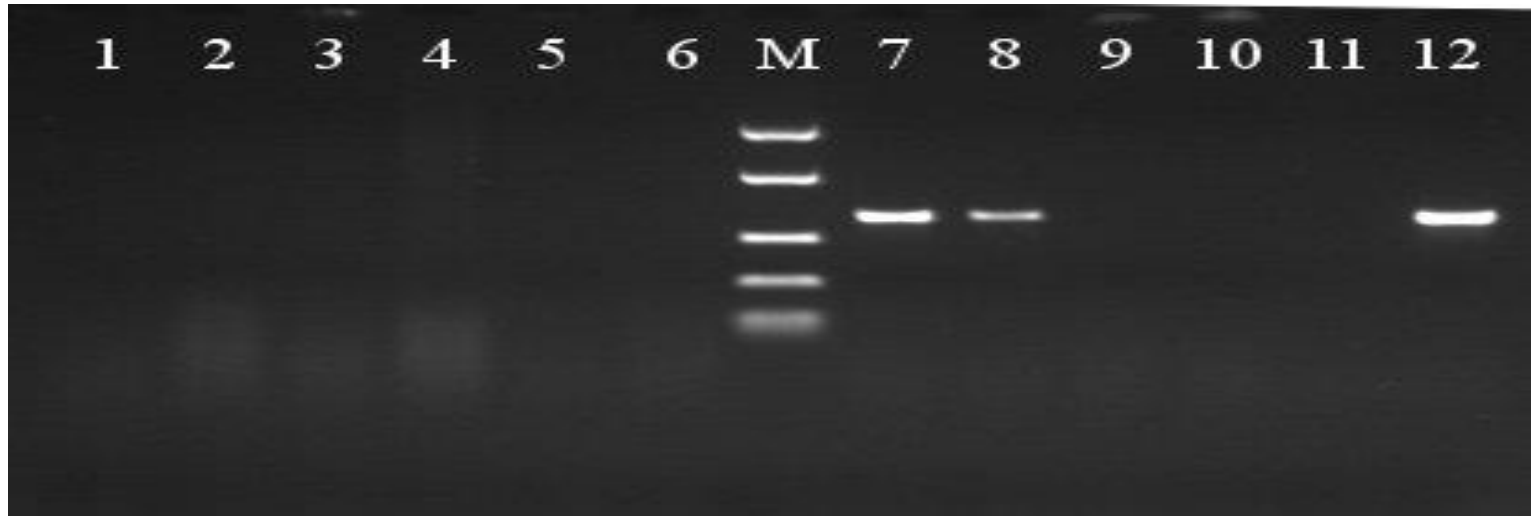
PCR Diagnostics *Phytophthora* spp. on raspberries



- Рис.5. Электрофореграмма продуктов амплификации Ypt1 гена, специфичного для рода *Phytophthora* (470 п.о.): № 1 - *Ph. cactorum*, № 2 - *Ph. cinamoni*, № 3 - *Ph. cryptogea*, № 4 - *Ph. megasperma*, № 5 - *Ph. nicotianae*, № 6 - *Ph. fragariae* var. *rubi*, № 8 - *Ph. fragariae* var. *fragariae*, № 9 - *Ph. capsici*, M – Маркер мол. веса, № 10 - *Ph. ramorum*, № 11 - *Ph. infestans*, № 12 - *Ph. citricola*, № 13, 14, 16 - K+, № 15 - K-
- Figure 5. Electrophoregram amplification products Ypt1 gene specific for the genus *Phytophthora*

ПЦР диагностика *Phytophthora fragariae* v. *rubi*

PCR Diagnostics *Phytophthora fragariae* v. *rubi*



- Рис. 6. . Электрофореграмма продуктов амплификации региона ITS1 rDNA с праймерами DC1/DC5, специфичными для *Ph. fragariae* (533 п.о.) после второго этапа «nested» - ПЦР: № 1 - *Ph. cactorum*, № 2 - *Ph. cinamoni*, № 3 - *Ph. cryptogea*, № 4 - *Ph. megasperma*, № 5 - *Ph. nicotianae*, № 6 - *Ph. citricola*, M-Маркер молек. веса, № 7 - *Ph. fragariae* var. *rubi*, № 8 - *Ph. fragariae* var. *fragariae*, №9 - *Ph. capsici*, № 10 - *Ph. infestans*, № 11 - K-, № 12 - K+
- Fig. 6.. Electrophoregram region amplification products with primers ITS1 rDNA DC1 / DC5, specific to *Ph. fragariae*

Мультиплексная ПЦР «в реальном времени»

Multiplex PCR "in real time"

- В ходе исследований также установлено, что на основе выровненных последовательностей гена Ypt1 возбудителей фитофторозов малины и земляники подобраны праймеры универсальные для рода *Phytophthora* и меченные флуоресцентными красителями (HEX, FAM, Cy5, ROX) зонды, специфичные для *Ph. cactorum*, *Ph. citricola*, *Ph. fragariae* и *Ph. nicotianae*, соответственно. Подобранные праймеры и зонды позволяют проводить мультиплексную ПЦР «в реальном времени» для этих видов в одной пробирке.
- The studies also found that, based on the gene sequences aligned Ypt1 blight pathogens raspberry and strawberry selected universal primers for genus *Phytophthora* and labeled with fluorescent dye (HEX, FAM, Cy5, ROX) probes specific for the *Ph. cactorum*, *Ph. citricola*, *Ph. fragariae* and *Ph. nicotianae*, respectively. Matched primers and probes "in real time" allow multiplex PCR for these species in a single test tube.

Антракноз земляники

Anthracnose of strawberry

- Антракноз земляники вызывается несколькими видами из рода *Colletotrichum* и наносит значительный ущерб этой культуре во многих странах мира.
- Anthracnose of strawberry caused by several species of the genus *Colletotrichum* and causes significant damage to this crop in many countries around the world.



Рис. 7. Ягода земляники, пораженная антракнозом
Fig. 7. Strawberries, struck anthracnose

Антракноз земляники

Anthracnose of strawberry

- Морфологические характеристики изолятов гриба *Colletotrichum sp.*, выделенных из ягод земляники соответствуют виду *Colletotrichum acutatum*.
- *Morphological characteristics of isolates of the fungus Colletotrichum sp. Isolated from strawberries correspond mind Colletotrichum acutatum.*

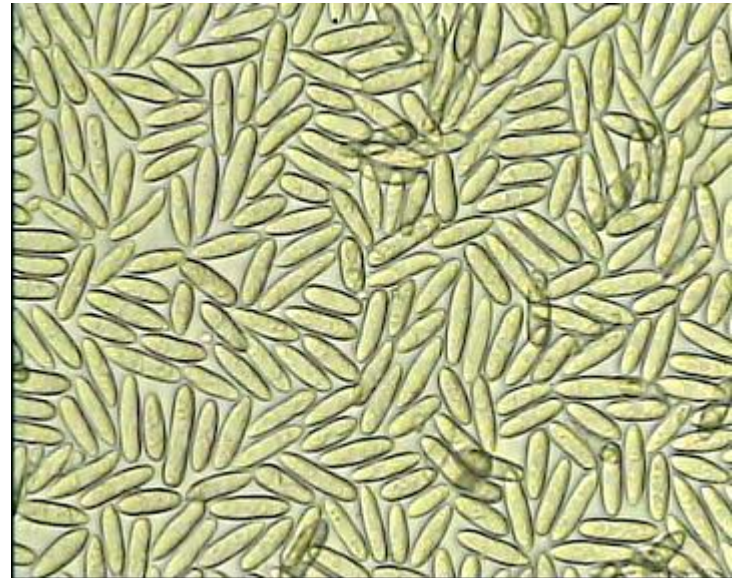


Рис. 8. Споры гриба *Colletotrichum acutatum*
Fig. 8. Fungal spores *Colletotrichum acutatum*

Антракноз земляники

Anthracnose of strawberry

- В 2015 году при анализе образцов растений земляники сортов Азия и Альфа, полученных из Тульской области, были отмечены симптомы пятнистости листьев и вдавленные некрозы на черешках, сходные с поражением антракнозом (рис. 9 и 10).
- In 2015, the analysis of samples of plants of strawberry varieties and Asia Alpha derived from the Tula region, were marked by symptoms of leaf spot and depressed necrosis on petioles, similar to anthracnose lesions (Fig. 9 and 10).



Рис. 9. Поражение листа
земляники грибом

Colletotrichum acutatum

Fig. 9. The affected leaves
strawberry fungus

Colletotrichum acutatum

Антракноз земляники

Anthracnose of strawberry



Рис. 10. Поражение черешка листа
земляники грибом

Colletotrichum acutatum

Fig. 10. The defeat of the petiole strawberry
fungus *Colletotrichum acutatum*



Рис. 11. Споры гриба

Colletotrichum acutatum

Fig. 11. Spores of the fungus
Colletotrichum acutatum

Антракноз земляники

Anthracnose of strawberry

- На землянике из Чеченской республики было отмечено наличие другого вида из рода *Colletotrichum*, определённого, как *Colletotrichum gloeosporioides*.
- For strawberries of the Chechen Republic it has been noted that there is another species of the genus by *Colletotrichum*, certain as *Colletotrichum gloeosporioides*.

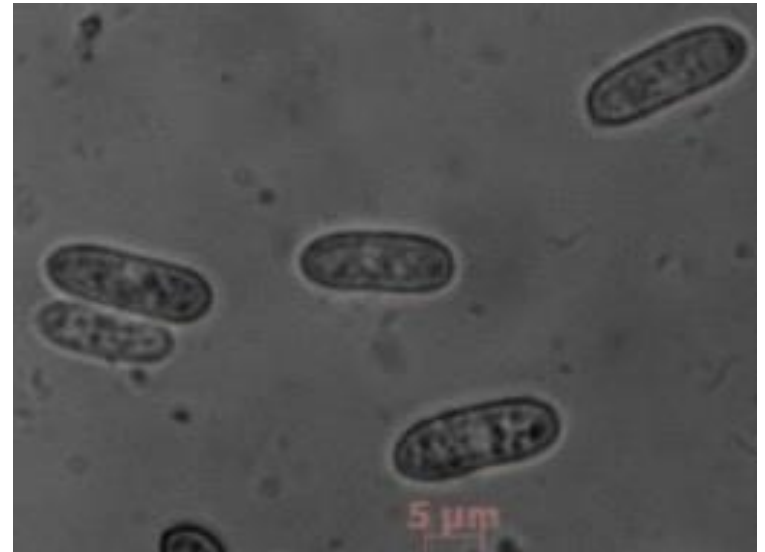


Рис. 13. Споры гриба *Colletotrichum gloeosporioides*
Fig. 13. Spores of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*

Спасибо за внимание!

Thank you for attention!

