

ВИДЫ РОДА *FUSARIUM* НА КАРТОФЕЛЕ И ТОМАТЕ В УГАНДЕС.Н. Еланский^{1,2}, А.С. Еланский², Е.М. Чудинова²¹Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия²Российский Университет Дружбы Народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия<https://doi.org/10.5281/zenodo.8353246>

Аннотация. Картофель и томат являются одними из наиболее широко возделываемых культур в Уганде. В 2020 г. 25 штаммов *Fusarium* sp. были выделены из клубней картофеля и 9 штаммов из плодов томата. Образцы были собраны на фермах в четырех регионах Уганды. Идентификацию видов грибов осуществляли с использованием культурально-морфологических характеристик и секвенирования части гена фактора элонгации 1 (*tef 1*). Анализ выделенных штаммов из клубней картофеля выявил наличие видовых комплексов *Fusarium oxysporum* SC, *F. solani* SC, *F. sambucinum* SC, *F. incarnatum-equiseti* SC. В плодах томатов был обнаружен только *F. incarnatum-equiseti* SC. Все исследованные штаммы проявляли способность успешно заражать как поврежденные плоды томата, так и клубни картофеля.

Ключевые слова: фузариоз картофеля, сухая гниль клубней картофеля, тропическое овощеводство, фузариоз томата.

Abstract. Irish potato and tomato are among the most widely cultivated crops in Uganda. In 2020, a total of 25 strains of *Fusarium* sp. were isolated from potato tubers and 9 - from tomato fruits. Samples were collected from farms in four regions of Uganda. Identification of the fungal species was accomplished using cultural-morphological characteristics, and DNA sequencing of part of the elongation factor 1 (*tef 1*) gene. The analysis of the isolated strains from potato tubers revealed the presence of *Fusarium oxysporum* SC, *F. solani* SC, *F. sambucinum* SC, *F. incarnatum-equiseti* SC. In tomato fruits *F. incarnatum-equiseti* SC was detected. All the investigated strains exhibited the ability to successfully infect both injured tomato fruits and potato tubers.

Keywords: fusarium dry rot of potato tubers, tropical vegetable growing, tomato diseases.

Аннотация. Картошка ва помидор Угандада энг кенг этиштириладиган экинлар қаторига киради. 2020 йилда картошка туганагидан *Fusarium* sp. микроскопик замбуруугларининг 25 та штамми, помидор мевасидан 9 та штамми ажратилган. Намуналар Уганданинг тўрт минтақасидаги фермер хўжаликларидан йиғиб олинган. Замбурууг турларини идентификация қилиш морфологик-культурал хусусиятларидан фойдаланиш ва 1 элонгация омили (*tef 1*) ген қисмини секвенслаш орқали амалга оширилди. Картошка туганақларидан ажратиб олинган штаммларни таҳлил қилиш натижасида *Fusarium oxysporum* SC, *F. solani* SC, *F. sambucinum* SC, *F. incarnatum-equiseti* SC турлар комплекси мавжуд эканлиги маълум бўлди. Тадқиқ этилган барча штаммлар зарарланган помидор мевалари сингари картошка туганақларини ҳам муваффақиятли зарарлаш хусусиятига эга эканлиги аниқланди.

Калит сўзлар: картошка фузариози, картошка туганақларининг қуруқ чиршиш, тропик сабзавотчилик, помидор фузариози.

Картофель — одна из самых популярных и перспективных культур в Уганде. Это одна из основных культур, приносящих доход мелким фермерам. Ежегодно в Уганде

производится около 327,3 тыс. тонн урожая картофеля на площади 111 тыс. га при средней урожайности 7 т/га. Картофель выращивают в основном мелкие фермеры, в основном без специальной подготовки в области сельскохозяйственных наук. Средняя площадь поля составляет 1,51 га. Самый популярный сорт Виктория не отличается высокой урожайностью и устойчивостью к болезням, но его раннеспелость привлекает местных аграриев, позволяя собирать урожай два раза в год без необходимости возделывания урожая картофеля в засушливый период с ноября по февраль.

Низкие урожаи являются серьезной проблемой при выращивании картофеля в африканских тропиках. В Уганде ежегодно от болезней и вредителей теряется до 60 % урожая картофеля, а затраты на пестициды составляют до 50 % от общей стоимости продукции. Опрос [1], проведенный среди картофелеводов в странах Африки к югу от Сахары, показал, что большинство фермеров (95%) указали низкое качество семян среди причин, приводящих к низкой урожайности картофеля. Отмечено также развитие бактерии *Ralstonia solanacearum*, вирусов, фитофтороза, плохое фитосанитарное состояние почв.

Томат также является популярной культурой в Уганде. Его можно выращивать в течение всего года. Производство помидоров в Уганде увеличилось с 5700 тонн в 1972 году до 37 654 тонн в 2021 году.

Для эффективной защиты картофеля и томата от болезней необходимо знать видовой состав микроорганизмов, ассоциированных с растениями. Исследования разнообразия грибов, поражающих картофель и томат в Уганде, практически не проводились. Целью данной работы было определение видового разнообразия рода *Fusarium*, ассоциированного с растениями картофеля и томата.

Материалы и методы

Образцы зараженных клубней картофеля и плодов томата были собраны с ферм в четырех разных районах Уганды. Выделение осуществляли прямым переносом пораженной ткани, мицелия или спор гриба на чашки Петри с картофельно-декстрозным агаром (КДА) с добавлением пенициллина (бензилпенициллина натриевая соль, 1 млн ЕД/л). Отбор спор и мицелия из проб проводили стерильной заостренной препаративной иглой под бинокулярным микроскопом (МБС-10, Россия). Штаммы сходной морфологии, выделенные из одних и тех же поврежденных образцов, исключали из рассмотрения.

Для выделения ДНК мицелий гриба растирали в ступке с добавлением оксида алюминия и гомогенизированный материал переносили в микропробирку объемом 1,5 мл. К нему добавляли 800 мкл лизирующего буфера СТАВ (100 мМ TRIS Ph 8.0; 1,4 М NaCl, 20 мМ ЭДТА, твердое вещество СТАВ, 2% (масса/объем)). После перемешивания смесь выдерживают в течение часа на водяной бане при температуре +65°C, очищают хлороформом, осаждают смесью изопропанола и ацетата калия (1/10 объема, 5М, рН=4,6), промывают с 70% этанолом, затем растворяют в деионизированной воде для хранения при -20°C.

ПЦР проводили на амплификаторе Biometra T1 (Biometra, Германия). На одну пробу брали по 0,5 мкл 100 мМ прямого и обратного праймеров, по 0,5 мкл dNTP 10 мМ, 0,5 мкл ДНК-полимеразы (5 ед./мкл), 2,5 x 10x ПЦР-буфера. Амплифицировали фрагменты гена *tef1* (праймеры EF1 и EF2, [2]). Программа амплификации: 94°C (1 мин), 30 циклов, состоящих из денатурации при 94°C (30 сек), отжига праймеров 54°C (30 сек),

элонгации 72°C (70 сек); окончательная элонгация при 72°C (5 мин). В каждый эксперимент включали отрицательный (вода, не содержащая нуклеиновых кислот) и положительный (известная ДНК, дающая ампликон определенного размера) контроли. После реакции длину и чистоту продуктов ПЦР контролировали электрофорезом в 1% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. После электрофоретического разделения кусок геля, содержащий ампликон нужного размера, вырезали из геля стерильным скальпелем и помещали в микропробирку. Далее следовали инструкциям, указанным в описании набора для выделения ДНК из геля CleanUp Standard (ООО «Евроген», Россия). Секвенирование ДНК проводили по методу Сэнгера в ООО «Евроген». Полученные последовательности сравнивали с последовательностями из базы данных NCBI GenBank. Анализ последовательности ДНК проводили с помощью программы Mega 10.

Результаты

Анализ части гена *tef* 25 штаммов из картофеля и 9 штаммов из томата показал, что все исследованные штаммы распределились между 4 видовыми комплексами: *F. incarnatum-equisety* SC, *F. sambucinum* SC, *F. oxysporum* SC, *F. solani* SC. Наибольшее число проанализированных штаммов принадлежали к комплексам *F. incarnatum-equisety* SC и *F. oxysporum* SC. В комплексы *F. sambucinum* SC и *F. solani* SC попали 1 и 2 штамма соответственно, причем все штаммы были выделены из клубней картофеля. В *F. oxysporum* SC вошли 15 штаммов с клубней картофеля, между которыми были выявлены незначительные различия. В эту же группу попали присутствующие в базе Genbank NCBI штаммы, также ранее выделенные с клубней картофеля в России и Польше. Значительно более высоким разнообразием отличался *F. incarnatum-equisety* SC, в который попали 3 штамма, выделенные из клубней картофеля, и 6 штаммов из плодов томата. Штаммы из картофеля были выделены из клубней, выращенных в разных регионах Уганды. Штаммы оказались генетически идентичными по участку гена *tef* и сгруппировались со штаммом, выделенным из почвы в Нидерландах и определенном авторами как *F. flageliforme*. Томатные штаммы *F. incarnatum-equisety* SC оказались более разнообразными и разделились на 4 группы, из которых 3 были представлены единственным штаммом. Штамм 20UgTF2 сгруппировался со штаммом, ранее выделенным с баклажана в Танзании, 20UgTF3 – со штаммами с арахиса из Мексики и из бразильской пшеницы, 20UgLaTF9 – со штаммом из банана из Танзании. Генетически близкие штаммы 20UgLaTF7, 20UgLaTF1, 20UgTF5/1 и 20UgLaTF5/2 выделенные из плодов томата, выращенных в двух удаленных друг от друга частях Уганды, оказались близки коллекционному штамму из *F. incarnatum-equisety* SC, определенному как *F. citri*.

Обсуждение

Изучение культурально-морфологических особенностей, а также структуры видоспецифических участков исследуемых штаммов позволило идентифицировать виды грибов, обнаруженных на клубнях картофеля и плодах томатов в Уганде. Интересно провести сравнение встречаемости угандийских видовых комплексов *Fusarium* со встречаемостью комплексов видов в России и Вьетнаме (неопубликованные данные нашей лаборатории), Польше [3], США [4], Южной Корее [5] Алжире [6] и Китае [7]. *F. oxysporum* SC преобладают на клубнях картофеля во всех странах, кроме Алжира. Штаммы из комплексов *F. incarnatum-equisety* SC отмечены повсеместно, *F. solani* SC –

езде, кроме Китая. *F. sambucinum* SC обнаружен во всех странах, *F. tricinctum* SC – во всех, кроме Уганды. Виды комплексов *F. lateritium* SC и *F. nisikadoi* SC обнаружены только в России, *F. fujikuroi* SC – в России и Алжире.

В нашем исследовании на томате в Уганде были обнаружены штаммы комплексов *F. incarnatum-equiseti* SC и *F. oxysporum* SC. *F. incarnatum-equiseti* SC был наиболее распространенным типом фузариоза, поражающим томаты. В исследовании поражений томатов фузариозом в Северном Пакистане 68,9% были *F. incarnatum-equiseti* SC, 20,7% *F. graminearum* SC, 6,8% *F. acuminatum* и 6,8% *F. solani* [8]. Представители *F. oxysporum* SC были обнаружены на растениях томата в разных странах, в том числе в Нигерии [9]. По-видимому, объем выборки недостаточен для полной идентификации видов и видовых комплексов *Fusarium* spp. на картофеле и томате в Уганде.

В заключение следует отметить, что видовое разнообразие грибов, поражающих клубни картофеля и плоды томатов, в тропической зоне изучено слабо и не учитывается при разработке систем защитных мероприятий. В то же время известно, что разные виды *Fusarium* различаются по патогенности и чувствительности к фунгицидам [10]. В связи с этим работы по изучению микобиоты картофеля и томата актуальны и должны быть продолжены.

Сбор образцов и выделение чистых культур осуществлены при поддержке гранта министерства науки и высшего образования РФ (грант 075-15-2019-1868). Определение видовой принадлежности и секвенирование – при поддержке Российского Научного Фонда (грант 23-16-00048).

REFERENCES

1. Harahagazwe, D.; Condori B.; Barreda C.; Bararyenya A.; Byarugaba A.A.; Kude D.A.; Lung'aho C.; Martinho C.; Mbiri D.; Nasona B. et al. How big is the potato (*Solanum tuberosum* L.) yield gap in Sub-Saharan Africa and why? A participatory approach. *Open Agriculture*, **2018**, 3, 180–189. <https://doi.org/10.1515/opag-2018-0019>.
2. O'Donnell, K.; Kistler, H.C.; Cigelnik, E.; Ploetz, R.C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **1998**, 95, 2044–2049.
3. Stefańczyk, E.; Sobkowiak, S.; Brylińska, M.; Śliwka, J. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland. *Eur. J. Plant Pathol.* **2016**, 145, 871–884. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0875-0>.
4. Gachango, E.; Hanson, L.E.; Rojas, A.; Hao, J.J.; Kirk, W.W. *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides. *Plant Disease*, **2012**, 96, 1767–1774.
5. Kim, J.C.; Lee, Y.W. Sambutoxin, a new mycotoxin produced by toxic *Fusarium* isolates obtained from rotted potato tubers. *Appl. and Env. Microbiol.*, **1994**, 60, 4380–4386.
6. Azil, N.; Stefańczyk, E.; Sobkowiak, S.; Chihat, S.; Bouregghda, H.; Śliwka J. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. *Eur J Plant Pathol* **2021**, 159, 495–509. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02177-5>

7. Du, M.; Ren, X.; Sun, Q.; Wang, Y.; Zhang, R. Characterization of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in China and susceptibility evaluation of Chinese potato germplasm to the pathogen. *Potato Research*, **2012**, *55*, 175–184.
8. Akbar, A.; Hussain, S.; Ullah, K.; Fahim, M.; Ali, G.S. Detection, virulence, and genetic diversity of *Fusarium* species infecting tomato in Northern Pakistan. *PLoS One*. **2018**, *13*(9), e0203613. doi: 10.1371/journal.pone.0203613. PMID: 30235252; PMCID: PMC6147440.
9. O.A. Borisade, Y.I. Uwaideem and A.E. Salami Preliminary report on *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* (Sensulato) from some tomato producing agroecological areas in Southwestern Nigeria and susceptibility of F1-resistant tomato hybrid (F1-Lindo) to infection. *Ann. Res. Rev. Biol.*, *18* (2) (2017), pp. 1-9
10. Hanson, L. E.; Schwager, S. J.; Loria, R. Sensitivity to thiabendazole in *Fusarium* species associated with dry rot of potato. *Phytopathology*, **1996**, *86*, 378–384.