

А.Б. Исмагулова\*, Ж.А. Тулегенова, А.Д. Спанбаев, А.М. Шалабаева

Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан

\*Хат-хабарларға арналған автор: altynai14.02@mail.ru

## Құлпынай түрлерін зақымдайтын *Botrytis cinerea* саңырауқұлағын зерттеу

Мақала жидектердің ішінде сұранысқа және пайдалы қасиеттерге ие құлпынай жемісінің түрлерін зақымдайтын зиянды патогенді саңырауқұлақ сұр шірік ауруының қоздырғышын зерттеуге арналған. Зерттеу жұмысының мақсаты — *Fragaria moschata* жемісінің зиянды патогенді қоздырғышы *Botrytis cinerea* саңырауқұлағын бөліп алып, оны жан жақты анықтау. Яғни, патогенді саңырауқұлақ өсіндісін бөліп алып, оны молекулалық-генетикалық әдіспен идентификациялау және патогенділігін қайта инокуляциялау арқылы айқындау. Сұр шірік ауруы құлпынай өсімдігін тек вегетациялық кезеңде ғана зақымдамай, сонымен қатар жинағаннан кейінде өнімнің сапасын нашарлатып, орасан зор зиянын тигізеді. Сондықтан, зиянды саңырауқұлақ қоздырғыштарын анықтап, жан-жақты зерттеу аурудың алдын алып, онымен күресу шараларын ұйымдастыруға практикалық маңызы зор. Зақымдалған құлпынай жемістерінен қатты қоректік ортада өсіру арқылы жинақтаушы және таза өсінділерді изоляциялап, морфологиялық-өсірінді және молекулалық-генетикалық әдістер арқылы идентификациясы жасалды, талдау нәтижесінде 99,62 % *Botrytis cinerea* түрімен сәйкес болды. Патогенділік қасиеті құлпынай жемісінде инокуляциялау арқылы дәлелденді. Еліміздің құлпынай алқаптарына айтарлықтай зиян келтіретін патогенді саңырауқұлақ — *Botrytis cinerea* саңырауқұлағы заманауи молекулалық-генетикалық әдіс арқылы иелентификацияланып, ары қарай онымен күресудің шараларын ұйымдастыруға негіз болады.

*Кілт сөздер:* *Fragaria moschata* өсімдігі, *Botrytis cinerea*, молекулалы-генетикалық әдіс, мицелий қоректік орта, конидия, геномдық ДНК.

### *Kipicne*

Әлемде және елімізде коммерциялық мақсатта өсірілетін құлпынайды систематикалық тұрғысынан жіктесек *Rosales* қатары, *Rosaceae* тұқымдасы, *Fragaria* туысына жатады [1].

Құлпынай жидектерінің жаңа піскені де, өңделген түрімен қатар өте жақсы сұранысқа ие. Жидектерін сусын, йогурт, жүгері үлпектері, түрлі тәттілер мен ішімдіктерде жиі қолданылуы құлпынай сұранысын бұрынғыдан да еселей түсті. Сұраныстың көбеюіне, сонымен қатар жидектерінің денсаулыққа пайдасы да әсер етуде [2].

Піскен құлпынай жемісі 90 % судан және 10 % суда еритін құрғақ заттардан тұрады және құрамы қоректік заттарға бай. Бір порция (10 дана) құлпынай жемісінде жоғары дәрежеде С дәрумені бар және диеталық талаптарға 95 % сәйкес келеді. Құлпынайда қант 80 % құрайды, ал жалпы құрғақ салмағы 40 % глюкоза мен фруктозаны құрайды. Сонымен қатар, құлпынайда эллаг қышқылы болғандықтан канцерогенге қарсы деп саналады. Негізгі зерттеулер жемісті өсіру және жиналғаннан кейін оның сапасын жақсарту мақсатына бағытталған болып келеді. Себебі, жиналғаннан кейін жемістің 40 % -ы шіріп кетеді.

Кең алаңқайларда өсірілген құлпынайдың өндірісі мен жемістің сапасын арттыру мақсатында көптеген зерттеу жұмыстары жүргізілуде [3-4].

*Botrytis* түрлері ең кең таралған өсімдік патогендері мен сапрофиттерінің бірі болып саналады [5]. Ботритис түрлері планетадағы өсімдіктердің ең көп таралған қоздырғыштарының бірі болып табылады және оларды жұқтырған қожайын-өсімдік түрлері тропикалық аралдардан арктикалық тундраға дейін және тропикалық ормандардан шөлге дейін барлық климаттық белдеулерде кездеседі. Ботритис түрлері далада және жылыжайда аурулар мен егіннің едәуір жоғалуын тудырады; олар сонымен қатар ұсақ жемістерден бастап кесілген гүлдерге дейін, пияз және сарымсақ сияқты бұлдыр дақылдарға дейін көптеген дақылдарды жұқтыратын маңызды қоздырғыштар болып табылады, тіпті оларды жұқтырған тұқымдармен де анықтауға болады [6].

Сұр зең (*Botrytis cinerea*) әлемдегі 200 мәдени өсімдікке қауіп төндіретін некротрофты тіршілік ететін патоген. Оның емі үшін көптеген фунгицид табылғанымен, генетикалық вариацияға байланысты сәтсіз аяқталды [7].

*B. cinerea* конидиялары өте жиі ауа арқылы таралады және конидиялардың көп болуы өсімдіктердің сезімтал бөліктеріне қону мүмкіндігін арттырады. Бұл қожайынға жетудің ең айқын тәсілі болғанымен, жалғыз ғана жолы емес. *B. cinerea* конидияларын сезімтал өсімдік мүшелеріне жәндіктер де тасымалдай алады. Жаңа Зеландиялық гүл трипсі жүзімге патоген конидиясын жеткізуші болып саналады [8]. Гавайядағы зақымданған *Myrica faya* жеміс шоғырынан жиналған *Amorbia emigratella* және *Cryptoblabes gnidiella* ересектері мен жеміспен қоректенетін дернәсілдері *B. cinerea* тіршілікке қабілетті конидияларымен аса зақымданған [9]. Патогеннің тіршілікке қабілетті конидиялары сонымен қатар *Drosophila melanogaster* ішкі ас қорыту жолынан [10] және ересек саңырауқұлақ массаларының сыртқы денелерінен [11] бөлініп алынған. Онымен қоса, бұл масалар сұр шірікке аса сезімтал қылқан жапырақтылардың өскіндері өсетін жылыжайда мекен еткен.

*B. cinerea* ферменттерді, соның ішінде кутиназа, пектиназа және протеазаларды қолдану арқылы немесе табиғи саңылаулар (мысалы, ашық лептесіктер) не жараларды пайдалану арқылы қожайын тіндеріне тікелей ене алады. Инфекция процесі дала жағдайында минималды 12 °С, оптималды 15 °С температурада оңтайлы дамиды. Алайда Bulger *et al.* құлпынай гүлдерінің зақымдануы үшін оптималды температура шамамен 20 °С болатындығын және 24 сағ ылғалдылық кезінде 100 % инфекция орын алатындығын көрсеткен. Құлпынай жемістерінің инфекциясы зақымданған гүлдерден мицелийдің таралуы арқылы жүреді [12-13]. Bristow конидиялар аналық аузына қонғаннан соң аналық аузы сұйықтығында жедел өне бастайтындығын, алайда аналықтан гүлшоғырға дейін төмен қарай таралуы үшін 4–6 апта қажет ететіндігін анықтады. Алайда қазіргі кезде инфекцияның ең маңызды жолы аталықтан төмен қарай таралатын өнген конидиялардан дамыған мицелий екендігі белгілі болды [14].

Жас құлпынай жапырақтары және жеміс гүлшоғыры секілді мүшелерде патоген жасырын немесе тыныштық күйіндегі инфекция тудыруы мүмкін [15]. Құлпынай жапырақтарында *Braun and Sutton* жүргізген микроскопиялық бақылаулар саңырауқұлақтар эпидермальды клеткаларда тірі қалуды қамтамасыз ететін қосымша механизм болып саналатын тыныштық күйіндегі кең, ашық пигменттелген гиф түрінде болатындығын анықтады [16]. Құлпынай жемісінде тыныштық күй жетілмеген жемістерде жоғары концентрацияда жинақталатын проантоцианидиндер секілді фермент-ингибируші танниндерге байланысты болып табылады [17]. Конидиялар тозаңнан қоректік заттарды ала отырып өнеді және гифтер гүлшоғырға тарала бастайды. Бұл жерде болатын көптеген фунгистатикалық және фунгитоксикалық қосылыстар гифтардың одан әрі таралуын тежейді, бұл өз кезегінде тыныштық күйге өтуіне себепші болады. Гифтер қысқа фрагменттерге ыдырайды және тежеуші қосылыстар деңгейі төмендеп, қант деңгейі артатын жеміс пісуі кезіне дейін саңырауқұлақтың өсуі тоқтайды [18]. Бұл жасырын кезең алмұрт, құлпынай, таңқурай, қара қарақат, алма, жүзім, баялды және макадамия секілді көптеген ауыл шаруашылық дақылдары ауруының бастапқы кезі болып саналады және өнімді жинау кезінде еш белгі байқалмаған өнімдерді тасымалдау немесе сақтау кезінде аса ауыр салдарларға әкеліп соғуы мүмкін [19].

Құлпынай жапырақтарында барлық сыналған ылғалдылық деңгейі үшін спора түзудің оптималды температурасы 17 және 18 °С болып табылады, 25 °С температурада спора түзуі кемиді, ал 30 °С температурада түзілу тоқтайды [20]. Жарықтың қарқындылығы да, түрі де маңызды: 12 сағат сәулелендіру және оған жалғастырып 8 сағат қараңғылықта ұстау спора түзілуіне жағдай жасайды. Культивирлеу кезінде спора түзілуіне ықпал жасау үшін өсу ортасында осмостық қысым концентрациясын арттыру және толқын ұзындығы 290–400 нм жақын ультракүлгін жарығымен әсер ету, сонымен қатар  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  немесе аспарагин қосу қолданылады [21-22]. Оптималды жағдай жасалған соң саңырауқұлақ өзінің классикалық полициклді табиғатын көрсете алады және бір инфекциялау циклі 3–4 күнде аяқталады [23].

Склероций саңырауқұлақтың ұзақ мерзімдік тіршілігін сақтау үшін ең эффективті құрылым болып табылады [23]. Оның түзілуіне төмен рН ықпал етеді. Вегетативті өсу үшін минималды салыстырмалы ылғалдылық (RH) 93 % және мицелий 90–100 % RH, 0 °С температурада бір жыл немесе одан ұзағырақ тіршілігін сақтай алатындығы анықталған. Ал склероций бұл температурада бір жылдан астам уақыт сақтала алады, алайда мұндай жоғары ылғалдылық деңгейлері оған кері әсер етеді [24]. Мицелий түзілуіне ықпал ететін температура склероций түзілуін тежейді және керісінше.

Гюрер мен Жошкун атты ғалымдар құлпынайлардың жапырағы, жемісі, тамыры мен тамырының басындағы ауруларға себеп болатын саңырауқұлақ факторларын анықтау және құлпынайдың кейбір сорттарының оларға қарсы реакциясын бақылау үшін жүргізілген зерттеу жұмысында *Mycosphaerella fragaria*, *Phoma leveillei* жапырақта, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* жемісте, *Fusarium* spp. және

*Pythium* spp. тамырда ауру тудыратын басты саңырауқұлақтар екені анықталды [25]. Зерттеуге алынған сорттар арасында Ялова-15, Ялова-104 және Алиса сорттары *Botrytis cinerea* және *R. stolonifer*-ге сезімтал екені анықталды.

Құлпынайда сұр зең ауруын тудыратын және орасан зор шығынға себеп болатын *Botrytis cinerea*-ға қарсы қай сорттың төзімділігі жоғары екенін анықтау мақсатында зерттеу жұмысы жүргізілген. Бұл зерттеу жұмысында құлпынайдың 10 мәдени сортының (Aliso, Annapolis, Maralina, Elvira, Delmarwel, Muir, Tufts, Honeoye, Tudla, Tiago) патогендік эволюциясы тексерілді. Дельмарвел сортының басқа сорттармен салыстырғанда кейінірек гүлдеп, кейінірек жеміс беруіне байланысты ауруға төзімді екендігі байқалды [26].

Тіпті Флоридада құлпынай өсірушілер қорғаушы фунгицид пайдаланғандарына қарамастан *Botrytis cinerea* жемістердің 15 %-н шығын еткені белгілі [27].

Гүлдеу кезеңінде жоғары салыстырмалы ылғалдылық немесе жер ұзақ уақыт ылғал болса, ал жеміс беру кезеңінде 15–25 °С температурада шіриді. 15–25 °С температурада жапырақ ылғалдылығы 6 сағаттан 24 сағатқа созылғанда сұр зең (*Botrytis cinerea*) конидиялары инфекциясының 90 %-ға артқаны байқалды. Жапырақ беті ылғалдылығы 16 сағат болғанда 10–30 °С температурада айтарлықтай инфекция болмайтынын, тек 4 °С-та инфекция болатыны анықталды.

Жемістердегі сұр шірік ауруының асқинуы жемістердің көктүйнек кезеңінен алғашқы жиынға дейін, яғни 11–30 күн ішінде жауын-шашын мөлшеріне байланысты болады [28]. Зерттеу жұмысында маңызды ауылшаруашылық өнімдерінің бірі құлпынайдың басты дерлік проблемасы сұр зең ауруына назар аударылды.

#### Материалдар мен әдістер

Қазіргі кезде құлпынайдың *Fragaria* мен *ananassa* Duch. будандарының түрлері еліміздің негізгі түрі болып есептеледі.

Сұр зең (*Botrytis cinerea*) зерттеулері ауру және сау жемісті, шірік инфекциясын бақылау және оларды жинақтау түрінде жүргізілді. Әр 10 күнде бір белгі салынған 30 өсімдікті ауру өсімдік саны, ауру және сау жеміс және сұр шірік инфекциясы тұрғысынан бақылап отырды.

*Botrytis cinerea* қоздырғышымен зақымдалған белгілері бар құлпынайлардың үлгілері 2017 жылдың маусым айында Семей облысындағы Старая Крепость елді мекенінің жеміс алқаптарынан жинақталып алынды (1-сурет).



1-сурет. Старая Крепость аймағынан жинақталған *Botrytis cinerea*мен зақымдалған құлпынай жемісі

Жидектерінде ашық қоңыр зақымдалулары ары қарай үлкейіп, мицелийлері өсіп, споралар массасы пайда болады. Ауру белгілері бар саңырауқұлақ үлгілерінен ауру қоздырғышының спораларын 3–5 диаметр бөліктерге бөліп, 1 мин 2 % NaOCl ортасымен залалсыздандырып, картофельді-декстрозалы агарға (PDA) дезинфекцияға 25 °С температурада 4–5 күн инкубациялайды.

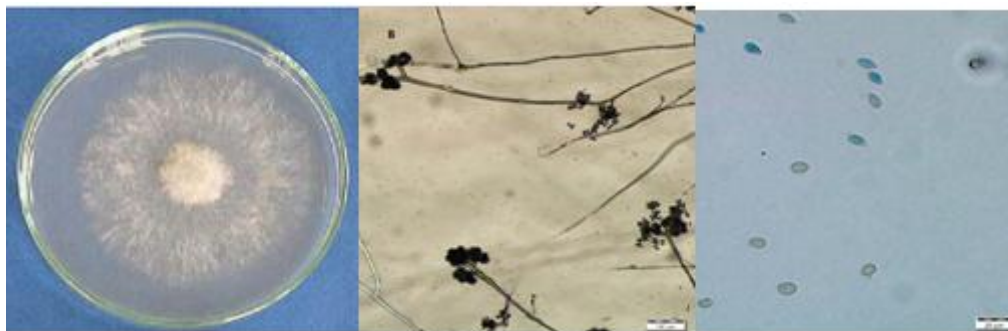
Алынған өсімділердің биомассасынан ДНҚ бөлу СТАВ хаттамасы арқылы жүргізілді. Алынған материал гель электрофорезде және спектрофотометрде сапалық және сандық анықталғанан кейін ПТР-де амплификацияланды. Ол үшін келесідей эмбебап праймерлер ITS1-ITS4 (микромитеттің ITS аймағын секвенирлеу үшін) қолданылды. Амплификацияланған ДНҚ фрагменттері 1 %-дық TE буфері қолданылған агарозды геледе ажыратылып, қорытындысы ультракүлгін сәулесінің астында тексерілді.

ДНҚ-ны секвенирлеуде үлгіні тұнбаға түсіріп алу маңызды кезең болып табылады. Бұл кезең қондырғыны дайындаған фирманың хаттамасына сәйкес өткізіледі. ITS бөліктерін секвенирлеу процесі 8 сағатқа жалғасады. Секвенирлеу аяқталғаннан кейін алынған секвенисті талдау жоспары бағдарланған Chromas 2.33, Vector NTI Advands 10 пайдалана отырып жасалады. Алынған секвенс талданады да, алынған нуклеотидтер қатары BLAST бағдарламасы арқылы өңделеді; нуклеин қышқылдарының қатарының құрылымын табу мақсатында BLAST қондырғысы GenBank гомологтарының тізбектерімен салыстыра отырып талдау жүргізіледі.

Инокуляциялау арқылы бөлініп алынған сұр шірік қоздырғышының патогенділігі анықталды. Ол үшін зарарсыздандырылған құлпынай жемістеріне арнайы ыдыстарға  $1 \cdot 10^6$  конидия/мл концентрациядағы PDA ортасындағы 7 мм диаметрдегі кесіндідегі спораларды араластыру және салыстырмалы бақылау үлгілерімен әрқайсысы полиэтилен қапшықтарына салынды.

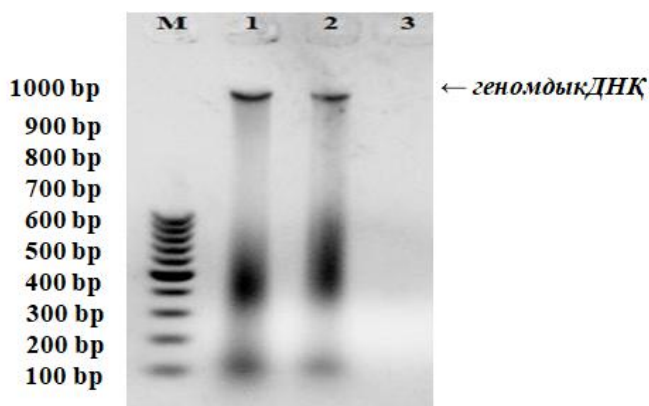
#### Зерттеу нәтижелері

Петри табақшаларындағы өсінділер алғашында түссіз болады және конидия тасығыштарындағы конидия форалары мен конидий дамыған соң сұр және қоңыр түске боялды. Конидийлері мөлшері 4,99 ден  $9,36 \times 3,70$  тен 6,36 мкм, олар түссізден бір жасушалы, эллипс тәрізді, шар және ағаш тәрізді конидия тасығыштардан тұрады (2-сурет).



2-сурет. *Botrytis cinerea* конидийлары мен конидиоспоралары

Саңырауқұлақ биомассасынан геномдық ДНҚ бөліп алу СТАВ жиынтығы арқылы жүзеге асырылды. Нәтиже бойынша 3-суретте көріп отырғандай, геномдық ДНҚ-мен бірге көп мөлшерде РНҚ молекулалары да бөлініп шыққанын электрофореграммадан байқауға болады. Дегенмен бұл бөлінген РНҚ молекулалары одан әрі рибосомалық ДНҚ гендерін қолдана отырып *Botrytis cinerea* қоздырғышы ерекшеліктерін идентификациялауға кедергі келтірмейді. СТАВ әдісі саңырауқұлақ биомассасынан ДНҚ бөлу үшін ыңғайлы әдіс, үлгілерді дайындау қысқа мерзімде жүзеге асады және ДНҚ-ны бөлуге кететін уақытты азайтады.

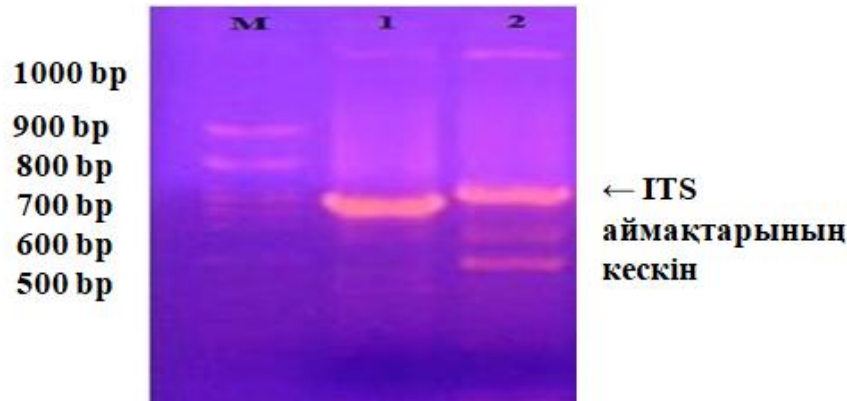


3-сурет. СТАВ әдісі арқылы бөлініп алынған геномдық ДНҚ

Саңырауқұлақ *Botrytis cinerea* деп идентификацияланды (Ellis, 1971). ITS1/ITS4 праймерлерін (ITS1 5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G3' және ITS4 5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GCC3

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) колданып ішкі транскрипцияланатын спейсер (ITS) рибосомалық РНҚ аймағы амплифицирленді.

Ал 4-суретте үлгілердің ITS аймағының амплификацияланған өнімдері 700 bp аймағында орналасқанын байқауға болады. *Botrytis cinerea* ДНҚ-сының ITS аймағының нуклеотидтер реттілігін (секвенирленді) анықталды. Алынған сиквенс толықтай талданылған соң тізбекті NCBI, GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) деректер қорындағы халықаралық компьютерлік мәліметтер гомологтарының тізбектерімен салыстыру мақсатында Fasta үлгісінде NBLAST бағдарламасына салынып, көптік теңестіру жүргізілді.



4-сурет. Амплификацияланған ДНҚ фрагменттері

Секвенирлеу процесінде алынған нәтижелер BLAST бағдарламасына экспортталып, GenBank мәліметтер базасымен нуклеотидтер реттілігін негізге ала отырып салыстырылып және талдаудың негізінде зерттеуге алынған изоляттардың идентификациясы жүргізілді (GenBank Accession No. MT150132 (<https://doi.org/10.1094/pdis-03-20-0525-pdn>)).

Бірінші кестеде секвенирленген қатарды GenBank мәліметтер базасымен BLAST нуклеотидтер салыстырмалы талдау негізінде алынған изолят гомология *B. cinerea* (MH992149.1) түрімен 99,62 % екенін көрсетті (1-кесте).

1 - кесте

**Секвенирлеу нәтижесіндегі нуклеотидтер қатарын BLAST арқылы салыстырмалы талдау**

Рибосомалық РНҚ аймағы	Нуклеотидтер қатары (фаста)	Фаста номері	Түрдің атауы	Сәйкестік, %
2 ITS	TTTATAGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGT GAACCTGCGGAAGGATCATTACAGAGTTCATG CCCGAAAGGGTAGACCTCCACCTTGTGTATTACT TTGTTGCTTTGGCGAGCTGCCTTCGGGCCTT GTATGCTCGCCAGAGAATAACCAAACTCTTTTATTAAT GTCGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAACT TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGA ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT GCGCCCCTTGGTATTCGGGGGGGCATGCCTGT TCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTTAGCTTGGTATTG AGTSTATGTCSAGTAATGGCAGGCTCTAAAAT CAGTGCGCGCGCCGCTGGGTCCTGAACGTAGTAATATC TCTCGTTACAGGTTCTCGGTGTGCTTCTGCCA AAACCCAAATTTCTATGGTGACCTCGGATCAGGTAGG GATACCCAGCTGC	MH992149.1	<i>Botrytis cinerea</i>	99,62

Осы морфологиялық және нуклеотидтер гомологиялық мәліметтер негізінде изолят *B. cinerea* деп анықталды.

Патогенділігі туралы тесттер 20 зарарсыздандырылған құлпынай жемістер беткейінде белсенді өсуге қабілетті, диаметрі 7 мм PDA кесінділерімен инокуляциялау арқылы жүзеге асырылды.

4-суретте көріп отырғандай, оны 25 °С герметикалық пластик пакеттерінде инкубациялау арқылы жүзеге асырылды. Бақылау үлгісі ретінде жемістерін коллогияланбаған PDA кесінділерін пайдаланып, жүргізілді.

Екі күннен соң бақылау үлгісін қоспағанда инокуляцияланған жемістерде сұр шіріктің қалыпты симптомдары анықталды. Кох постулаты сол жемістерден *B. cinerea* саңырауқұлағын бөліп аларда қолданылды. *B. cinerea* саңырауқұлағы құлпынайдың жиын-теріні алдындағы жемістердің шіруін тудыратын ауру болып табылады.

### Қорытынды

Еліміздің құлпынай егу алқаптарынан жинақталған зақымдалған жеміс үлгілерінен үлгілерден патогенді саңырауқұлақ ауру қоздырғышы бөлініп алынып, олардың морфологиялық-өсімді сипаттамасы жасалды. Сонымен қатар, қатты қоректік ортада өсірілген осы патогеннің биомассасынан геномдық ДНҚ бөлініп алынып, молекулалы-генетикалық әдіс арқылы зерттеулер жүргізіліп, идентификацияланған түр 99,62 % *Botrytis cinerea* саңырауқұлағына сәйкес келді.

Анықталған аталмыш түрдің патогенділік қасиеті құлпынай жемістеріне спораларды инокуляциялау арқылы дәлелденді.

Қазақстанда құлпынай өндірісінің артуына байланысты айтарлықтай экономикалық шығындардың артуына әкеледі. Сондықтан зерттеу барысында анықталған аурумен күресудің шаралары туралы тереңірек зерттеу жүргізу қажеттілігі туындайды.

Еліміздің алқаптарындағы құлпынайдан бөлініп алынған осы *Botrytis cinerea* өсімділеріне антогонистік түрлерді анықтауға бағытталған зерттеулер алдағы уақытта жүргізілу жоспарлануда.

### References

- 1 Hancock, J.F. & Luby, J.J. (1993). Genetic Resources at Our Door Step the Wild Strawberries. *Bioscience*, 43, 141–147.
- 2 Aǵaǵlu, A.Ü. (2006). II. *Ulusal Üzüm Sü Meyveler Sempozyumu*. Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ders Kitabı, 1–7.
- 3 Hannock, J.F. (1999). *Strawberries*. New York: CABI Publishing.
- 4 Mass, J.L. (1998). *Compendium of strawberry diseases*. USA: The American Phytopathological Society.
- 5 Jarvis, W.R. (1977). *Botryotinia and Botrytis species: taxonomy, physiology, and pathogenicity: a guide to the literature*. London, New York: Academic Press, 15; 195.
- 6 Elad, Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Grop Protection*, 19 (8); 709–714. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00094-6](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00094-6).
- 7 Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. & Vankan, J. (2007). *Botrytis cinerea* the cause of grey mold disease. *Molecular plant pathology*, 8(5); 561– 580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>.
- 8 Marroni, B. (2003). *The influence of flower-feeding thrips on grape bunch rot*. Thesis Master Degree. Lincoln: Lincoln University.
- 9 Duffy, B.K. & Gardner, D.E. (1994). Locally established *Botrytis* fruit rot of *Myrica faya*, a noxious weed in Hawaii. *Plant Disease*, 78; 919–923. <https://doi.org/10.1094/PD-78-0919>
- 10 Louis, C., Girand, M., Kuhl, G. & Ferber, M.L. (1996). Persistence of *Botrytis cinerea* in its vector *Drosophila melanogaster*. *Phytopathology*, 86; 934–939. <https://doi.org/10.1094/Phyto-86-934>
- 11 James, R.L., Dumroese, R.K. & Wenny, D.L. (1995). *Botrytis cinerea* carried by adult fungus gnats (Diptera: Sciaridae) in container nurseries. *Tree Planters' Notes*, 46 (2); 48–53.
- 12 Bulger, M.A., Ellis, M.A. & Madden, L.V. (1987). Influence of temperature & wetness duration on infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* & disease incidence of fruit originating from infected flowers. *Phytopathology* 77; 1225–1230. <https://doi.org/10.1094/Phyto-77-1225>
- 13 Braun, P.G. & Sutton, J.C. (1988). Infection cycles & population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 10 (2); 133–141. <https://doi.org/10.1080/07060668809501745>
- 14 Bristow, P.R., McNicol, R.J. & Williamson, B.W. (1986). Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mold development. *Annals of Applied Biology*, 109 (3); 545–554. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1986.tb03211.x>
- 15 Legard, D.E., Martin, F.G., Xiao, C.L. & Chandler, C.K. (2000). Reduced sampling frequency for evaluating fungicide efficacy on *Botrytis* fruit rot of strawberry. *Plant Disease*, 84 (7); 743–748. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.7.743>.
- 16 Braun, P.G. & Sutton, J.C. (1988). Infection cycles & population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 10 (2); 133–141. <https://doi.org/10.1080/07060668809501745>
- 17 Jersch, S.A. (1989). Proanthocyanidins as basis for quiescence of *Botrytis cinerea* in immature strawberry fruits. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 93, 65–378.

- 18 Prins, T.W., Tudzynski, P., von Tiedemann, A., Tudzynski, B., Have, A.T., Hansen, M.E., Tenberge, K. & van Kan, J.A. (2000). Infection strategies of *Botrytis cinerea* and related necrotrophic pathogens. *Fungal pathology*, 33; 77–90.
- 19 Jarvis, W.R. (1977). The infection of strawberry and raspberry fruits by *Botrytis cinerea* Fr, *Annals of Applied Biology*, 50 (3); 569–575. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1962.tb06049.x>
- 20 Sosa-Alvarez, M., Madden, L.V. & Ellis, M.A. (1995). Effects of temperature and wetness duration on sporulation of *Botrytis cinerea* on strawberry leaf residues. *Plant Disease*, 79; 609–615.
- 21 Willets, H.J. (1997). Morphology, development & evolution of stromata/sclerotia and macroconidia of the *Sclerotiniaceae*. *Mycological Research*, 101; 939–952.
- 22 Tan, K.K. & Epton, H.A.S. (1974). Further studies on light and sporulation of *Botrytis cinerea*. *Transactions of the British Mycology Society*, 62; 105–112.
- 23 Gindro, K. & Pezet, R. (2001). Effects of long-term storage at different temperatures on conidia of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. *FEMS Microbiology Letters*, 204 (1); 101–104. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10870.x>
- 24 van den Berg, L. & Lentz, C.P. (1968). The effect of relative humidity and temperature on survival and growth of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotium*. *Canadian Journal of Botany*, 46 (12); 1477–1481. <https://doi.org/10.1139/b68-203>
- 25 Gürer, M. & Çoşkun, H. (1994). *Zonguldak ve Bartın İllerinin Çilek Ekim Alanlarındaki Fungal Hastalık Etmenleri Üzerinde Çalışmalar*. Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, Ankara.
- 26 Çalış, Ö., Çekiç, Ç. & Güneş, M. (2003). *Bazı yabancı çilek çeşitlerinin Botrytis cinerea (kurşuni küf) hastalığına karşı dayanıklılıklarının belirlenmesi üzerine bir araştırma*. Ulusal kivi ve üzümü meyveler sempozyumu.
- 27 Legard, D.E., Martin, F.G., Xiao, C.L. & Chandler, C.K. (2000). Reduced sampling frequency for evaluating fungicide efficacy on *Botrytis* fruit rot of strawberry. *Plant Disease*, 84 (7); 743–748. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.7.743>
- 28 Mass, J.L. (1998). *Compendium of Strawberry Diseases*. Minnesota, USA: APS Press.

А.Б. Исмагулова, Ж.А. Тулегенова, А.Д. Спанбаев, А.М. Шалабаева

## Исследование грибка *Botrytis cinerea*, повреждающего виды клубники

Исследование возбудителя грибковой серой гнили, вредоносного патогена, поражающего плоды видов клубники, которые пользуются широким спросом, и ягоды которых обладают полезными свойствами. Цель исследовательской работы — выделить грибок *Botrytis cinerea*, вредный патогенный возбудитель плода *Fragaria moschata* и провести его всестороннее исследование. Запланировано выделение патогенных грибных культур, их идентификация молекулярно-генетическим методом и определение патогенности путем повторной инокуляции. Болезнь серой гнили наносит огромный вред, не только повреждая растение клубники в течение всего вегетационного периода, но и ухудшая качество продукта после сбора урожая. Поэтому выявление и всестороннее изучение вредоносных грибковых возбудителей является основой, имеющей большое практическое значение для профилактики заболевания и организации мероприятий по борьбе с ним. Из поврежденных плодов клубники путем культивирования на твердых питательных средах были изолированы накопительные и чистые культуры, проведена идентификация морфолого-культуральными и молекулярно-генетическими методами. В результате анализа 99,62 % соответствовали типу *Botrytis cinerea*. Патогенность доказана инокуляцией в плодах клубники. Патогенный грибок *Botrytis cinerea*, который наносит значительный ущерб земляничным полям нашей страны, подвергается дегенерации с помощью современного молекулярно-генетического метода, что в дальнейшем служит основой для организации мероприятий по борьбе с ним.

*Ключевые слова:* растение *Fragaria moschata*, *Botrytis cinerea*, молекулярно-генетический метод, питательная среда мицелия, конидия, геномная ДНК.

A.B. Ismagulova, Zh.A. Tulegenova, A.D. Spanbaev, A.M. Shalabayeva

## Study of the fungus *Botrytis cinerea* that damages strawberry species

The paper studies the causative agent of fungal gray rot, a harmful pathogen that affects the fruits of strawberry species that are in high demand and berries of which have beneficial properties. The purpose of the research work: to isolate the fungus *Botrytis cinerea*, the causative agent of the harmful pathogen of the fruit *Fragaria moschata*, and to study it comprehensively. That is, to identify the pathogen by separating fungal cultures and identifying it by molecular-genetic method and determining its pathogenicity by re-inoculation. The disease of gray rot causes enormous damage to the strawberry plant not only during the growing season, but also after harvesting, worsening the quality of the product. Therefore, a comprehensive study and identification of harmful fungal pathogens will serve as a practical basis for preventing the disease and organizing

measures to combat it. Isolation of accumulative and pure cultures by growing in a solid nutrient medium from damaged strawberry fruits and identification by morphological-cultural and molecular-genetic methods, as a result of the analysis, 99.62 % corresponded to the species *Botrytis cinerea*. Pathogenicity is proven by inoculation in strawberry fruits. The pathogen fungus *Botrytis cinerea*, which causes significant damage to Strawberry Fields in the country, has been identified by modern molecular and genetic methods and serves as the basis for organizing further measures to combat it.

*Keywords:* *Fragaria moschata* plant, *Botrytis cinerea*, molecular-genetic method, mycelium nutrient medium, conidia, genomic DNA.