

DOI

УДК 632.4.01/08:633.1:582.282

ВИРУЛЕНТНОСТЬ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM*, ПАРАЗИТИРУЮЩИХ
НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ В СРЕДНЕВОЛЖЬЕ

И.Б. Частухина, А.Р. Мешеров, Е.А. Рязанов, И.Т. Сахабутдинов, М.Л. Пономарева

Реферат. Инфекционные заболевания, вызываемые грибами рода *Fusarium*, являются одной из причин снижения урожайности и качества продукции зерновых культур. Для выявления наиболее вирулентных изолятов рода *Fusarium* проводили отбор колосьев пшеницы и ржи летом 2022 года на полях Республики Татарстан и приграничных регионов Приволжского федерального округа. С помощью микробиологических высевок из исследованного зерна выделено 13 изолятов, предварительно отнесенных к роду *Fusarium* на основании морфолого-культуральных характеристик. Определение нуклеотидных последовательностей региона ITS2 (internal transcribed spacer) рибосомальных генов позволило подтвердить принадлежность выделенных изолятов к роду *Fusarium*. Большинство этих изолятов отнесено к видам *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, а некоторые изоляты определены до уровня рода. Из 13 выделенных изолятов четыре имели высокую вирулентность при ее оценке, как на зерне пшеницы, так и на растениях ржи, выращенных *in vitro*. На основании анализа последовательностей ITS2 высоковирулентные изоляты предварительно отнесены к видам *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. Остальные выделенные изоляты характеризовались низкой вирулентностью в отношении растений ржи, а на зерне пшеницы проявляли себя как слабо- или умеренно-вирулентные. Помимо выраженных вирулентных свойств обнаруженные виды *Fusarium* обладают потенциальной способностью продуцировать опасные для человека и сельскохозяйственных животных микотоксины, что актуализирует необходимость проведения детальных фитосанитарных исследований на территории Республики Татарстан и приграничных регионов Приволжского федерального округа.

Ключевые слова: зерновые культуры, *Fusarium*, вирулентность, фузариоз колоса, высокопроизводительное секвенирование.

Введение. Микромицеты рода *Fusarium* – опасные и повсеместно распространенные возбудители инфекционных заболеваний целого ряда сельскохозяйственных культур. В большинстве случаев они являются факультативными паразитами, вызывающими массовые заболевания растений только при определенных условиях. Комплексы видов грибов рода *Fusarium* распространены во всех зерносеющих регионах России.

Встречаемость определенного вида определяется климатическими особенностями региона, а его распространенность зависит от температуры, влажности и агротехнических мероприятий. В 2005 г. в Республике Татарстан наибольшее поражение патогенами рода *Fusarium* было отмечено у растений пшеницы (58%), ржи (46%) и ячменя (41%) [1]. В период 2018-2019 гг. в пробах сельскохозяйственной продукции из различных районов РТ были идентифицированы *F. sporotrichioides*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. poae* [2, 3]. В Республике Башкортостан с наибольшей частотой в зерне пшеницы встречались виды *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. graminearum*, *F. avenaceum* [4].

Многие виды фузариевых грибов характеризуются экологической пластичностью и отсутствием органотрофной специализации. Так, поражение зерновых культур этим патогеном может проявляться в виде фузариозных гнилей при инфицировании корней или стеблей, и в виде фузариоза зерна при инфицировании колоса [5]. В ряде случаев фузариоз зерна протекает без видимых симптомов заболевания, например, при заражении растений

грибами видов *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinatum* [6]. Такая скрытая зараженность зерна фузариозом встречается повсеместно, что свидетельствует о необходимости использования молекулярно-генетических методов при идентификации возбудителей и учете вредности данного заболевания.

Одним из наиболее эффективных подходов для определения таксономического положения грибов является метод баркодирования, позволяющий по коротким ДНК-маркерам (или баркодам) выявлять принадлежность организма к определенному таксону.

Применение в качестве такого маркера участка второго внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальных генов (ITS2) позволяет с высокой степенью достоверности классифицировать грибы до родового или видового уровня [7, 8].

Цель работы – идентификация и оценка вирулентности изолятов рода *Fusarium*, выделенных из визуально здоровых и пораженных колосьев зерновых культур, собранных на территории Республики Татарстан и приграничных регионов Приволжского федерального округа.

Условия, материалы и методы. Отбор образцов зерновых культур проводили в июле-августе 2022 г. в период созревания колоса на полях различных районов Республик Татарстан, Башкортостан, Чувашия и Удмуртия, а также Кировской и Ульяновской областей. Отбирали колосья как с видимыми признаками фузариоза (хорошо заметный розовый или оранжевый налет на колосковых чешуйках), так и без видимых симптомов заболевания (скрытая зараженность) (рис. 1).

Выделение грибов рода *Fusarium* проводили методом раскладки зерен на картофельно-сахарозный агар (КСА) с добавлением детергента Triton-X100 (0,04% в конечной концентрации) и 50 мкг/мл ампициллина.

Перед раскладкой на КСА зерна промывали проточной водой и поверхностно

стерилизовали 70 % этанолом (2...3 мин) для удаления микроорганизмов с поверхности зерна. Посевы инкубировали при температуре 23...25°C, периодически просматривая чашки Петри и отсеивая культуры грибов в отдельные пробирки со скошенным агаром для идентификации.



Рис. 1 – Внешний вид колосьев зерновых культур, использованных в работе: 1 – колосья без видимых симптомов поражения фузариозом, 2 – оранжевый налет на колосковых чешуйках

Для получения моноспоровых культур изолированных штаммов *Fusarium* готовили споровую суспензию из смеси гиф и конидий в стерильной воде таким образом, чтобы содержание спор в поле зрения микроскопа при увеличении 100 составляло 1...10 конидий в капле. Полученную суспензию наносили шпателем на поверхность тонкого слоя 2 % водного агара. Через 24 часа под микроскопом в проходящем свете просматривали чашки с нижней стороны, отмечали проросшие, отдельно расположенные конидии гриба, которые стерильно переносили на КСА для дальнейшего роста.

Изоляты предварительно относили к определенным видам на основании совокупности макро- и микроморфологических признаков моноспоровых изолятов, а также анализа последовательности ITS2 региона рибосомальной ДНК. Выделение ДНК осуществляли из мицелия 7-суточных культур, используя набор реагентов DNeasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen, Germany), согласно протоколу производителя. Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих таксономически информативный участок ITS2, проводили с использованием праймеров ITS3_KYO2 (5'-GATGAAGAACGYAGYRAA-3') и ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [7]. Подготовку библиотек проводили согласно протоколу от Illumina (Illumina protocol, part no. 15044223, Rev. B). Мультиплексирование библиотек ампликонов проводили с использованием набора Nextera XT Index Kit v2. Полученные библиотеки секвенировали на платформе MiSeq с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v3 (600 циклов) (Illumina). Филогенетический анализ последовательностей ITS2 анализируемых изолятов и аннотированных последовательностей грибов

рода *Fusarium* из GenBank NCBI проводили методом максимального правдоподобия (maximum likelihood), филограмму укореняли в произвольной точке, выбранной по значениям свободного набора инструментов Bootstrap. Построение филограммы проводили в программе MEGA11.

Оценку вирулентности выделенных штаммов проводили с помощью двух тестов: на семенах пшеницы в чашках Петри и на целых растениях ржи, выращенных в стерильных условиях *in vitro*. Семена мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Надежда поверхностно стерилизовали 70% этанолом в течение 2...3 мин. и замачивали в стерильной воде при температуре 23...25°C. Через 24 часа зерна с набухшим зародышем раскладывали на поверхность культуры гриба, выращенной в течение одной недели на КСА, по 10 штук на чашку Петри в трехкратной повторности. В контрольном варианте зерна раскладывали на поверхности агаризованной среды. Через одну неделю инкубации в темноте при температуре 23...25°C учитывали поражение появившихся ростков с использованием четырехбалльной шкалы: 0 – здоровый проросток, 1 – точечные некрозы ткани, 2 – некроз около 50 % площади, 3 – гибель проростка.

Оценку вирулентности изолятов *Fusarium* на растениях озимой ржи (*Secale cereale* L.) сорта Огонек проводили *in vitro* методом агаровых блоков. Семена ржи промывали и стерилизовали 1% додецилсульфатом натрия (2 раза по 10 мин), 0,01% перманганата калия (10 мин) и 1% и 5% гипохлоритом натрия (5 мин). Стерилизованные семена проращивали в течение 2 суток при температуре 28°C в темноте. Затем проростки переносили в индивидуальные стерильные стеклянные

пробирки объемом 50 мл с 7 мл разбавленной в 4 раза среды Мурасигэ-Скуга без органического углерода. Четырехдневные проростки инфицировали, помещая в пробирку агаровый блок диаметром 8 мм, вырезанный из периферийной части колоний штаммов *Fusarium*. Каждым штаммом инфицировали по 15 растений. В пробирки с контрольными растениями помещали стерильный агаровый блок. Растения выращивали при 16-часовом световом дне, температуре 20°C и влажности 60%. Вирулентность штаммов оценивали через 21 день после инфицирования по биометрическим показателям растений: измеряли сухую биомассу надземной части и корневой системы в сравнении с контролем. Помимо этого, оценивали интенсивность поражения надземной части растений.

Результаты и обсуждение. В течение

лета 2022 г. проведен скрининг полевых образцов колосьев озимых и яровых ржи и пшеницы, предположительно пораженных фузариозом. Повышенная влажность воздуха и теплая погода в фазу цветения - начала созревания благоприятствовали заражению зерновых культур. На питательных средах выделены изоляты, которые по совокупности морфолого-культуральных признаков отнесены к роду *Fusarium*. При этом 40% штаммов изолированы из зерен ржи, а 60% – из зерен пшеницы (табл. 1). На основании кластерного анализа последовательностей региона ITS2 рибосомальной ДНК исследуемых моноконидиальных культур полученные изоляты отнесены к 4 видам – *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. Пять изолятов по данным секвенирования отнесены к *Fusarium sp.* (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1 – Происхождение штаммов грибов рода *Fusarium*

Номер изолята	Видовая принадлежность по ITS	Происхождение	Растение-хозяин	Признаки фузариоза колоса
FsM 10001	<i>Fusarium sp.</i>	Республика Татарстан, Тюлячинский р-н	Озимая пшеница	нет
FsM 10004	<i>Fusarium sp.</i>	Республика Башкортостан, Илишевский р-н	Озимая пшеница	нет
FsM 10005	<i>Fusarium sp.</i>	Ульяновская обл., Цильнинский р-н	Озимая пшеница	нет
FsM 10007	<i>F. sporotrichioides</i>	Чувашская Республика, Шемуршинский р-н	Озимая пшеница	нет
FsM 10009	<i>F. poae</i>	Республика Татарстан, Тетюшский р-н	Озимая пшеница	нет
FsM 10011	<i>F. culmorum</i>	Республика Татарстан, Аксубаевский р-н	Озимая рожь	нет
FsM 10012	<i>F. sporotrichioides</i>	Республика Татарстан, Мамадышский р-н	Озимая рожь	нет
FsM 10014	<i>F. sporotrichioides</i>	Удмуртская Республика, Алнашский р-н	Озимая рожь	оранжевый налет на колосковых чешуйках
FsM 10023	<i>Fusarium sp.</i>	Республика Татарстан, Лаишевский р-н, селекционный севооборот ТатНИИСХ	Яровая рожь	нет
FsM 10028	<i>F. oxysporum</i>	Республика Татарстан, Лаишевский р-н, селекционный севооборот ТатНИИСХ	Яровая пшеница	розовый налет на колосковых чешуйках
FsM 10029	<i>F. oxysporum</i>	Республика Татарстан, Чистопольский район	Озимая пшеница	оранжевый налет на колосковых чешуйках
FsM 10030	<i>F. culmorum</i>	Республика Татарстан, Лаишевский р-н, селекционный севооборот ТатНИИСХ	Яровая пшеница	розовый налет на колосковых чешуйках
FsM 10031	<i>Fusarium sp.</i>	Республика Татарстан, Лаишевский р-н, селекционный севооборот ТатНИИСХ	Озимая рожь	розовый налет на колосковых чешуйках

В результате оценки вирулентности изолятов *Fusarium* на чашках Петри показано, что все выделенные штаммы обладают патогенным потенциалом (способны вызывать симптомы заболеваний у растения), а также различаются по степени вирулентности. Инкубация зерен пшеницы в течение одной недели на поверхности мицелия изолятов *Fusarium*

FsM 10014, FsM 10028, FsM 10029, FsM 10030 привела к гибели 100% зерен (степень некроза 3 балла). Для FsM 10031 данный показатель составил 70% (некроз 2,7 балла), а изоляты FsM 10001, FsM 10005, FsM 10011 привели к гибели 50% зерен (некроз 2,4...2,5 балла), что также свидетельствует о значительной вирулентности данных штаммов.

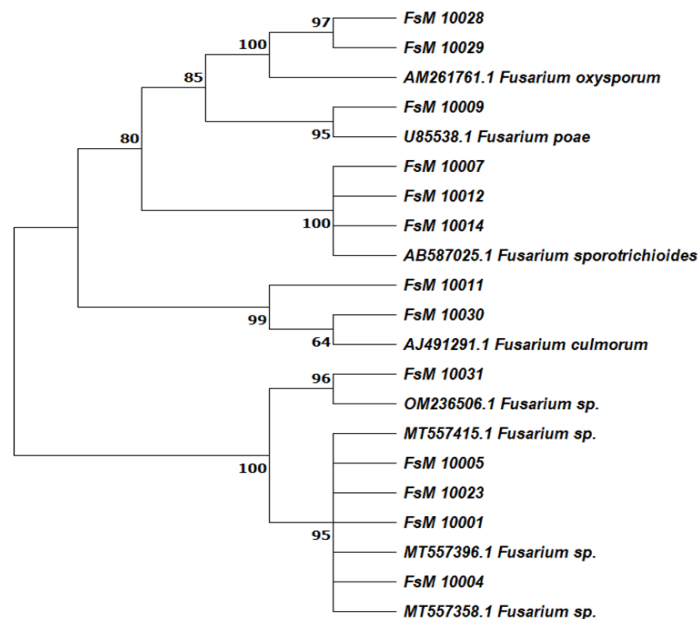


Рис. 2 – Филогенетическое дерево последовательностей ITS2 (внутренний транскрибируемый спейсер рибосомальных генов) анализируемых изолятов и аннотированных последовательностей грибов рода *Fusarium* из GenBank NCBI

Меньшей вирулентностью обладали изоляты FsM 10012 и FsM 10023 – показатель гибели зерен варьировал на уровне 30...40% (некроз 1,8 и 2,2 балла, соответственно). Слабовирулентные изоляты FsM 10004, FsM 10007 и FsM 10009 приводили к гибели 10% зерен (некроз 0,7...0,9 балла) (рис. 3).

Инокуляция проростков ржи мицелием

изолятов FsM 10014, FsM 10028, FsM 10029, FsM 10030 привела через 14 дней к активному развитию мицелия гриба на стеблях (табл. 2) и затем к некрозу и гибели растений на 21 день (рис. 4). Сухая масса надземной части растений составляла около 40% от контроля, а сухая масса корней – 18...27% от контроля (рис. 5).

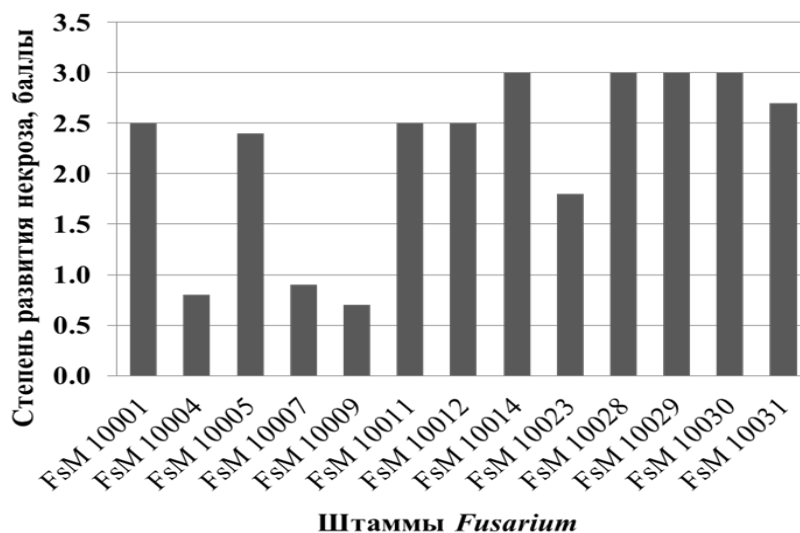


Рис. 3 – Вирулентность изолятов *Fusarium*, определяемая на зернах пшеницы *Triticum aestivum* L. в чашках Петри

При инфицировании проростков ржи остальными изолятами *Fusarium* распространённости мицелия и развития некрозов на стеблях визуально не обнаружено (табл. 2), сухая масса надземной части растений составила 80...90% от контроля (рис. 5).

Характерной особенностью растений, инфицированных большинством анализируемых

нами изолятов, было потемнение корней и подавление развития боковых корней. Корни растений, инфицированных изолятами FsM 10007 и FsM 10009, напротив, визуально не отличались от контроля. Вирулентность отдельно взятых изолятов *Fusarium* в отношении разных видов растений-хозяев (рожь, пшеница) существенно не различалась.

Таблица 2 – Динамика распространения мицелия по надземной части растений озимой ржи (*Secale cereale* L.), инфицированных изолятами *Fusarium*. «+» – наличие развитого мицелия на стебле растений; «-» – отсутствие мицелия на стебле растений

Номер изолята	Поражение стебля мицелием		
	7 день инфицирования	14 день инфицирования	21 день инфицирования
FsM 10001	-	-	-
FsM 10004	-	-	-
FsM 10005	-	-	-
FsM 10007	-	-	-
FsM 10009	-	-	-
FsM 10011	-	-	-
FsM 10012	-	-	-
FsM 10014	-	+	+
FsM 10023	-	-	-
FsM 10028	+	+	+
FsM 10029	-	+	+
FsM 10030	-	+	+
FsM 10031	-	-	-

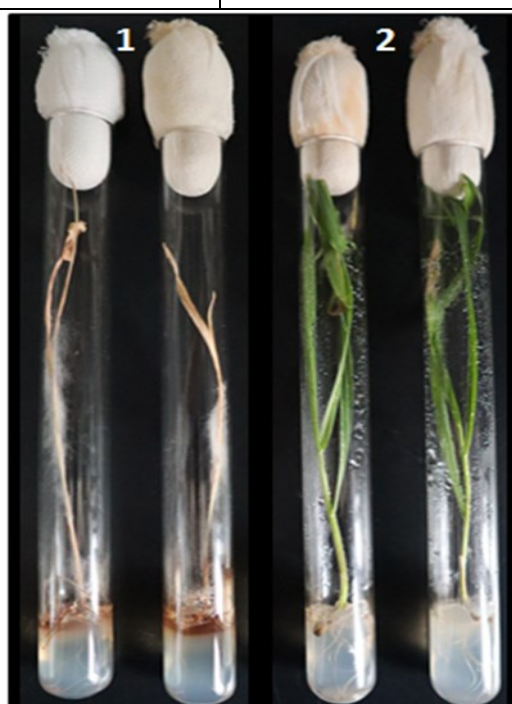


Рис. 4 – Растения ржи, инфицированные высоковирулентным штаммом гриба рода *Fusarium*, через 21 день после инокуляции агаровым блоком с мицелием патогена (1) и контрольные (неинфицированные) растения (2)

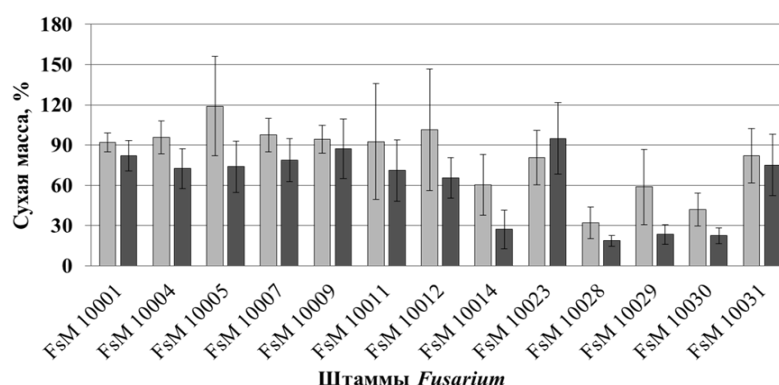


Рис. 5 – Сухая масса корней и стеблей озимой ржи (*Secale cereale* L.) при инфицировании изолятами *Fusarium* *in vitro*. Столбцы светло-серого цвета – стебли, столбцы темно-серого цвета – корни

Инфицирование высоковирулентными изолятами приводило к 100% гибели как зерен пшеницы, так и растений ржи *in vitro*. Инфицирование слабо- и умеренно-вирулентными изолятами приводило к гибели 10...50% зерен на чашках, а для растений ржи *in vitro* – к снижению развития корневой системы (сухая масса корней составляла в среднем 70% от контроля).

Наибольшей вирулентностью среди выделенных нами штаммов *Fusarium* обладали 4 изолята: FsM 10014, FsM 10028, FsM 10029, FsM 10030. Два изолята по данным ITS-секвенирования отнесены к виду *F. oxysporum* (изоляты FsM 10028, FsM 10029), один изолят – к виду *F. sporotrichioides* (FsM 10014), один изолят – к виду *F. culmorum* (FsM 10030).

F. culmorum и *F. sporotrichioides* (наряду с *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae* и *F. tricinctum*) относят к наиболее вредоносным видам рода *Fusarium*. В 2017-2018 гг. в образцах зерна овса, пшеницы и ячменя из различных областей Зауралья доля выделенных штаммов *F. sporotrichioides* составляла 21%, 35% и 58%, соответственно [9]. Виды *F. sporotrichioides*, *F. culmorum* и *F. poae* способны существовать в различных условиях на широком круге растений-хозяев и продуцировать значительные количества микотоксинов [6, 10].

Считается, что виды *F. oxysporum* повсеместно распространены в почвах, а частота их встречаемости в микофлоре зерна невелика [6]. Однако представители вида *F. oxysporum* широко представлены в составе комплекса возбудителей фузариоза колоса пшеницы и ячменя в различных регионах России [11, 12], и также обнаруживаются в пробах сельскохозяйственной продукции из различных районов Республики Татарстан [2, 3].

Среди трех изолятов, отнесенных по данным ITS-секвенирования к виду *F. sporotrichioides*, изолят FsM 10014 обладал высокими, изолят FsM 10012 – умеренными, и изолят FsM 10007 – слабыми вирулентными свойствами. У двух изолятов, отнесенных по данным ITS-секвенирования к виду *F. culmorum*, также обнаружены различия по вирулентности: изолят FsM 10030 проявил высокую, а изолят FsM 10011 – умеренную вирулентность. Различия в степени вирулентности

фузариевых изолятов, предположительно принадлежащих к одному виду, но выделенных с различных географических точек, позволяют предположить взаимосвязь вирулентных свойств изолятов и их приспособленности к почвенно-климатическим условиям различных регионов.

В проведенном исследовании показано, что штаммы *Fusarium*, выделенные из различных районов Республики Татарстан и сопредельных территорий, проявляют выраженную вирулентность при инфицировании проростков пшеницы и ржи в лабораторных условиях. При благоприятных условиях эти аборигенные штаммы могут представлять угрозу для развития локальных очагов и эпифитотий фузариозов в агроценозах на исследованной территории.

Выводы. Из зерновых культур как визуально непораженных, так и пораженных заболеванием выделены изоляты микромицетов рода *Fusarium*, характерные для разных почвенно-климатических зон Средневолжья. Большинство этих изолятов отнесены к видам *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, а некоторые изоляты определены до уровня рода *Fusarium*. Установлены различия выделенных изолятов по вирулентности. Четыре изолята обладали высокими вирулентными свойствами на зерне пшеницы и растениях ржи *in vitro*.

Остальные изоляты не различались между собой по вирулентности на растениях ржи, а на зерне пшеницы проявляли слабую или умеренную вирулентность. На основании анализа последовательностей ITS2 рибосомальных генов изоляты с наибольшей вирулентностью отнесены к видам *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*. Идентифицированные нами виды рода *Fusarium* обладают потенциальной способностью продуцировать опасные для человека и сельскохозяйственных животных микотоксины, что доказывает необходимость продолжения детальных фитосанитарных исследований на территории Республики Татарстан и сопредельных регионов Приволжского федерального округа.

Сведения об источнике финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2022-251.

Литература

1. Трemasов М.Я., Иванов А.В., Сергейчев А.И., Титова В.Ю., Петрова Н.В. Мониторинг микроскопических грибов и микотоксинов в Республике Татарстан // Агроэкологическая безопасность в условиях техногенеза. Акад. Наук Респ. Татарстан, Казань. 2006. Ч. 1. С. 358-362.
2. Ермолаева О.К., Потехина Р.М., Матросова Л.Е., Семенов Э.И. Пораженность кормов грибами рода фузариум // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2019. Т. 239. № 3. С. 121-124.
3. Ермолаева О.К., Танасева С.А., Матросова Л.Е., Потехина Р.М., Красовская Ю.В. Микофлора кормов в районах Республики Татарстан // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2020. Т. 243. № 3. С. 84-87.
4. Кутлубердина Д.Р., Хайруллин Р.М. Видовой состав и зараженность разных фракций зерна пшеницы грибами рода *Fusarium Link* в южной лесостепи Республики Башкортостан // Вестник Казанского государственного аграрного университета. 2008. Т. 3. № 4(10). С. 90-95.

5. Wang Q., Shao B., Shaikh F. I., Friedt W., Gottwald S. Wheat resistances to *Fusarium* root rot and head blight are both associated with deoxynivalenol- and jasmonate-related gene expression // *Phytopathology*. 2018. No. 108. P. 602–616.
6. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур // Приложение к журналу Защита и карантин растений. 2011. № 5. С. 69-120.
7. Toju H., Tanabe A. S., Yamamoto S., Sato H. High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples // *PLoS One*. 2012. No. 7(7):e40863.
8. Gil-Serna J., Patiño B., Verheeecke-Vaessen C., Vázquez C., Medina Á. Searching for the *Fusarium spp.* which are responsible for trichothecene contamination in oats using metataxonomy to compare the distribution of toxigenic species in fields from Spain and the UK // *Toxins*. 2022. Vol. 14. № 9. P. 592-609.
9. Гаврилова О.П., Орина А.С., Гогина Н.Н., Гагкаева Т.Ю. Проблема фузариоза зерна в Зауралье: ретроспектива исследований и современная ситуация // *Аграрный вестник Урала*. 2020. № 07(198). С. 29–40.
10. Ворончихина И.Н., Рубец В.С. Влияние концентрации токсинов *Fusarium culmorum* на морфологические признаки проростков тритикале (*×Triticosecale* Wittm.) // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2018. № 3. С. 17-32.
11. Литовка Ю.А. Видовой состав и представленность грибов рода *Fusarium* на зерновых культурах (пшеница и ячмень), выращиваемых в условиях Средней Сибири // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2017. №6. С. 140-149.
12. Глинушкин А.П., Овсянкина А. В., Киселева М. И. Видовой состав грибов из рода *Fusarium* на посевах ярового ячменя в центральной части России в 2015-2017 гг. // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018. № 5. С. 41-46.

Сведения об авторах:

Частухина Инна Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории инфекционных заболеваний растений, e-mail: innachast@yandex.ru
 Мещеров Азат Рустемович – младший научный сотрудник лаборатории инфекционных заболеваний растений, e-mail: strosaz125@gmail.com
 Рязанов Егор Андреевич – лаборант-исследователь лаборатории инфекционных заболеваний растений, e-mail: eg.ryazanov@gmail.com
 Сахабутдинов Ильдар Талгатович – младший научный сотрудник лаборатории инфекционных заболеваний растений, e-mail: teilszx@yandex.ru
 Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук»
 Пономарева Мира Леонидовна – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела селекции озимых культур, e-mail: smpronomarev@yandex.ru
 Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань, Россия.

VIRULENCE OF FUNGI OF FUSARIUM GENUS PARASITIZING ON CEREAL CROPS IN THE MIDDLE VOLGA

I.B. Chastukhina, A.R. Meshcherov, E.A. Ryazanov, I.T. Sakhabutdinov, M.L. Ponomareva

Abstract. Infectious diseases caused by fungi from the *Fusarium* genus are one of the main reasons for the decrease in yield and quality of grain crops. The aim of the study is to identify the most virulent fungal isolates of the *Fusarium* genus inhabiting the territory of the Tatarstan Republic and its neighbouring regions of the Volga Federal District. Wheat and rye spikes were collected in the summer of 2022 at the spike ripening stage. Thirteen fungal strains were isolated from obtained plant material and preliminary attributed as *Fusarium* species based on morphological characteristics. By analyzing the nucleotide sequences of the ITS2 (internal transcribed spacer) region of ribosomal genes, the obtained fungal isolates were confirmed to belong to the *Fusarium* genus. Most of these isolates were attributed to the species *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, while some isolates were identified at the genus level. Using virulence assays with wheat grain and rye plants in vitro, four isolated fungal strains were characterized as highly virulent. Based on the analysis of ITS2 sequences, the highly virulent *Fusarium* strains were assigned to *F. sporotrichioides* (1 strain), *F. culmorum* (1 strain), and *F. oxysporum* (2 strains). Other fungal strains (9 isolates) were characterized as low- or moderately virulent. In addition to the pronounced virulence properties, the detected *Fusarium* species have the potential ability to produce mycotoxins dangerous for humans and farm animals, which actualizes the need for detailed phytosanitary studies on the territory of the Tatarstan Republic and its neighbouring regions of the Volga Federal District.

Key words: cereal crops, *Fusarium*, virulence, *Fusarium* head blight, next-generation sequencing.

References

1. Tremasov MYa, Ivanov AV, Sergeichev AI, Titova VYu, Petrova NV. [Monitoring of microscopic fungi and mycotoxins in the Republic of Tatarstan]. *Agroekologicheskaya bezopasnost' v usloviyakh tekhnogeneza*. Akad. Nauk Resp. Tatarstan. Kazan'. 2006; Part 1. 358-362 p.
2. Ermolaeva OK, Potekhina RM, Matrosova LE, Semenov EI. [Infection of fodder with fungi of the *Fusarium* genus]. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny im. N.E.Baumana*. 2019; Vol.239. 3. 121-124 p.
3. Ermolaeva OK, Tanaseva SA, Matrosova LE, Potekhina RM, Krasovskaya YuV. [Mycoflora of fodder in regions of the Republic of Tatarstan]. *Uchenye zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny im. N.E.Baumana*. 2020; Vol.243. 3. 84-87 p.
4. Kutluberdina DR, Khayrullin RM. [Species composition and contamination of different fractions of wheat grain with fungi of *Fusarium* Link genus in the southern forest-steppe of the Republic of Bashkortostan]. *Vestnik Kazanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2008; Vol.3. 4(10). 90-95 p.
5. Wang Q, Shao B, Shaikh FI, Friedt W, Gottwald S. Wheat resistances to *Fusarium* root rot and head blight are both associated with deoxynivalenol- and jasmonate-related gene expression. *Phytopathology*. 2018; No.108. 602-616 p.
6. Gagkaeva TYu, Gavrilova OP, Levitin MM, Novozhilov KV. [Fusarium wilt of grain crops]. *Prilozhenie k zhurnalu Zashchita i karantin rastenii*. 2011; 5. 69-120 p.
7. Toju H, Tanabe AS, Yamamoto S, Sato H. High-coverage ITS primers for the DNA-based identification of

ascomycetes and basidiomycetes in environmental samples. PLoS One. 2012; No. 7(7): e40863.

8. Gil-Serna J, Patiño B, Verheeeke-Vaessen C, Vázquez C, Medina A. Searching for the *Fusarium* spp. which are responsible for trichothecene contamination in oats using metataxonomy to compare the distribution of toxigenic species in fields from Spain and the UK. *Toxins*. 2022; Vol.14. 9. 592-609 p.

9. Gavrilova OP, Orina AS, Gogina NN, Gagkaeva TYu. [The problem of *Fusarium* wilt of grain in the Urals: a retrospective study and the current situation]. *Agrarnyi vestnik Urala*. 2020; 07(198). 29-40 p.

10. Voronchikhina IN, Rubets VS. [Effect of *Fusarium culmorum* toxin concentration on morphological characteristics of triticale seedlings (*×Triticosecale* Wittm.)]. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. 2018; 3. 17-32 p.

11. Litovka YuA. [Species composition and representation of fungi of *Fusarium* genus on grain crops (wheat and barley) grown in the conditions of Central Siberia]. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2017; 6. 140-149 p.

12. Glinushkin AP, Ovsyankina AV, Kiseleva MI. [Species composition of fungi from *Fusarium* genus on spring barley crops in the central part of Russia in 2015-2017]. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*. 2018; 5. 41-46 p.

Authors:

Chastukhina Inna Borisovna – Ph.D. of Biological sciences, senior researcher of the Plant infectious diseases Laboratory, e-mail: innachast@yandex.ru

Meshcheryov Azat Rustemovich - junior researcher of Plant infectious diseases Laboratory, e-mail: strosaz125@gmail.com

Ryazanov Egor Andreevich - research assistant of Plant infectious diseases Laboratory, e-mail: eg.ryazanov@gmail.com

Sakhabutdinov Ildar Talgatovich - junior researcher of Plant infectious diseases Laboratory, e-mail: teilszx@yandex.ru
Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics is a separate structural subdivision of the Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences"

Ponomareva Mira Leonidovna* - Doctor of biological sciences, professor, chief researcher of the department of selection of winter crops, e-mail: smponomarev@yandex.ru

Tatar Scientific Research Institute of Agriculture is a separate structural division of Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, Russia.