

Характеристика сортов озимой пшеницы по устойчивости к фузариозу зерна

Т.Ю. Гагкаева¹✉, А.С. Орина¹, О.П. Гаврилова¹, И.Б. Аблова², Л.А. Беспалова²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

² Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, Россия

По продуктивности и устойчивости к фузариозу на естественном фоне инфекции и на фоне искусственной инокуляции грибом *Fusarium graminearum* исследовали 17 сортов озимой пшеницы селекции Национального центра зерна им. П.П. Лукьяненко. Оценка сортов проводилась на основании показателей, описывающих различные типы устойчивости: процентное содержание фузариозных зерен, выявленных по внешним признакам и в результате микологического анализа, а также содержание ДНК грибов *Fusarium*; показатели продуктивности инокулированных растений в сравнении с неинокулированными; количество микотоксинов в зерне. На естественном фоне, согласно результатам микологического анализа, зараженность зерна грибами рода *Fusarium* была в среднем 6.1 % (0–15 %), количество ДНК *F. graminearum* варьировало в диапазоне $(1.1–42.7) \times 10^{-5}$ нг/нг ДНК пшеницы, дезоксиниваленол (ДОН) обнаружен в 15 образцах с максимальным содержанием 420 мкг/кг, а фумонизин В₁ (ФВ₁) не выявлен. На искусственном инфекционном фоне зараженность зерна составила 25.8 % (2–54 %), количество ДНК *F. graminearum* было значительно выше, чем в естественных условиях, и варьировало в пределах $(4.24–49.8) \times 10^{-3}$ нг/нг. Образцы зерна всех сортов пшеницы, выращенных на искусственном инфекционном фоне *F. graminearum*, содержали ДОН в высоких количествах – от 20 255 до 79 245 мкг/кг. Выявлено значительное содержание ФВ₁ в диапазоне от 980 до 20 326 мкг/кг. Сорт Адель охарактеризован как высокоустойчивый к заражению грибами и накоплению микотоксинов. К относительно устойчивым относятся сорта Антонина, Лебедь, Память, а наиболее восприимчивым оказался сорт Утриш. Установлены сходство реакций устойчивости сортов пшеницы к заражению *F. graminearum* и *F. verticillioides* и существующие между грибами взаимодействия в процессе колонизации зерна.

Ключевые слова: пшеница; сорта; устойчивость; грибы; *Fusarium*; ДНК; микотоксины; инфекционный фон; количественная ПЦР.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Гаврилова О.П., Аблова И.Б., Беспалова Л.А. Характеристика сортов озимой пшеницы по устойчивости к фузариозу зерна. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(6):685-692. DOI 10.18699/VJ18.411

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Gagkaeva T.Yu., Orina A.S., GavriloVA O.P., Ablova I.B., Bepalova L.A. Characterization of resistance of winter wheat varieties to *Fusarium* head blight. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):685-692. DOI 10.18699/VJ18.411

УДК 633.111:632.938.1+632.4

Поступила в редакцию 26.03.2018

Принята к публикации 08.07.2018

© АВТОРЫ, 2018

Characterization of resistance of winter wheat varieties to *Fusarium* head blight

T.Yu. Gagkaeva¹✉, A.S. Orina¹, O.P. GavriloVA¹, I.B. Ablova², L.A. Bepalova²

¹ All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Pushkin, Russia

² National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko, Krasnodar, Russia

In this study, naturally and artificially inoculated winter wheat varieties were studied with respect to their productivity and resistance to *Fusarium* head blight (FHB). We used the following set of disease assessment parameters: the percentage of visually and latent *Fusarium*-damaged grains (FDG); the DNA content of *Fusarium* fungi; the productivity of inoculated plants compared with non-inoculated plants; and the amount of mycotoxins in the grain. In case of naturally infected grains, the average FDG was found to be about 6.1 % (range of 0–15 %). The amount of DNA of *Fusarium graminearum* was found to be in the range of $(1.1–42.7) \times 10^{-5}$ ng/ng wheat DNA. The mycotoxin deoxynivalenol (DON) was detected in 15 samples of grain from plants that were grown under natural infection. The maximum DON amount was found to be 420 µg/kg. Fumonisin B₁ (FB₁) was not detected in naturally infected grain. In case of artificially inoculated plants, the average FDG was found to be 25.8 % (2–54 %). The amount of *F. graminearum* DNA was found to be significantly higher $(4.24–49.8) \times 10^{-3}$ ng/ng than it was detected in grain of non-inoculated plants. The wheat varieties inoculated with *F. graminearum* contained DON in high amounts from 20 255 to 79 245 µg/kg. Furthermore, a significant amount of FB₁ was detected in all wheat varieties in the range of 980–20 326 µg/kg. Among the analysed wheat varieties, Adel was characterized to be the most resistant to fungal infection as well as to the contamination by mycotoxins. Antonina, Lebed and Pamyat varieties were classified more relatively resistant than that of other varieties, and Utrish variety was found to be the most susceptible to FHB. The similar resistance of wheat varieties against *F. graminearum* and *F. verticillioides* infection was recorded, and the interactions between the fungi during the colonization of grain were shown.

Key words: wheat; varieties; resistance; fungi; *Fusarium*; DNA; mycotoxins; artificial inoculation; quantitative PCR.

Возделывание сортов зерновых культур, устойчивых к различным биотическим и абиотическим факторам, – одно из главных направлений экологического земледелия. Создание и отбор селекционных форм растений, получение перспективных генотипов – сложная многолетняя работа коллективов ученых, результатом которой является спектр высокопродуктивных сортов, различающихся по устойчивости к тому или иному фактору внешней среды (Беспалова и др., 2012, 2017; Аблова и др., 2014). В этом случае возрастает значение выбора сортов для широкого возделывания, наиболее приспособленных к условиям региона и, в первую очередь, устойчивых к наиболее распространенным заболеваниям. Такой подход позволяет в максимальной степени использовать потенциал продуктивности сорта и, следовательно, приводит к увеличению валовых сборов качественного зерна.

Фузариоз зерна пшеницы относится к наиболее вредоносным заболеваниям на юге европейской части России (Гагкаяева и др., 2014). Некоторые виды грибов *Fusarium*, часто встречающихся на этой территории, – продуценты различных микотоксинов, способных вызывать серьезные проблемы со здоровьем животных и человека, употребляющих зерновую продукцию. Эпифитотийное развитие фузариоза пшеницы на Северном Кавказе, в том числе в Краснодарском крае, наблюдали в 1988, 1992, 1993, 2014, 2016, 2017 гг., а умеренное развитие заболевания было отмечено в 1984–1987, 1990, 1991, 1997, 1998, 2001, 2004, 2006, 2012 гг. Научные исследования и практическая работа, направленные на предотвращение значительного ухудшения качества зерна вследствие его зараженности грибами *Fusarium* и загрязнения микотоксинами, по-прежнему не теряют своей актуальности.

Гриб *F. graminearum* Schwabe – доминирующий патоген на зерне пшеницы, выращенной в Северо-Кавказском регионе, он ответственен за загрязнение зерна дезоксиэваленолом (ДОН), относящимся к группе трихотеценовых микотоксинов. К часто встречающимся в южном регионе России грибам можно также отнести *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg и *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg – представителей группы видов *Gibberella fujikuroi*, способных продуцировать микотоксины, обладающие канцерогенными свойствами – фумонизины (ФУМ). Фумонизин В₁ (ФВ₁) составляет 70–80 % от общего состава этой группы вторичных метаболитов (Alexander et al., 2009).

Оценка сортов по устойчивости к фузариозу – сложный процесс, поскольку визуальные признаки поражения растений часто не выражены, зависят от условий окружающей среды и анатомо-морфологических особенностей растений. Кроме того, ранее показано, что устойчивость к этому заболеванию многокомпонентная, вследствие чего выделяют несколько ее типов: I и II – устойчивость к проникновению и распространению патогена по колосу; III – устойчивость зерен к заражению патогеном; IV – толерантность; V – способность к аккумуляции и/или деградации микотоксинов (Mesterhazy, 2002). Для анализа многокомпонентной устойчивости сортов к фузариозу используют различные методы, которые отличаются по трудоемкости, производительности и точности получаемых результатов.

Цель исследования – характеристика по устойчивости к фузариозу зерна сортов озимой пшеницы, выращенных в условиях естественного и искусственного инфекционных фонов. Оценку сортов проводили на основании показателей, описывающих различные типы устойчивости: III тип – процентное содержание фузариозных зерен, выявленных по внешним признакам и в результате микологического анализа, а также содержание ДНК грибов *Fusarium*; IV тип – показатели продуктивности инокулированных растений в сравнении с неинокулированными, обработанными фунгицидом; V тип – количество микотоксинов в зерне.

Материалы и методы

Образцы зерна. Для исследования были выбраны 17 сортов озимой пшеницы селекции Национального центра зерна им. П.П. Лукьяненко: Адель, Алексеич, Антонина, Баграг, Безостая 100, Бригада, Васса, Велена, ГРОМ, Гурт, Курс, Лебедь, Морозко, Память, Таня, Утриш, Юка, которые выращивали в условиях естественного и искусственного инфекционных фонов в Краснодарском крае в 2016 г.

Полевая оценка. Сорта пшеницы возделывали без применения фунгицидов на экспериментальных делянках площадью 10 м² в условиях естественного фона инфекции по предшественнику подсолнечник, согласно стандартным методам земледелия, принятым в Национальном центре зерна им. П.П. Лукьяненко. Набор этих же сортов выращивали по предшественнику сидеральный пар на фоне их искусственной инокуляции грибом *F. graminearum*, а также в контрольном варианте без заражения и с обработкой фунгицидом. В фазу цветения, с помощью ранцевого опрыскивателя, растения обрабатывали суспензией штаммов *F. graminearum* с концентрацией (3–5) × 10⁶ пропагул гриба в 1 мл с расходом суспензии 100 мл/м² (Аблова, Тараненко, 2004). В фазу полной спелости зерно каждого сорта убиралось индивидуально и сохранялось для дальнейшего анализа.

Анализ продуктивности растений. По высоте растений сорта группировали по классификации (Беспалова и др., 2017), показатели продуктивности (масса зерна с колоса главного стебля и масса 1000 зерен) оценивали с использованием шкалы (Бабаянц и др., 1988). После уборки и обмолота растений, выращенных на искусственном инфекционном фоне, в полученных образцах визуально выявляли число фузариозных зерен с явными признаками повреждения (щуплые, белесые, розовоокрашенные).

Микологический анализ зараженности зерна. Для оценки скрытой зараженности грибами *Fusarium* и выявления видового состава поверхность зерна каждого образца стерилизовали 5 % гипохлоритом натрия, затем отмывали стерильной водой. В чашки Петри на поверхность картофельно-сахарозной агаризованной среды раскладывали 100 поверхностно стерилизованных зерен и инкубировали при 24 °С в темноте. Через семь суток проводили учет внутренней зараженности зерна грибами: подсчитывали их численность и определяли видовую принадлежность (Gerlach, Nirenberg, 1982).

Молекулярно-генетический анализ зараженности зерна. Зерно каждого образца (20 г) гомогенизировали в стерильных размольных стаканах на мельнице Tube Mill

Таблица 1. Молекулярные праймеры и пробы, использованные в исследовании

Целевой объект	Название праймеров и проб	Нуклеотидные последовательности (5'→3')	Литературный источник
Пшеница	Hor1,f	TCTCTGGGTTTGAGGGTGAC	Nicolaisen et al., 2009
	Hor2,r	GGCCCTGTACCAGTCAAGGT	
<i>F. graminearum</i>	TMFg12,f	CTCCGATATGTTGCGTCAA	Yli-Mattila et al., 2008
	TMFg12,r	CGAAGCATATCCAGATCATCCA	
	TMFg12,p	FAM-TGAGAATGTCTTGAGGCAATGCGAACTTT-BHQ1	
Tri- <i>Fusarium</i> *	TMTrif	CAGCAGMTRCTCAAGGTAGACCC	Halstensen et al., 2006
	TMTrir	AACTGTAYACRACCATGCCAAC	
	TMTrip	Cy5-AGCTTGGTGTGGGATCTGTCTTACCG-BHQ2	
Fum- <i>Fusarium</i> *	fum1_fw	ATGCAAGAGGCGAGGCAA	Preiser et al., 2015
	fum1_rev	GGCTCTCAGAGCTTGGCAT	
	fum1_probe	Cy5-CAATGCCATCTTCTTGAACCT-BHQ2	

* Tri-*Fusarium* и Fum-*Fusarium* – виды грибов, способные образовывать трихотеценовые микотоксины или фумонизины соответственно.

Control (ИКА). Выделение общей ДНК из 200 мг муки, а также ДНК из мицелия штаммов грибов *F. graminearum* и *F. verticillioides* проводили с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific). Содержание ДНК пшеницы в выделенном образце общей ДНК определяли с помощью количественной ПЦР (кПЦР) с красителем SYBR Green. Методом кПЦР с пробами TaqMan оценивали содержание ДНК грибов. Выявляли количество ДНК *F. graminearum*, а также ДНК видов грибов, способных продуцировать трихотеценовые микотоксины (Tri-*Fusarium*) и ДНК видов *Fusarium*, продуцирующих фумонизины (Fum-*Fusarium*). Последовательности праймеров, проб для кПЦР представлены в табл. 1. Амплификацию ДНК проводили на термоциклере CFX 96 Real-Time System (BioRad). ДНК штаммов *Fusarium* нормализовали до 10 нг/мкл и использовали для построения калибровочных кривых при последовательных разведениях от 10^{-1} до 10^{-6} нг/мкл. Различия в пробах ДНК и стандартные ошибки были рассчитаны из Ct-значений, нормированных по ДНК штаммов *F. graminearum* и *F. verticillioides* с использованием программного пакета Bio-Rad CFX Manager 1.6. В каждом образце содержание ДНК грибов выражали в виде доли от содержания ДНК пшеницы (нг/нг).

Анализ микотоксинов в зерне. С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в зерне всех образцов определяли количества ДОН и ФВ₁. Микотоксины экстрагировали из 1 г муки, добавляя 5 мл водного раствора ацетонитрила (объемное соотношение 84:16), в условиях постоянного перемешивания на шейкере S-3M (ELMI) при 300 об/мин в течение 14–16 ч. Анализ выполняли с помощью диагностических тест-систем «Дезоксинивален-нол-ИФА» и «Фумонизин В₁-ИФА» (Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии). Нижний предел чувствительности метода составлял 20 мкг/кг для обоих микотоксинов.

Статистическая обработка. Лабораторные анализы выполнены как минимум двукратно. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 10.0 (ANOVA). Раз-

личия считались достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты

Высота растений и показатели продуктивности. Высота растений сортов пшеницы существенно варьировала – от 87 до 125 см; на основании этого признака сорта распределили на четыре группы. К высокорослым (свыше 120 см) отнесен сорт Адель, к среднерослым (до 120 см) – Баграт, Бригада, Безостая 100, Васса, Курс, Лебедь, Морозко, Память, Юка. Группу короткостебельных (до 105 см) составили сорта Антонина, Велена, Гурт, Утриш, а группу полукарликов (до 90 см) – Алексеев, ГРОМ и Таня.

Масса 1000 зерен различных сортов, выращенных с применением фунгицида, варьировала от 35.8 (Велена) до 51 г (Васса), а диапазон массы зерна с колоса составлял от 1.6 (Морозко) до 2.95 г (Васса). Разброс показателей на инфекционном фоне по массе 1000 зерен был от 27.2 (Велена) до 39.6 г (Таня), а по массе зерна с колоса – от 1.10 (Бригада) до 2.23 г (Лебедь).

Зараженность зерна грибами. Зараженность зерна сортов пшеницы грибами *Fusarium* выявляли двумя способами – на основании микологического анализа и по числу зерен с видимыми проявлениями заболевания (только на искусственном фоне инфекции). На естественном фоне инфекции, согласно результатам микологического анализа, скрытая зараженность зерна грибами рода *Fusarium* была в среднем 6.1 % (максимальное содержание 15 % у сорта Утриш) (табл. 2).

Основным представителем фузариевых грибов был *F. graminearum* (доля вида 34.8 %), реже выявляли виды *F. sporotrichioides* Sherb., *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *F. semitectum* Berk. & Ravenel, *F. equiseti* (Corda) Sacc. и *F. verticillioides*.

На искусственном инфекционном фоне число зерен с явным поражением грибами *Fusarium* в образцах варьировало от 13.3 до 63.1 % (в среднем 33.8 %) (табл. 3). Микологический анализ установил варьирование скрытой зараженности зерна от 2.0 до 54.0 % (в среднем 25.8 %).

Таблица 2. Характеристика сортов пшеницы, выращенных на естественном фоне инфекции

Сорт	Зараженность зерна, %	Среднее кол-во ДНК грибов × 10 ⁻⁵ , нг/нг			ДОН, мкг/кг
		<i>F. graminearum</i>	Tri- <i>Fusarium</i> *	Fum- <i>Fusarium</i> *	
Адель	2	1	14	0	0
Алексеич	2	3	21	0	0
Антонина	6	10	41	0	62
Баграт	5	5	23	3	130
Безостая 100	6	6	19	0	43
Бригада	11	43	42	0	421
Васса	10	5	21	0	134
Велена	6	13	34	0	166
ГРОМ	8	5	19	0	189
Гурт	2	3	28	0	33
Курс	4	1	16	0	50
Лебедь	7	1	17	0	11
Морозко	6	4	15	0	54
Память	6	10	31	2	172
Таня	4	1	20	0	12
Утриш	15	15	29	0	162
Юка	3	3	34	0	24
V, %	57	129	36	294	109

* Tri-*Fusarium* и Fum-*Fusarium* – виды грибов, способные образовывать трихотеценовые микотоксины или фумонизины соответственно; V – коэффициент вариации.

Таблица 3. Характеристика сортов пшеницы, выращенных на фоне инокуляции грибом *F. graminearum*

Сорт	Масса 1000 зерен, г	Масса зерна с колоса, г	Зараженность зерна грибами, %		Среднее кол-во ДНК грибов × 10 ⁻³ , нг/нг		Кол-во микотоксинов, мкг/кг	
			явная	скрытая	<i>F. graminearum</i>	Fum- <i>Fusarium</i> *	ДОН	ФВ ₁
Адель	38.0	1.9	13	2	7	5	23069	1471
Алексеич	39.6	2.0	31	42	15	17	35330	1800
Антонина	32.4	1.4	24	14	4	5	29557	4435
Баграт	30.8	1.3	52	12	16	9	73502	5519
Безостая 100	38.0	1.9	46	27	15	5	46574	2172
Бригада	29.2	1.4	25	33	11	8	20255	980
Васса	27.6	1.2	55	38	21	19	50655	5475
Велена	38.6	2.2	24	13	12	7	60901	3800
ГРОМ	31.6	1.1	44	44	23	5	51708	4360
Гурт	31.1	1.2	34	20	15	9	53048	6358
Курс	30.1	1.1	41	22	22	7	44124	1693
Лебедь	32.3	1.6	15	13	14	6	46572	1725
Морозко	27.2	1.5	35	13	10	3	66193	1525
Память	32.7	1.2	13	30	7	7	41174	2898
Таня	31.9	1.7	25	39	16	9	45471	4105
Утриш	38.0	1.9	63	54	50	45	55019	20326
Юка	27.7	1.3	33	23	17	9	76401	9288
V, %	12.7	22.1	43	55	62	95	33	101

* Fum-*Fusarium* – виды грибов, способные образовывать фумонизины; V – коэффициент вариации.

В обоих случаях максимальные значения показателей выявлены у сорта Утриш, а наименьшие – у сорта Адель. Низкой зараженностью зерна характеризовались также сорта Память, Лебедь, Антонина и Велена.

В зерне всех 17 сортов пшеницы выявлена высокая зараженность не только грибом *F. graminearum*, которым инокулировали растения, но и *F. verticillioides*. Средняя зараженность этим видом гриба зерна всех сортов превышала их зараженность *F. graminearum* в 11.5 раз. Кроме *F. verticillioides*, единично идентифицирован *F. proliferatum* (зараженность зерна не более 1–2 %), поэтому в качестве основного продуцента ФВ₁ можно рассматривать гриб *F. verticillioides*. Другие виды грибов *Fusarium* в зерне пшеницы, выращенной на искусственном фоне инфекции, не обнаружены.

Содержание ДНК грибов в зерне. В зерне всех сортов пшеницы, выращенных на естественном фоне, количество ДНК *F. graminearum* выявлено в диапазоне $(1.1–42.7) \times 10^{-5}$ нг/нг. По содержанию ДНК этого патогена сорта можно распределить на три группы. Первую группу относительно устойчивых сортов (количество гриба в зерне не превышало 3×10^{-5} нг/нг) составили Адель, Таня, Лебедь, Курс, Гурт и Юка. Ко второй группе среднеустойчивых сортов (количество гриба варьировало от 3×10^{-5} до 6×10^{-5} нг/нг) были отнесены Алексеич, Морозко, ГРОМ, Васса, Баграт и Безостая 100. Третью группу относительно восприимчивых сортов с наибольшим содержанием ДНК *F. graminearum* (более 6×10^{-5} нг/нг) составили Утриш, Антонина, Память, Велена и Бригада. Кроме *F. graminearum*, в зерне всех образцов пшеницы обнаружена ДНК Tri-*Fusarium* с диапазоном $(13.9–42.3) \times 10^{-5}$ нг/нг, в то время как ДНК Fum-*Fusarium* выявлена в зерне только двух сортов пшеницы, Память и Баграт, со средними значениями 1.9×10^{-5} и 3.3×10^{-5} нг/нг соответственно.

На искусственном инфекционном фоне количество ДНК *F. graminearum* в зерне всех сортов было значительно выше, чем в естественных условиях, и варьировало в пределах $(4.24–49.8) \times 10^{-3}$ нг/нг. В зерне сортов Антонина, Память, Адель и Морозко количество ДНК гриба было наименьшим, в то время как его наибольшие количества выявлены в зерне сортов Утриш, Васса, Курс и ГРОМ. Установлено, что в зерне искусственно инокулированных растений количество ДНК Fum-*Fusarium* варьировало в пределах $(3.4–44.8) \times 10^{-3}$ нг/нг. Как и в случае с ДНК *F. graminearum*, высокое количество ДНК Fum-*Fusarium* выявлено в зерне сортов Утриш, Васса и Алексеич, а низкое количество ДНК этой группы грибов обнаружено в зерне сортов Антонина, ГРОМ, Безостая 100 и Морозко.

Содержание микотоксинов в зерне. В зерне сортов пшеницы, выращенных в естественных условиях, ДОН выявлен в 15 образцах, кроме сортов Адель и Алексеич. Максимум ДОН (420 мкг/кг) обнаружен в зерне сорта Бригада, также содержащего максимальное количество ДНК *F. graminearum*. Микотоксин ФВ₁ в зерне сортов пшеницы, выращенных на естественном фоне, не выявили.

Образцы зерна всех сортов пшеницы, выращенных на искусственном инфекционном фоне *F. graminearum*, содержали ДОН в количествах от 20255 до 79245 мкг/кг. Высокие количества этого микотоксина установлены в зерне сортов Юка и Баграт. Микотоксин ФВ₁ выявлен в

зерне всех 17 сортов в диапазоне от 980 до 20326 мкг/кг. Сорт Бригада характеризовался минимальным, а сорт Утриш, напротив, максимальным содержанием ФВ₁. Количество ФВ₁, превышающее среднее содержание этого микотоксина (4584 мкг/кг), также было выявлено в зерне сортов Баграт, Васса, Гурт и Юка.

Обсуждение

Компоненты урожайности позволяют судить о продуктивности сортов и их реакции на условия выращивания. Следует отметить выравненность показателей продуктивности анализируемых сортов пшеницы, о чем свидетельствуют низкие коэффициенты вариации и по массе 1000 зерен (12.7 %), и по массе зерна с одного колоса (22.1 %). Эти результаты демонстрируют ориентированную направленность селекции на высокую урожайность зерна.

Коэффициент вариации содержания ДНК *F. graminearum* в зерне сортов, выращенных на естественном фоне инфекции, составил 126.3 %. В то же время содержание Tri-*Fusarium* было более выровненным – коэффициент вариации составил 36.0 %. Несмотря на то, что связь между количеством ДНК Tri-*Fusarium* и ДНК *F. graminearum* была существенной (+0.68), на основании значительного разброса значений признака сравнение генотипов пшеницы лучше проводить по содержанию ДНК высокоагрессивного вида *F. graminearum*, чем по суммарному содержанию ДНК группы всех видов грибов, способных образовывать трихотеценовые микотоксины и характеризующихся различной патогенностью (*F. cerealis* (Cooke) Sacc., *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., *F. langsethiae* Torp et Nirenberg, *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. sporotrichioides* и др.).

У сортов пшеницы, выращенных на естественном фоне, установлена достоверная связь между зараженностью зерна, выявленной на питательной среде, и количеством ДНК *F. graminearum* (+0.59) и ДОН (+0.66), а также между двумя последними показателями (+0.90) (табл. 4).

Соотношение ДНК *F. graminearum* к общему содержанию ДНК Tri-*Fusarium* выше 10:1 выявлено у относительно устойчивых сортов Адель, Таня, Лебедь, Курс, Гурт, Юка. Устойчивость этих сортов преодолевается высокоагрессивным *F. graminearum*, однако они способны противостоять проникновению в зерно слабопатогенных видов грибов. В то же время в зерне восприимчивых сортов обнаружены значительные количества не только ДНК *F. graminearum*, но и слабопатогенных видов грибов.

На естественном фоне относительно устойчивыми по сумме показателей, характеризующих инфицированность зерна (III тип устойчивости), были сорта Адель, Лебедь, Таня, Юка, Гурт и Курс, а восприимчивыми – Утриш и Баграт. Количество ДОН в зерне сортов было недостаточным для их ранжирования по V типу устойчивости. Однако высокая связь между ДНК *F. graminearum* и ДОН (+0.90), а также несколько меньшая между ДНК Tri-*Fusarium* и ДОН (+0.55) подтверждают основную роль *F. graminearum* в загрязнении зерна этим микотоксином в условиях естественного фона.

На фоне инокуляции растений *F. graminearum* между показателями процентного содержания числа фузариозных зерен, определенного по внешним признакам и в результате микологического анализа, установлена положитель-

Таблица 4. Взаимосвязь показателей, характеризующих сорта пшеницы на естественном фоне инфекции грибов *Fusarium*

Показатели	Зараженность зерна грибами <i>Fusarium</i>	ДНК грибов		
		<i>F. graminearum</i>	Tri- <i>Fusarium</i>	Fum- <i>Fusarium</i>
ДНК <i>F. graminearum</i>	+0.59*			
ДНК Tri- <i>Fusarium</i>	+0.27	+0.68*		
ДНК Fum- <i>Fusarium</i>	-0.07	-0.02	+0.02	
ДОН	+0.66*	+0.90*	+0.55*	+0.16

*Коэффициенты корреляции существенны при уровне значимости $p < 0.05$.

Таблица 5. Взаимосвязь показателей, характеризующих сорта пшеницы на фоне инокуляции грибом *F. graminearum*

Показатели	Высота растений	Масса 1000 зерен	Масса зерна с колоса	Зараженность зерна грибами <i>Fusarium</i>		Зараженность зерна видами <i>Fusarium</i>		ДНК грибов		ДОН
				явная	скрытая	<i>F. graminearum</i>	<i>F. verticillioides</i>	<i>F. graminearum</i>	Fum- <i>Fusarium</i>	
Масса 1000 зерен	+0.20									
Масса зерна с колоса	+0.18	+0.82*								
Зараженность зерна грибами <i>Fusarium</i>										
явная	-0.28	-0.54*	-0.64*							
скрытая	-0.58*	-0.08	-0.39	+0.50*						
Зараженность зерна <i>F. graminearum</i>	-0.30	-0.10	-0.30	+0.12	+0.27					
Зараженность зерна <i>F. verticillioides</i>	-0.51*	-0.19	-0.27	+0.54*	+0.63*	+0.23				
ДНК <i>F. graminearum</i>	-0.26	-0.23	-0.41	+0.75*	+0.66*	+0.09	+0.56*			
ДНК Fum- <i>Fusarium</i> *	-0.25	-0.13	-0.30	+0.60*	+0.65*	-0.25	+0.52*	+0.87*		
ДОН	-0.32	-0.41	-0.15	+0.47	-0.05	+0.08	+0.48	+0.30	+0.11	
ФВ ₁	-0.31	-0.14	-0.23	+0.59*	+0.48	-0.08	+0.63*	+0.83*	+0.85*	+0.39

*Коэффициенты корреляции существенны при уровне значимости $p < 0.05$.

ная связь (+0.50) (табл. 5). Достоверная связь выявлена также между показателями зараженности зерна и содержанием ДНК *F. graminearum* и Fum-*Fusarium*. Однако только число зерен с явными симптомами заболевания достоверно и негативно связано с показателями продуктивности – массой зерна с колоса и массой 1000 зерен.

Отмечена выравненность значений содержания ДНК *F. graminearum* и его метаболита ДОН – коэффициенты вариации составили 62.2 и 32.8 % соответственно. Инфицированность *F. verticillioides* и загрязнение ФВ₁ зерна пшеницы реализовались в значительно большем разбросе значений – коэффициенты вариации 95.4 и 100.6 % соответственно. Выявлена достоверная положительная связь процентного содержания фузариозных зерен (явная и скрытая зараженность) только с зараженностью *F. verticillioides*, которая в равной степени была связана как с содержанием ДНК Fum-*Fusarium*, так и с ДНК *F. graminearum*.

На искусственном инфекционном фоне сорта Адель, Память, Морозко и Антонина охарактеризованы как относительно устойчивые, а сорта Утриш, Васса, ГРОМ и Алексеич – восприимчивые к заражению зерна грибами *Fusarium*. Самые низкие количества ДОН и ФВ₁ выявля-

ны в зерне сортов Адель, Бригада и Антонина. Значительные количества ДОН в зерне накапливал сорт Алексеич, а ФВ₁ – сорта Таня и Алексеич.

Наши результаты показывают, что оценка сортов в различных условиях может приводить к несогласованности их характеристик по разным параметрам устойчивости. Сорт Бригада, на естественном фоне инфекции высоковосприимчивый к заражению зерна и накоплению ДОН, был относительно устойчив по этим показателям при выращивании на искусственном инфекционном фоне. Сорт Алексеич, несмотря на относительно высокое процентное содержание фузариозных зерен, можно охарактеризовать как относительно устойчивый и по содержанию ДНК грибов, и по количеству микотоксинов. У сорта Васса не установлено присутствие *F. graminearum* в зерне при микологическом анализе, но содержание ДНК *F. graminearum* и ДОН было на уровне средних значений по всем сортам, а количество ДНК Fum-*Fusarium* и ФВ₁ было высоким. Эти различия могут быть связаны с взаимодействием грибов и/или условиями окружающей среды.

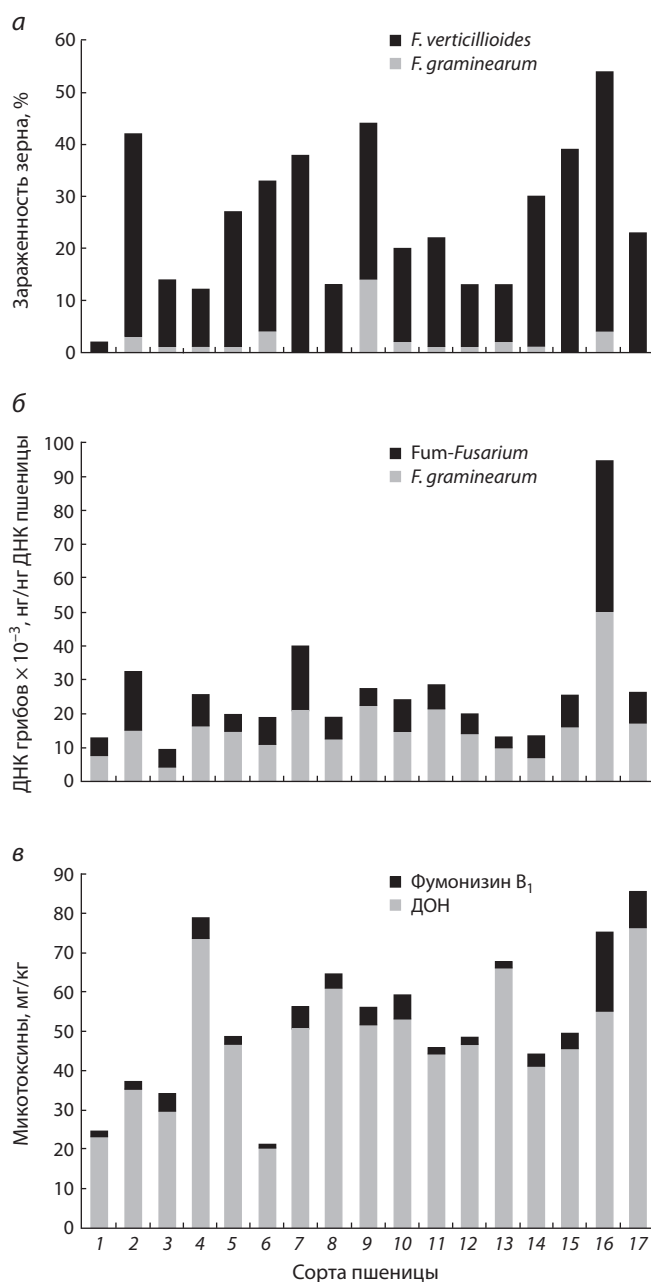
Значительная зараженность грибом *F. verticillioides* зерна сортов, инокулированных в период цветения грибом *F. graminearum*, была неожиданной. По всей видимости,

источником инфекции послужили растительные остатки кукурузы на поле, расположенном рядом с инфекционным питомником пшеницы. Известно, что грибок *F. verticillioides* является одним из основных возбудителей фузариоза кукурузы и долгое время сохраняется на послеуборочных остатках этой культуры (Dill-Macky, Jones, 2000; Maiorano et al., 2008). Корреляционный анализ показал достоверную отрицательную связь высоты растений с зараженностью зерна *F. verticillioides* (-0.51), что подтверждает роль растительных остатков как источников инфекции. При этом не выявлена связь высоты с зараженностью зерна *F. graminearum*, которая в основном является результатом опрыскивания суспензией гриба.

Средняя зараженность зерна *F. verticillioides* была более чем в 10 раз выше зараженности *F. graminearum* (рисунок) и была связана с числом явно фузариозных зерен (+0.54) и со скрытой зараженностью зерна грибами *Fusarium* (+0.63). В то же время в случае заражения зерна *F. graminearum* такие зависимости не установлены. Зараженность *F. verticillioides* была достоверно связана также с количеством ФВ₁ (+0.63) и ДНК анализируемых грибов (+0.52 и +0.56). В среднем по сортам содержание ДНК *F. graminearum* было сопоставимо с содержанием ДНК *Fum-Fusarium*, но количество ДОН значительно превышало количество ФВ₁.

Полученные нами результаты демонстрируют, что при высокой встречаемости *F. verticillioides* процентное содержание зерен, зараженных *F. graminearum*, не было связано с количеством биомассы этого патогена и образуемого им ДОН. В этом случае содержание ДНК *F. graminearum* положительно и достоверно было связано с содержанием ДНК *Fum-Fusarium* (+0.83), а также с ФВ₁ (+0.87). По всей видимости, *F. graminearum*, проникая в растения, также создавал благоприятные условия для их колонизации слабопатогенным *F. verticillioides* и образования ФВ₁. Известно, что ДОН является фактором агрессивности *F. graminearum*, способствующим заселению субстрата грибом (Alexander et al., 2009; Audenaert et al., 2013). Фумоницины, напротив, не играют существенной роли при инфицировании растений *F. verticillioides* – не выявлено зависимости между способностью изолятов гриба продуцировать ФУМ и их агрессивностью (Desjardins, Plattner, 2000; Desjardins et al., 2002; Presello et al., 2006; Iglesias et al., 2010). Французские исследователи продемонстрировали конкурентные преимущества *F. verticillioides* по сравнению с *F. graminearum* при совместной инокуляции кукурузы этими грибами, но предварительное инфицирование *F. graminearum* початков кукурузы способствовало последующему развитию в них *F. verticillioides* (Picot et al., 2012).

При совместной встречаемости грибов в образце зерна (и даже в одной зерновке) между ними неизбежно возникают взаимодействия, влияющие на образование вторичных метаболитов. Как правило, ФУМ обнаруживают в основном в зерне кукурузы, но наблюдаемое в последнее время увеличение площадей под этой культурой неизбежно приведет к повышению значимости ФУМ, в том числе и в зерне злаковых культур. Несмотря на информацию об увеличении частоты встречаемости *F. verticillioides* и *F. proliferatum* и их микотоксинов в зерне пшеницы и ячменя, еще недостаточно известно о взаимоотношении



Соотношение показателей, характеризующих устойчивость сортов озимой пшеницы, выращенных на искусственном инфекционном фоне: (а) процентное содержание зерен, зараженных *F. graminearum* и *F. verticillioides*; (б) содержание ДНК этих грибов и (в) продуцируемых ими микотоксинов.

Сорта: 1 – Адель; 2 – Алексеич; 3 – Антонина; 4 – Баграг; 5 – Безостая 100; 6 – Бригада; 7 – Васса; 8 – Велена; 9 – ГРОМ; 10 – Гурт; 11 – Курс; 12 – Лебедь; 13 – Морозко; 14 – Память; 15 – Таня; 16 – Утриш; 17 – Юка.

этих видов грибов и растений (Stanković et al., 2011). Совместное присутствие трихотеценовых микотоксинов и ФУМ в зерне значительно ухудшает его пищевые и кормовые качества. Необходимо активизировать работу по выведению высокоустойчивых к заражению грибами *Fusarium* сортов, не накапливающих микотоксины. Возделывание устойчивых сортов остается одним из самых эффективных приемов защиты растений, ведущим к получению высокого качественного урожая.

Заклучение

Установлено, что сорт озимой пшеницы Адель является высокоустойчивым как к заражению *F. graminearum* и *F. verticillioides*, так и к накоплению микотоксинов, образующихся этими грибами. По сумме анализированных показателей устойчивости к фузариозу зерна сорта Антонина, Лебедь и Память охарактеризованы как относительно устойчивые, а Утриш – как высоковосприимчивый.

Показано сходство реакций устойчивости сортов пшеницы к заражению *F. graminearum* и *F. verticillioides* и существование взаимодействия между этими грибами в процессе колонизации зерна. Необходимо усилить селекцию высокоустойчивых к фузариозу сортов пшеницы и их повсеместное возделывание.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 14-26-00067).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

Аблова И.Б., Беспалова Л.А., Колесников Ф.А., Набоков Г.Д., Пузырная О.Ю., Филобок В.А. Селекция пшеницы на устойчивость к болезням. Земледелие. 2014;3:19-22. [Ablova I.B., Bespalova L.A., Kolesnikov F.A., Nabokov G.D., Puzyrnaya O.Yu., Filobok V.A. Wheat breeding for disease resistance. Zemledelie = Agriculture. 2014;3:19-22. (in Russian)]

Аблова И.Б., Тараненко С.А. Методические аспекты создания искусственного инфекционного фона по фузариозу колоса озимой пшеницы. Эволюция научных технологий в растениеводстве. 2004;1:382-390. [Ablova I.B., Taranenko S.A. Methodological aspects of the creation of artificial infection background for *Fusarium* head blight of winter wheat. Evolution of Scientific Technologies in Plant Science. 2004;1:382-390. (in Russian)]

Бабаянц Л.Т., Мештерхази А., Вехтер В. Методика селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ. Прага, 1988. [Babayants L.T., Meshterkhazi A., Vekhter V. Methods of Breeding and Assessment of Disease Resistance of Wheat and Barley in CMEA Countries. Prague, 1988. (in Russian)]

Беспалова Л.А., Васильев А.В., Аблова И.Б., Филобок В.А., Худокормова Ж.Н., Давоян Р.О., Давоян Э.Р., Карлов Г.И., Соловьев А.А., Дивашук М.Г., Майер Н.К., Дудников М.В., Мироненко Н.В., Баранова О.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012;16(1):37-43. [Bespalova L.A., Vasilyev A.V., Ablova I.B., Filobok V.A., Khudokormova Z.N., Davoyan R.O., Davoyan E.R., Karlov G.I., Soloviev A.A., Divashuk M.G., Mayer N.K., Dudnikov M.V., Mironenko N.V., Baranova O.A. The use of molecular markers in wheat breeding at the Lukyanenko Agricultural Research Institute. Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2012;2(4):286-290.]

Беспалова Л.А., Романенко А.А., Колесников Ф.А., ..., Калмыш А.П., Пономарев Д.А., Белякова А.Ю. Сорта пшеницы и тритикале Краснодарского НИИСХ имени П.П. Лукьяненко. Краснодар: ЭДВИ, 2017. [Bespalova L.A., Romanenko A.A., Kolesnikov F.A., ..., Kalmysh A.P., Ponomarev D.A., Belyakova A.Yu. Varieties of Wheat and Triticale from the Lukyanenko Agricultural Research Institute. Krasnodar, 2017. (in Russian)]

Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П. Зараженность зерна грибами *Fusarium* в Краснодарском и Ставропольском краях. Защита и карантин растений. 2014;3:30-33. [Gagkaeva T.Yu., Gavrilo O.P. Grain infection by *Fusarium* fungi in the Krasnodar and Stavropol regions. Zashchita i Karantin Rasteniy = Plant Protection and Quarantine. 2014;3:30-33. (in Russian)]

Alexander N.J., Proctor R.H., McCormick S.P. Genes, gene clusters, and biosynthesis of trichothecenes and fumonisins in *Fusarium*. Toxin Rev. 2009;28(2-3):198-215. DOI 10.1080/15569540903092142.

Audenaert K., Vanheule A., Höfte M., Haesaert G. Deoxynivalenol: a major player in the multifaceted response of *Fusarium* to its environment. Toxins. 2013;6:1-19. DOI 10.3390/toxins6010001.

Desjardins A.E., Munkvold G.P., Plattner R.D., Proctor R.H. *FUM1* – a gene required for fumonisin biosynthesis but not for maize ear rot and ear infection by *Gibberella moniliformis* in field tests. Mol. Plant-Microbe Interact. 2002;11:1157-1164. DOI 10.1094/MPMI.2002.15.11.1157.

Desjardins A.E., Plattner R.D. Fumonisin B (1)-nonproducing strains of *Fusarium verticillioides* cause maize (*Zea mays*) ear infection and ear rot. J. Agric. Food Chem. 2000;48:5773-5780.

Dill-Macky R., Jones R.K. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. Plant Dis. 2000;84:71-76. DOI 10.1094/PDIS.2000.84.1.71.

Gerlach W., Nirenberg H. The Genus *Fusarium* – a Pictorial Atlas Mitt. Biol. Bund. Ld. Berlin, 1982.

Halstensen A.S., Nordby K.C., Eduard W., Klemsdal S.S. Real-time PCR detection of toxigenic *Fusarium* in airborne and settled grain dust and associations with trichothecene mycotoxins. J. Environ. Monit. 2006;8:1235-1241. DOI 10.1039/b609840a.

Iglesias J., Presello D.A., Botta G., Lori G.A., Fauguel C.M. Aggressiveness of *Fusarium* section *Liseola* isolates causing maize ear rot in Argentina. Eur. J. Plant Pathol. 2010;92(1):205-211. DOI 10.4454/jpp.v92i1.31.

Maiorano A., Blandino M., Reyneri A., Vanara F. Effects of maize residues on the *Fusarium* spp. infection and deoxynivalenol (DON) contamination of wheat grain. Crop Prot. 2008;27:182-188. DOI 10.1016/j.cropro.2007.05.004.

Mesterhazy A. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight in wheat. J. Appl. Genet. 2002;43A:289-302.

Nicolaisen M., Suproniene S., Nielsen L.K., Lazzaro I., Spliid N.H., Justesen A.F. Real-time PCR for quantification of eleven individual *Fusarium* species in cereals. J. Microbiol. Methods. 2009;76:234-240. DOI 10.1016/j.mimet.2008.10.016.

Picot A., Hourcade-Marcolla D., Barreau C., Pinson-Gadais L., Caron D., Richard-Forget F., Lannou C. Interactions between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium graminearum* in maize ears and consequences for fungal development and mycotoxin accumulation. Plant Pathol. 2012;61:140-151. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02503.x.

Preiser V., Goetsch D., Sulyok M., Krska R., Mach R.L., Farnleitner A., Brunner K. The development of a multiplex real-time PCR to quantify *Fusarium* DNA of trichothecene and fumonisin producing strains in maize. Anal. Methods. 2015;7:1358-1365.

Presello D.A., Iglesias J., Botta G., Lori G.A., Eyherabide G.H. Stability of maize resistance to the ear rots caused by *Fusarium graminearum* and *F. verticillioides* in Argentinean and Canadian environments. Euphytica. 2006;147:403-407. DOI 10.1007/s10681-005-9037-8.

Stanković S., Lević J., Krnjaja V. Fumonisin B₁ in maize, wheat and barley grain in Serbia. Biotechnol. Animal Husb. 2011;27(3):631-641. DOI 10.2298/BAH1103631S.

Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Jestoi M., Parikka P., Hietaniemi V., Gagkaeva T., Sarlin T., Haikara A., Laaksonen S., Rizzo A. Real-time PCR detection and quantification of *Fusarium poae*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* in cereal grains in Finland and Russia. Arch. Phytopathol. Plant Protect. 2008;41:243-260. DOI 10.1080/03235400600680659.

ORCID ID

T.Yu. Gagkaeva orcid.org/0000-0002-3276-561X
A.S. Orina orcid.org/0000-0002-7657-6618

O.P. Gavrilo orcid.org/0000-0002-5350-3221
I.B. Ablova orcid.org/0000-0002-3454-9988
L.A. Bespalova orcid.org/0000-0003-3844-9682