УДК 635.262:632.4.01/08 doi: 10.15389/agrobiology.2022.1.151rus

ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ РОДА *Fusarium* Link НА КУЛЬТУРЕ ЧЕСНОКА В УСЛОВИЯХ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ*

С. ДИАКИТЕ[1], А.В. ПОЛЯКОВ[2, 3], А.А. СТАХЕЕВ[4] ✉, Т.В. АЛЕКСЕЕВА[2, 3], С.К. ЗАВРИЕВ[4], R.R. SAID[5]

Производство чеснока (*Allium sativum* L.) сдерживается отсутствием семенного размножения и высокой чувствительностью к фитопатогенным организмам грибной, бактериальной, вирусной и нематодной природы. В настоящее время наиболее вредоносным заболеванием на этой культуре считается фузариозная сухая гниль, вызываемая почвенными грибами рода *Fusarium*. В представленной работе впервые проведена количественная оценка соотношения основных возбудителей фузариозной сухой гнили, поражающих чеснок на территории Московской области с использованием мультидисциплинарного подхода. Показаны процентные отношения встречаемости ключевых патогенов, выявлена высокая вредоносность и доминирующее положение в комплексе возбудителей сухой гнили вида *F. proliferatum*. Целью работы было исследование видового состава фитопатогенных грибов рода *Fusarium* на культуре чеснока в условиях Московской области. Исследования были проведены на чесноке озимом сорта Гладиатор (Всероссийский НИИ овощеводства — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, Московская обл., Раменский р-н). В период с 2019 по 2021 год отобрали 1108 луковиц, которые разделили на группы, характеризующиеся одинаковыми симптомами поражения луковиц и зубков. Для выделения патогенов из каждого образца отбирали по 200 зубков, которые поверхностно стерилизовали по принятым методикам. После стерилизации соскобы с зараженных тканей зубков помещали в стерильные чашки Петри и инкубировали на среде Чапека при 25 °С в течение 12 сут. Колонии патогенов подвергали последовательному пересеву до получения моноспоровой культуры. После этого изоляты были классифицированы с использованием таксономических ключей. Кроме того, вычисляли частоту встречаемости патогенов. Для подтверждения таксономической идентификации изолятов проводили молекулярно-генетический анализ маркерных последовательностей генов *TEF1α* (ген фактора элонгации трансляции 1 альфа) (~ 550 п.о.) и *MCM7* (ген, кодирующий белок поддержания минихромосом 7) (~ 650 п.о.). Также был выполнен анализ ДНК изолятов с помощью количественной ПЦР с праймерами, специфичными к *F. proliferatum*. Для анализа расшифрованных нуклеотидных последовательностей генов *TEF1α* и *MCM7* использовали алгоритм BLAST на сайте NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). Из 1108 пораженных луковиц чеснока были выделены представители 7 родов грибов: *Fusarium*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Embellisia*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Sclerotium* с разной степенью встречаемости. Среди перечисленных патогенов представители рода *Fusarium* оказались самыми распространенными с частотой встречаемости более 44 %. В пределах рода *Fusarium* были идентифицированы 6 видов: *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. verticilloides*, *F. culmorum* и *F. acuminatum*, из которых *F. proliferatum* оказался доминирующим (61,4-75,6 %). Секвенирование ДНК-маркеров подтвердило принадлежность ряда изолятов к виду *F. proliferatum*. Соответствие с депонированными в базе данных NCBI последовательностями составило 99-100 % для *TEF1α* (номера референсных последовательностей MN158137, KP267240, MN012923, KT224299) и 98-99 % для *MCM7* (номера референсных последовательностей XM031230017, XM031176796, XM31230017). Эти результаты были подтверждены с помощью анализа количественной ПЦР со специфичными праймерами. Полученные результаты дополняют имеющиеся данные по распространенности и динамике изменений видового состава грибов рода *Fusarium* в Московской области, а также имеют прикладное значение, давая возможность разрабатывать более эффективные способы профилактики и борьбы с фузариозными заболеваниями чеснока.

Ключевые слова: чеснок, *Fusarium*, фузариозная сухая гниль, частота встречаемости, ДНК-маркеры, полимеразная цепная реакция.

Чеснок (*Allium sativum* L.) — вегетативно размножаемое растение. Этот способ размножения способствует постепенному накоплению патогенов и их передаче потомству. Несмотря на то, что чеснок обладает бактерицидными свойствами, сам он подвержен заболеваниям грибной, бактериальной, нематодной и вирусной природы. Наибольший вред наносят грибы, которые накапливаются в тканях посадочного материала, что приводит к снижению урожайности и вырождению сортов (1-3).

* Работа выполнена частично при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00642.

Болезни чеснока, вызываемые представителями рода *Fusarium* Link, которые называют сухой гнилью донца, относятся к наиболее вредоносным и распространенным. В некоторые годы частота встречаемости фузариозного увядания на чесноке достигает 10-80 %, что вызывает потери урожая от 17 до 60 % (3-6). В настоящее время род *Fusarium* включает более 300 видов (7-9). Среди видов, характеризующихся способностью поражать чеснок, наиболее часто встречаются *F. oxysporum* и *F. solani* (10, 11).

На сегодняшний день в Государственном реестре селекционных достижений РФ (12) отсутствуют сорта чеснока, характеризующиеся устойчивостью к грибам рода *Fusarium*. Во многом это связано с высокой пластичностью последних и способностью сохранять жизнеспособность в течение нескольких лет, образовывать хламидоспоры или склероции и приобретать устойчивость к химическим или биологическим фунгицидам (13-15).

Состав патогенов варьирует в зависимости от растения-хозяина, агротехнических и метеорологических условий выращивания. Погодные условия Московской области благоприятны как для роста растений чеснока, так и для развития грибов рода *Fusarium*, в связи с чем в некоторые годы наблюдается высокая зараженность растений возбудителями фузариоза (16).

Для идентификации грибов рода *Fusarium* используют морфологические, биологические подходы, а также современные методы анализа ДНК и геносистематики. Наиболее достоверные результаты достигаются при комбинации этих методов (7).

В настоящей работе впервые проведена количественная оценка соотношения основных возбудителей фузариозной сухой гнили, поражающих чеснок на территории Московской области, с использованием мультидисциплинарного подхода. Показаны процентные отношения встречаемости ключевых патогенов, выявлена высокая вредоносность и доминирующее положение в комплексе возбудителей сухой гнили вида *F. proliferatum*.

Целью работы было исследование видового состава фитопатогенных грибов рода *Fusarium* на культуре чеснока в условиях Московской области.

Методика. Исследования были проведены во Всероссийском НИИ овощеводства — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства (Раменский р-н Московской обл.) на чесноке озимом сорта Гладиатор, внесенном в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации, допущенных к использованию с 2011 года (12). Растения выращивали в соответствии с общепринятыми методиками (17). В период с 2019 по 2021 год было отобрано 1108 больных луковиц, которые были поделены на образцы, характеризующиеся одинаковыми симптомами поражения луковиц и зубков. Для выделения патогенов из каждого образца отбирали по 200 зубков, которые поверхностно стерилизовали (18).

После стерилизации делали соскоб с зараженных тканей, материал помещали в стерильные чашки Петри и инкубировали на среде Чапека при 25 °С в течение 12 сут.

Колонии патогенов последовательно пересевали до получения моноспоровой культуры. После этого изоляты классифицировали с использованием таксономических ключей, содержащихся в лабораторном руководстве по фузариумам (19). Частоту встречаемости патогенов определяли по формуле: $A = B/C \times 100$ %, где B — число образцов, на которых обнаружен *F. proliferatum*, C — общее число проанализированных образцов.

Для подтверждения таксономической идентификации изолятов проводили молекулярно-генетический анализ маркерных последовательностей генов *TEF1α* (TEF30F: 5′-CGTCGTCATCGGCCACGT-3′, TEF650R: 5′-ACCAATGACRGTGACATAGTAGC-3′) и *MCM7* (MCM7F: 5′-GCACCTGTC-

AGCTATGAGAAGC-3′, MCM7R: 5′-CAAGTTCCCTGCGTCCAC-3′), праймеры были разработаны в настоящем исследовании.

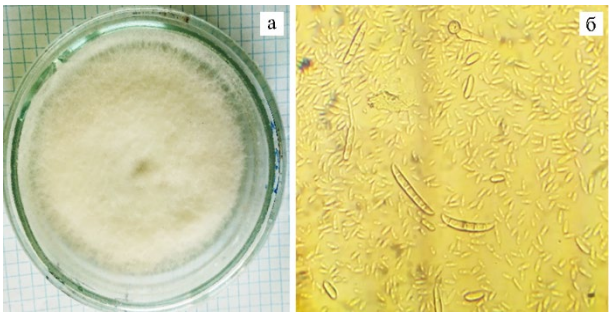
Выделение ДНК и клонирование продуктов ПЦР осуществляли в соответствии с описанной ранее методикой (20, 21). Для ПЦР-амплификации использовался универсальный протокол: 90 с при 93 °С; 20 с при 93 °С, 5 с при 60 °С, 5 с при 67 °С (5 циклов); 1 с при 93 °С, 5 с при 64 °С, 5 с при 67 °С (40 циклов). Молекулы ДНК секвенировали на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 («Applied Biosystems», США). Для анализа расшифрованных нуклеотидных последовательностей генов *TEF1α* и *MCM7* использовали алгоритм BLAST на сайте NCBI (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi/).

Также был выполнен анализ ДНК изолятов с помощью количественной ПЦР с праймерами, специфичными для *F. proliferatum*: FprolF — 5′-GTCCTCCCTCGAGACTGCC-3′, FprolR — 5′-GTTCTTCTTCGTGGAGTAGCCG-3′; флуоресцентно меченный зонд 5′-(BHQ1)-ACGCAGACGT(FAMdT)CTTACAATCCCCCGAAA-3′. Амплификацию проводили в детектирующем амплификаторе ДТ-96 («ДНК-технология», Россия) в соответствии со следующей программой: 90 с при 93 °С; 1 с при 93 °С, 5 с при 64 °С, 5 с при 67 °С (45 циклов).

Результаты. Наши исследования показали, что даже при соблюдении необходимых агротехнических требований в некоторые годы до 14,5 % растений чеснока может быть поражено грибными инфекциями. Анализ пораженных образцов позволил обнаружить представителей 7 родов грибов (*Fusarium*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Embellisia*, *Aspergillus, Alternaria, Sclerotium*), которые встречаются с разной частотой. Среди этих патогенов представители грибов рода *Fusarium* оказались самыми распространенными. В период вегетации и хранения частота их встречаемости составляла более 44 %.

Из образцов чеснока, пораженных фузариозом, было выделено 280 изолятов, относящихся к 6 видам: *F. proliferatum, F. oxysporum*, *F. poae*, *F. veticilloides, F. culmorum* и *F. acuminatum*. Самая высокая частота встречаемости (от 61,4 до 75,6 %) была характерна для вида *F. proliferatum*. Частота встречаемости *F. oxysporum* оказалась ниже и составила 15,1-32,3 %. Реже встречались грибы видов *F. verticilloides* (9,3 %), *F. poae* (4,4-7,7 %), *F. culmorum* (1,9-5,1 %) и *F. acuminatum* (2,6 %).

Микробиологический анализ показал, что колонии гриба *F. proliferatum* на 12-е сут культивирования на среде Чапека имели следующие морфологические особенности: мицелий белого цвета, микроконидии овальные, размером 2,2-3,5 мкм × 8,0-10,0 мкм, макроконидии слабо изогнутые с 3-5 перегородками, размером 3,3-4,1 мкм × 30-46 мкм (рис.).



Внешний вид колонии (а) **и споры** (б, Olympus CX33, «Olympus Corporation», Япония) **грибов *Fusarium proliferatum*, выделенные из зараженных образцов озимого чеснока (*Allium sativum* L.) сорта Гладиатор в Московской области, при выращивании на среде Чапека** (12 сут, 25 °С).

При молекулярно-генетическом анализе в качестве информативных ДНК-маркеров для подтверждения видовой принадлежности изучаемых штаммов были выбраны гены фактора элонгации трансляции 1 альфа (*TEF1α*) и белка поддержания минихромосомы 7 (*MCM7*). Ген *TEF1α* рассматривается

в качестве «золотого стандарта» молекулярной таксономии грибов рода *Fusarium*. Ген *MCM7* для таксономической классификации рода *Fusarium* практически не использовался, однако его таксономический потенциал был продемонстрирован на примере других грибов (20).

Молекулярно-генетический анализ маркерных последовательностей генов *TEF1α* и *MCM7* подтвердил идентификацию исследуемых штаммов как *F. proliferatum*. Соответствие депонированным в базе данных NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) последовательностями составило 99-100 % для гена *TEF1α* (номера референсных последовательностей MN158137, KP267240, MN012923, KT224299) и 98-99 % для *MCM7* (XM031230017, XM031176796, XM31230017). Идентификация штаммов также была подтверждена результатами кПЦР со специфическими праймерами для *F. proliferatum* (табл.).

Результаты исследования ДНК изолятов *Fusarium proliferatum*, выделенных из зараженных образцов озимого чеснока (*Allium sativum* L.) сорта Гладиатор в Московской области, методом количественного ПЦР-анализа с использованием тест-системы, специфичной к *F. proliferatum*

Изолят	Cq, Fam	Результат
Fo6	23,7	+
Fo5	25,4	+
Fo13	19,6	+
Fo10	16,5	+
Fo11	18,5	+
Fo2	17,8	+
Fo4	24,2	+
F09	17,8	+
Fo14	20,6	+
Fo1-1	19,8	+
Положительный контроль	18,1	+
Отрицательный контроль		–

Примечание. Cq — пороговый цикл, «+» — положительный контроль, «–» — отрицательный контроль (вода).

В проведенных ранее исследованиях установлено, что комплексы видов *F. oxysporum* и *F. solani* являются наиболее вредоносными и распространенными на чесноке в Московской области (3, 4). Очевидно, что динамика видового состава грибов рода *Fusarium* может изменяться в зависимости от природной агроэкосистемы и погодных условий в течение года. Однако частота встречаемости видов *F. poae*, *F. culmorum*, *F. verticilloides*, *F. acuminatum* на культуре чеснока в Московской области остается относительно стабильной.

Информация о поражении чеснока грибами вида *F. proliferatum* в Московской области до 2021 года отсутствовала. При этом известно, что за рубежом этот патоген — один из наиболее вирулентных, относится к полифагам, способным в сильной степени поражать растения разных семейств (8), в том числе растения чеснока (22-25). Заболевание чеснока, вызываемое *F. proliferaum*, впервые было зарегистрировано в 2002 году в Германии (25), затем в Северной Америке (23), Сербии (26), Италии (27), Испании (10, 28), Индии (29), Египте (30), Франции (31).

Таким образом, в период вегетации в условиях Московской области чеснок может быть поражен фитопатогенными грибами, относящимися к семи родам — *Fusarium*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Embellisia*, *Aspergillus*, *Alternaria* и *Sclerotium*, которые встречаются с разной частотой. Среди этих патогенов представители рода *Fusarium* наиболее распространены. Частота их встречаемости составляла более 44 %. В пределах этого рода обнаружены изоляты, относящиеся к видам *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. verticilloides*, *F. culmorum* и *F. acuminatum*. Самая высокая частота встречаемости (от 61,4 до 75,6 %) была характерна для вида *F. proliferatum*. Молекулярно-генетический

анализ маркерных последовательностей генов *TEF1α* и *MCM7* подтвердил принадлежность выделенных изолятов к виду *F. proliferatum*. Соответствие депонированным в базе данных NCBI последовательностями составило 99-100 % для гена *TEF1α* и 98-99 % — для *MCM7*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Galvez Patón L. *Etiología, epidemiología y estrategias de control de la podredumbre del diente de ajo (Allium sativum L.)*. Ingeniera Agrynoma, Madrid, 2017 (doi: 10.20868/UPM.thesis.45532).
2. Алексеева Т.В., Диаките С., Поляков А.В. Эффективность применения фунгицидов на чесноке (*Allium sativum* L.) в период вегетации. *Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Инновации в сельском хозяйстве и экологии»*. Рязань, 2020: 8-11.
3. Шестакова К.С. *Селекционно-иммунологическая характеристика устойчивости чеснока озимого (Allium sativum L.) к фузариозной гнили. Автореф. канд. дис.* М., 2009.
4. Середин Т.М., Герасимова Л.И., Козарь Е.Г., Енгалычева И.А., Баранова Е.В. Распространение и вредоносность микозов на культуре чеснока озимого в условиях Московской области. *Овощи России*, 2018, 6: 84-90 (doi: 10.18619/2072-9146-2018-6-84-90).
5. Dugan F.M., Lupien S.L., Hellier B.C. Infection by *Fusarium proliferatum* in aerial garlic bulbils is strongly reduced compared to rates in seed cloves when both originate from infected bulbs. *Crop Protection*, 2019, 116: 43-48 (doi: 10.1016/j.cropro.2018.10.006).
6. Filyushin M.A., Anisimova O.K., Kochieva E.Z., Shchennikova A.V. Genome-wide identification and expression of chitinase class I genes in garlic (*Allium sativum* L.) cultivars resistant and susceptible to *Fusarium proliferatum*. *Plants*, 2021, 10(4): 720 (doi: 10.3390/plants10040720).
7. Aoki T., O'Donnell K., Geiser D.M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 2014, 80(3): 189-201 (doi: 10.1007/s10327-014-0509-3).
8. Munkvold G.P. *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In: *Mycotoxigenic fungi. Methods and protocols*, *vol. 1542* /A. Moretti, A. Susca (eds.). Humana Press, NY, 2017: 51-106 (doi: 10.1007/978-1-4939-6707-0_4).
9. Cobo-Díaz J.F., Baroncelli R., Le Floch G., Picot A. A novel metabarcoding approach to investigate *Fusarium* species composition in soil and plant samples. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(7): fiz084 (doi: 10.1093/femsec/fiz084).
10. Palmero D., de Cara M., Nosir W., Galez Paton L., Cruz A., Woodward S., Gonzalez-Jaen M.T., Tello J.C. *Fusarium proliferatum* isolated from garlic in Spain: Identification, toxigenic potential and pathogenicity on related *Allium* species. *Phytopathologia Mediterranea*, 2012, 51(1): 207-218.
11. O'Donnell K., Rooney A.P., Proctor R.H., Brown D.W., McCormick S.P., Ward T.J., Frandsen R.Jn., Lysoe E., Rehner S., Aoki T., Robert V., Crous P.W., Groenewald J.Z., Kang S., Geiser D.M. Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology*, 2013, 52: 20-31 (doi: 10.1016/j.fgb.2012.12.004).
12. *Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений*. М., 2021: 375-377.
13. Le D., Audenaert K., Haesaert G. *Fusarium* basal rot: profile of an increasingly important disease in *Allium spp. Tropical Plant Pathology,* 2021, 46: 241-253 (doi: 10.1007/s40858-021-00421-9).
14. Mondani L., Chiusa G., Battilani P. Chemical and biological control of *Fusarium* species involved in garlic dry rot at early crop stages. *European Journal of Plant Pathology*, 2021, 160: 575-587 (doi: 10.1007/s10658-021-02265-0).
15. Bjelić D., Ignjatov M., Marinković J., Milošević D., Nikolić Z., Gvozdanović-Varga J., Karaman M. *Bacillus* isolates as potential biocontrol agents of *Fusarium* clove rot of garlic. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2018, 105(4): 369-376 (doi: 10.13080/z-a.2018.105.047).
16. Середин Т.М., Козарь Е.Г., Герасимова Л.И., Енгалычева И.А. Распространение и вредоносность микозов на культуре чеснока озимого в условиях Московской области. *Овощи России,* 2018, 6: 84-90 (doi: 10.18619/2072-9146-2018-6-84-90).
17. Литвинов С.С. *Методика полевого опыта в овощеводстве*. М., 2011.
18. Диаките С., Поляков А.В., Алексеева Т.В., Азопкова М.А., Муравьева И.В. Микотоксины грибов рода *Fusarim* и их опасность для здоровья человека. *Мат. Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием, посвященной профессору Ю.Д. Жилову «Экология и здоровье человека»*. М., 2020: 93-97.
19. Leslie J.F., Summerell B.A. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, 2006.
20. Стахеев А.А., Самохвалова Л.В., Микитюк О.Д., Завриев С.К. Филогенетический анализ и молекулярное типирование трихотеценпродуцирующих грибов рода *Fusarium* из российских коллекций. *Acta Naturae*, 2018, 10(2): 79-92 (doi: 10.32607/20758251-2018-10-2-79-92).
21. Stakheev A.A., Khairulina D.R., Zavriev S.K. Four-locus phylogeny of *Fusarium avenaceum* and related species and their species-specific identification based on partial phosphate permease

gene sequences. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 225: 27-37 (doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.012).
22. Mondani L., Chiusa G., Battilani P. Fungi associated with garlic during the cropping season, with focus on *Fusarium proliferatum* and *F. oxysporum*. *Plant Health Progress*, 2021, 22(1): 37-46 (doi: 10.1094/PHP-06-20-0054-RS).
23. Dugan F.M., Hellier B.C., Lupien S.L. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in North America. *Plant Pathology*, 2003, 52(3): 426 (doi: 10.1046/j.1365-3059.2003.00852.x).
24. Филюшин М.А., Данилова О.А., Середин Т.М. Идентификация патогенных грибов в луковицах чеснока при хранении и в корневой сфере в период роста растений. *Овощи России*, 2021, 3: 105-109 (doi: 10.18619/2072-9146-2021-3-105-109).
25. Seefelder W., Gossmann M., Humpf H. Analysis of fumonisin B_1 in *Fusarium proliferatum*-infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(10): 2778-2781 (doi: 10.1021/jf0115037).
26. Stankovic S., Levic J., Petrovic T., Logrieco A., Moretti A. Pathogenicity and mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolated from onion and garlic in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 2007, 118(2): 165-172 (doi: 10.1007/s10658-007-9126-8).
27. Tonti S., Dal Prà M., Nipoti P., Prodi A., Alberti, I. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of stored garlic bulbs (*Allium sativum* L.) in Italy. *Journal of Phytopathology*, 2012, 160: 761-763 (doi: 10.1111/jph.12018).
28. Gálvez L., Palmero D. Incidence and etiology of postharvest fungal diseases associated with bulb rot in garlic (*Alllium sativum*) in Spain. *Foods*, 2021, 10(5): 1063 (doi: 10.3390/foods10051063).
29. Sankar N.R., Babu G.P. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs (*Allium sativum*) in India. *Plant Disease*, 2012, 96(2): 290 (doi: 10.1094/PDIS-08-11-0649).
30. Moharam M.H.A., Farrag E.S.H., Mohamed M.D.A. Patogenetic fungi in garlic seed cloves and first report of *Fusarium proliferatum* causing cloves rot of stored bulbs in upper Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2013, 46(17): 2096-2103 (doi: 10.1080/03235408.2013.785122).
31. Leyronas C., Chrétien P.L., Troulet C., Duffaud M., Villeneuve F., Morris C.E., Hunyadi H. First report of *Fusarium proliferatum* causing garlic clove rot in France. *Plant Disease*, 2018, 102(12): 2658 (doi: 10.1094/PDIS-06-18-0962-PDN).

[1]ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов,
117198 Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
e-mail: diakitesimbo8@gmail.com;
[2]ГОУ ВО МО Московской государственный областной университет,
141014 Россия, Московская обл., г. Мытищи, ул. Веры Волошиной, 24,
e-mail: vita100plus@yandex.ru, kaf-bosh@mgou.ru;
[3]Всероссийский НИИ овощеводства — филиал ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства,
140153 Россия, Московская обл., Раменский р-н, д. Верея, стр. 500,
e-mail: vita100plus@yandex.ru, kaf-bosh@mgou.ru;
[4]ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10,
e-mail: Stakheev.aa@gmail.com ✉, szavriev@ibch.ru;
[5]Shaikh Zayed University, Faculty of Education, Department of Biology,
Khost 2501, Afghanistan,
e-mail: rahmatullah.abid@szu.edu.af

Поступила в редакцию 7 декабря 2021 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2022, V. 57, № 1, pp. 151-157

SPECIES COMPOSITION OF FUNGI OF THE GENUS *Fusarium* Link ON GARLIC PLANTS IN MOSCOW REGION

S. Diakite[1], A.V. Polyakov[2, 3], A.A. Stakheev[4] ✉, T.V. Alekseeva[2, 3], S.K. Zavriev[4], R.R. Said[5]

[1]*People's Friendship University of Russia (RUDN University),* 6, ul. Miklukho-Maklaya, Moscow, 117198 Russia, e-mail diakitesimbo8@gmail.com;
[2]*Moscow Region State University*, 24, ul. Very Voloshinoi, Mytishchi, Moscow Province, 141014 Russia, e-mail vita100plus@yandex.ru, kaf-bosh@mgou.ru;
[3]*All-Russian Research Institute of Vegetable Growing — Branch of the Federal Scientific Vegetable Center,* str. 500, Vereya, Ramenskii District, Moscow Province, 140153 Russia, e-mail vita100plus@yandex.ru, kaf-bosh@mgou.ru;

[4]*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS,* 16/10, ul. Miklukho-Maklaya, Moscow, 117997 Russia, e-mail Stakheev.aa@gmail.com (✉ corresponding author), szavriev@ibch.ru;
[5]*Shaikh Zayed University, Faculty of Education, Department of Biology,* Khost 2501, Afghanistan, e-mail rahmatullah.abid@szu.edu.af
ORCID:
Diakite S. orcid.org/0000-0003-1462-1329
Polyakov A.V. orcid.org/0000-0002-5413-0770
Stakheev A.A. orcid.org/0000-0002-0732-5321
Alekseeva T.V. orcid.org/0000-0002-9252-3153
Zavriev S.K. orcid.org/0000-0002-6741-8175
Said R.R. orcid.org/0000-0001-7620-899X
The authors declare no conflict of interests
Acknowledgements:
Supported financially in part from the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 19-04-00642)
Received December 7, 2021 doi: 10.15389/agrobiology.2022.1.151eng

Abstract

Garlic (*Allium sativum* L.) cultivation is restrained by the lack of seed propagation and high sensitivity to pathogenic fungi, bacteria, viruses and nematodes. Currently, *Fusarium* dry rot caused by soil fungi of the genus *Fusarium* is the most harmful disease of the crop. For the first time, in a multidisciplinary study, we have quantified the ratio of the main *Fusarium* dry rot pathogens affecting garlic in the Moscow region. Data shows the percentage of occurrence of key pathogens, high harmfulness and a dominant position of dry rot of the species *F. proliferatum* in the complex of pathogens. The work aimed to investigate the species composition of plant pathogenic fungi of the genus *Fusarium* on a garlic (*Allium sativum* L.) crop in the Moscow region. Diseased bulbs (n = 1108) of winter garlic cv. Gladiator were collected during 2019 to 2021 (All-Russian Research Institute of Vegetable Growing) and divided into sample sets based on the same symptoms of bulbs and cloves damage. Two hundred garlic cloves from each sample were surface sterilized by common methods and used to isolate pathogens. Scrapings from damaged clove tissues were placed on Czapek's medium in sterile Petri dishes and incubated for 12 days at 25 °C. The colonies were subcultured until monospore cultures were obtained. The isolates were identified using taxonomic keys. The frequency of occurrence of pathogens was calculated. Analysis of the marker sequences of the *TEF1α* gene (translation elongation factor 1 alpha) (~ 550 bp) and *MCM7* (gene encoding minichromosome maintenance protein 7) (~ 650 bp) was performed to confirm the taxonomic identification of the isolates. Molecular identification of the isolates was performed by quantitative PCR using species-specific primers for *F. proliferatum*. NCBI's BLAST algorithm (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) was used to analyse the nucleotide sequences of the *TEF1α* and *MCM7* genes. Seven genera of fungi, the *Fusarium*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Embellisia*, *Aspergillus*, *Alternaria*, and *Sclerotium* were isolated from the garlic bulbs with varying degrees of occurrence. Among these pathogens, the genus *Fusarium* prevailed with a frequency of more than 44 %. Of six identified species, the *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. verticilloides*, *F. culmorum* and *F. acuminatum*, the *F. proliferatum* predominated at a frequency of 61.4-75.6 %. Sequencing of DNA markers confirmed identification of the *F. proliferatum* isolates. The similarity to the sequences deposited in the NCBI database was 99-100 % for *TEF1α* gene (reference sequence numbers MN158137, KP267240, MN012923, KT224299) and 98-99 % for *MCM7* gene (reference sequence numbers XM031230017, XM0311M36726). qPCR analysis using specific primers also confirmed these results. Our findings add on the available data on the prevalence and dynamics of changes in the species composition of fungi of the genus *Fusarium* in the Moscow region. The data are also practically important for the development of more effective methods to prevent and control *Fusarium* diseases of garlic.

Keywords: garlic, *Fusarium genus*, *Fusarium* dry rot, frequency of occurrence, DNA markers, polymerase chain reaction.