

Применимость оценки структуры микробиома эндофитных грибов семенного материала в селекции мягкой яровой пшеницы

Ф. Дукси^{✉1,2}, Г. Н. Бондаренко^{1,2}, В. А. Бурлуцкий^{2,3}, Ю. В. Цветкова¹,
Г. О. Декин², Н. В. Давыдова⁴

¹Всероссийский центр карантина растений

140150, Россия, Московская область, м.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32

²Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы

117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

³Калужский НИИСХ – филиал ФИЦ картофеля имени А. Г. Лорха

249142, Россия, Калужская область, с. Калужская опытная сельскохозяйственная станция, ул. Центральная, 2

⁴Федеральный исследовательский центр «Немчиновка»

143026, Россия, Московская область, г.п. Одинцово, р.п. Новоивановское, ул. Агрохимиков, 6

Аннотация. В работе представлены результаты изучения структуры сообщества эндофитных грибов семенного материала некоторых новых высокопродуктивных генотипов мягкой яровой пшеницы, созданных с применением комплексных селекционно-генетических методических подходов: гапло-биотехнологии, эколого-географический принцип подбора родительских форм при конструировании сложных ярово-озимых гибридов (экологические валенты), для раскрытия возможности проведения оценок селекционного материала при выведении новых коммерческих сортов.

Цель исследования – изучение сообщества эндофитных грибов (патогенных и непатогенных) в семенном материале пшеницы для определения возможности применимости такого рода оценки в селекции на устойчивость к грибным патогенам, а также для понимания их сложных взаимодействий с растениями и окружающей средой.

Материалы и методы. Генотипы мягкой яровой пшеницы, созданные с применением современных селекционно-генетических подходов (гапло-биотехнологии, эколого-географического метода подбора родительских пар при конструировании сложных ярово-озимых гибридов). Применен микробиологический метод (выделение возбудителя на питательную среду, получение чистой культуры), включая идентификацию морфологическим методом (микроскопия). Результаты первичной диагностики подтверждены применением полимеразной цепной реакции (ПЦР), основывающейся на использовании праймеров, разработанных на участок ITS-гена, с последующим секвенированием по Сэнгеру.

Результаты. Показаны различия в архитектуре сообществ эндофитных грибов семенного материала в зависимости от генотипа селекционных линий мягкой яровой пшеницы. Идентифицированы 7 видов грибов, относящихся к 5 родам. Среди них обнаружены как патогенные из родов *Fusarium* и *Alternaria*, так и непатогенные грибы из *Trichoderma* и *Clonostachys*.

Выводы и рекомендации. Результаты данного исследования являются частью комплексного подхода и способствуют изучению формирования полезных эндофитных сообществ для использования в сельскохозяйственных и селекционных целях (подбор устойчивых сортов пшеницы и сокращение использования пестицидов). Изучение таких грибов – перспективное направление в селекции мягкой пшеницы.

Ключевые слова: селекция, защита растений, пшеница мягкая яровая, сорт, эндофитные микроорганизмы, грибы, фузариоз колоса, микроскопирование, секвенирование по Сэнгеру

Поступила 22.04.2025, одобрена после рецензирования 19.06.2025, принята к публикации 14.07.2025

Для цитирования. Дукси Ф., Бондаренко Г. Н., Бурлуцкий В. А., Цветкова Ю. В., Декин Г. О., Давыдова Н. В. Применимость оценки структуры микробиома эндوفитных грибов семенного материала в селекции мягкой яровой пшеницы // Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. 2025. Т. 27. № 4. С. 70–84. DOI: 10.35330/1991-6639-2025-27-4-70-84

Original article

Applicability assessment for seed endophytic fungal microbiome structure in the breeding of soft spring wheat

F. Duksi^{✉ 1, 2}, G.N. Bondarenko^{1, 2}, V.A. Burlutskiy^{2, 3}, Yu.V. Tsvetkova¹,
G.O. Dekin², N.V. Davydova⁴

¹All-Russian Plant Quarantine Center

140150, Russia, Moscow region, Ramensky municipal district, Bykovo urban settlement, 32 Pogranichnaya street

²Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba

117198, Russia, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya street

³Kaluga Research Agriculture Institute – branch of Russian Potato Research Centre

249142, Russia, Kaluga Region, Kaluga Experimental Agricultural Station, 2 Tsentralnaya street

⁴Federal Research Center "Nemchinovka"

143026, Russia, Moscow Region, Odintsovo, Novoivanovskoye, 6 Agrokhimikov street

Abstract. The paper presents the research outcomes for community structure of the endophytic fungi in the seed of some new highly productive genotypes in soft spring wheat, created using complex breeding and genetic methodologies: haplo-biotechnology, the ecological and geographical selecting parental forms in the design of complex spring-winter hybrids (ecological valents), to reveal the possibility of evaluating breeding material when breeding new commercial varieties.

Aim. To investigate the endophytic community (pathogenic and non-pathogenic), in wheat seeds to determine the feasibility of this type of evaluation to assess resistance to fungal diseases, as well as to understand the complex interactions between these fungi, plants and the environment.

Materials and methods. Genotypes of soft spring wheat created using modern breeding and genetic approaches (haplo-biotechnology, ecological and geographical selection of parental pairs in the construction of complex spring-winter hybrids). A microbiological technique is used (isolating the pathogen on a growth medium, obtaining a pure culture), which includes morphological identification (microscopy). The initial diagnosis is confirmed using polymerase chain reaction (PCR) based on primers developed for the (ITS) region, followed by Sanger sequencing.

Results. Differences are shown in the community structure of endophytic fungi in the seed material, depending on the breeding lines (genotypes) of spring wheat. 7 species of fungi belonging to 5 genera are identified. Pathogenic fungi from the genera *Fusarium* and *Alternaria*, as well as non-pathogenic fungi from *Trichoderma* and *Clonostachys*, are found among them.

Conclusions and recommendations. The results of this study contribute to a broader understanding of the formation of beneficial endophytic communities in agriculture and breeding (selection of resistant wheat varieties, which would reduce the need for pesticides). The study of such fungi is a promising area of research for the breeding of soft wheat.

Keywords: breeding, plant protection, soft spring wheat, cultivar, endophytic microorganisms, fungi, *Fusarium* head blight, microscopy, Sanger sequencing

Submitted 22.04.2025,

approved after reviewing 19.06.2025,

accepted for publication 14.07.2025

For citation. Duksi F., Bondarenko G.N., Burlutskiy V.A., Tsvetkova Yu.V., Dekin G.O., Davydova N.V. Applicability assessment for seed endophytic fungal microbiome structure in the breeding of soft spring wheat. *News of the Kabardino-Balkarian Scientific Center of RAS*. 2025. Vol. 27. No. 4. Pp. 70–84. DOI: 10.35330/1991-6639-2025-27-4-70-84

ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия производство пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в России претерпело значительные изменения, что позволило экспорту резко увеличиться с 696 000 тонн в 2001 году до 41,4 млн тонн к 2018 году. Россия стала крупнейшим в мире экспортером пшеницы [1, 2]. В 2024 году объем экспорта из России составил 57,5 млн тонн согласно данным Россельхознадзора¹.

Зерно производится в 76 регионах России, наибольшая площадь под посевами зерновых культур отмечается в Ростовской области, Алтайском крае, Краснодарском крае, Оренбургской области, Ставропольском крае, Волгоградской, Саратовской и Омской областях, Республике Башкортостан и Воронежской области [2]. Стратегии управления высокопродуктивным сельским хозяйством включают устойчивые сорта, севооборот, применение фунгицидов и методы обработки почвы. В этой связи вопросы полевой устойчивости сортов имеют решающее производственное значение, они связаны с недостаточной устойчивостью посевов к действию комплекса неблагоприятных абиотических и биотических факторов внешней среды [3, 4]. Основными грибными заболеваниями пшеницы в России считаются ржавчина, септориозная пятнистость листьев, фузариоз колоса, мучнистая роса зерновых. Известно, что изменение климата влияет на распространение и жизненные циклы патогенов, делая некоторые заболевания более распространенными. Например, фузариоз сильно развивается во влажных условиях во время цветения зерновых культур. Известно также, что некоторые виды рода *Trichoderma* Pers (1801) обладают антагонистической активностью в отношении фитопатогенных грибов рода *Fusarium* Link (1809), вызывающих фитофтороз – угрозу для влажных регионов, таких как Краснодарский край [5, 6]. В свою очередь микробиом растений помогает улучшить рост растений посредством взаимодействия с эндифитными микроорганизмами, ассоциированными с семенами. Однако наличие специфических грибов в семенах пшеницы остается малоизученным.

Методология создания новых сортов с заданными характеристиками (урожайность, устойчивость к болезням, климатическая адаптация, качество зерна) включает целенаправленное скрещивание, отбор и использование современных биотехнологий. Данная работа является частью комплексного исследования полевой устойчивости мягкой пшеницы по оценке структуры микробиома бактерий и грибов семенного материала генотипов разного эколого-географического происхождения, созданных на базе различных селекционных процессов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовано три современных селекционных генотипа мягкой пшеницы, созданных с применением различных технологий и имеющих разное генетическое происхождение. Образцы семенного материала для исследований являются смесью семян от полевых урожаев 2022 и 2023 годов, полученных в конкурсном селекционном питомнике специализированного селекционного оборота селекционного участка зерновых культур Калужского НИИСХ – ФИЦ картофеля имени А. Г. Лорха на средних суглинистых серых лесных почвах Перемышльского района Калужской области (табл. 1).

¹Роскомнадзор. Итоги 2024 года: экспорт зерна, государственный мониторинг качества, борьба с недостоверным декларированием. URL: <https://fsvps.gov.ru/news/itogi-2024-jeksport-zerna-gosudarstvennyj-monitoring-kachestva-borba-s-nedostovernym-deklarrovaniem/> (дата обращения: 2024)

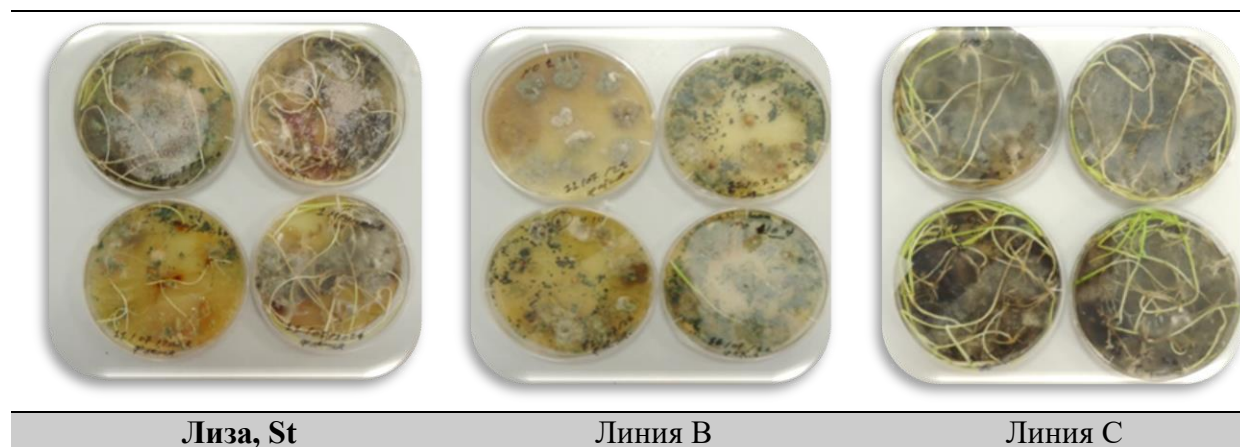
Таблица 1. Список селекционных генотипов линий пшеницы**Table 1.** List of selection genotypes of wheat lines

Сорт, линия	Шифр генотипа	Название и происхождение	Родительские компоненты	Селекционно-генетические технологии
Сорт	А	Лиза, St (ДГЛ (Виза х Амир))	Яровые	Гапло-биотехнологии: метод гаплопродюсера <i>Zea mays</i> L.
Линия F ₅	В	Н1445-20 [(яр.п. Марфа х оз.п. Липецкая Звезда) F ₁ х (яр.п. КВС Аквилон х оз.п. Немчиновская 24) F ₁] F ₃	Яровые и озимые	Экологические валенты
Линия С ₄	С	ДГЛ120 ex Н0204-20 [(яр.п. КВС Аквилон х оз.п. Липецкая Звезда) F ₁ х яр.п. Лиза] F ₁	Яровые и озимые	Экологические валенты и гапло-биотехнологии: метод гаплопродюсера <i>Zea mays</i> L.

*ДГЛ –диплоидизированная гаплоидная линия

В работе использовали следующие методы: метод выделения возбудителя на питательную среду, микроскопирование мицелия гриба. Для подтверждения результата и точности определения вида использовали ПЦР.

Исследование микробиологическим методом. Согласно [7] проводили выделение возбудителя на питательную среду (картофельно-глюкозный агар). Семена промывали под струей водопроводной воды в течение 10 минут. Исследуемый материал стерилизовали погружением в 70% этиловый спирт на 2–3 минуты, затем дважды промывали стерильной водой. Зерна просушивали на стерильной фильтровальной бумаге и раскладывали пинцетом на поверхность питательной среды. В одну чашку Петри (с питательной средой) диаметром 90 мм помещали 5–10 зерен на равном расстоянии друг от друга. Чашки Петри с анализируемыми образцами инкубировали в термостате при температуре 23–25°C чередованием «свет – темнота» по 12 часов. Результаты выделения возбудителя на питательной среде через 14 суток представлены на рисунке 1. Через 14 дней просматривали интересующие колонии грибов и отсеивали с помощью стерильной иглы или петли часть гиф или спор, которые переносили на новую среду для выращивания чистой культуры. Еще через 14 дней использовали чистые культуры для дальнейшего изучения.

**Рис. 1.** Результаты выделения гриба на питательной среде через 14 суток**Fig. 1.** Results of fungal isolation on a nutrient medium after 14 days

Метод микроскопирования гриба: для микроскопирования грибов использовали микроскоп Olympus BX53 (Япония). Для получения микроскопических изображений использовали программу «Olympus Sens Entry» (табл. 3). Для подтверждения результата и точности определения вида использовали ПЦР-анализ.

Молекулярно-генетические тесты.

Подготовка проб культуры гриба заключалась в следующем: небольшой фрагмент мицелия (с поверхности чистой культуры возбудителя) снимали стерильной препаровальной иглой и помещали в микропробирку. Добавляли 200 мкл лизирующего раствора (использовали лизирующий раствор из набора выделения ДНК) и тщательно гомогенизировали с помощью стерильного пестика. Выделение ДНК проводили с использованием готового набора «Фитосорб» (ООО «НПФ Синтол», Россия), основанного на использовании магнитных частиц выделения ДНК из растительного материала,

ПЦР и секвенирование последовательностей ДНК. Для уточнения видовой идентификации проводили классическую ПЦР с применением универсальных, синтезированных компанией ООО «Евроген» (Россия), праймеров ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCG-TAACAAGG-3') и ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [8, 9] (табл. 2). Постановку амплификации проводили в соответствии с инструкцией по применению мастер-микса реакционных смесей и установленной температурой отжига.

Таблица 2. Состав реакционной смеси для праймеров ITS4/ ITS5 и температурно-временной режим ПЦР [10]

Table 2. Composition of the reaction mixture for ITS4/ITS5 primers and temperature-time regime of PCR [10]

Реагенты	Объем компонента на 1 образец, мкл
Праймер прямой: ITS5	1
Праймер обратный: ITS4	1
ПЦР-буфера Mas DDMix 2025 (ООО «Диалат Лтд.», Россия)	5
H ₂ O	16
ДНК	2
Объем	25
Условия ПЦР: температурно-временной режим ПЦР	
Денатурация при 94°C в течение 3 мин.	
Далее 30 циклов	
Денатурация	30 сек. при 94°C
отжиг праймеров	30 сек. при 52°C
Элонгация	90 сек. при 72°C
Последний этап: финальная элонгация при 72°C в течение 7 мин.	

Детекцию продуктов амплификации проводили с помощью горизонтального электрофореза, после амплификации 4 мкл ПЦР-продукта раскапывали в лунки 1,5-го агарозного геля с бромистым этидием в 0,5×TBE-буфере и разделяли с помощью электрофореза. В дальнейшем проводили визуализацию полученных ампликонов с использованием гель-документирующей системы производства Bio-Rad (США). Результаты показаны на рисунке 2 [10]. Полученные ампликоны очищали с помощью набора «GeneJET PCR Purification Kit» («Thermo Fisher», Литва) и проводили секвенирование на генетическом анализаторе AB-3500 («Applied Biosystems», США/Япония) согласно процедуре, используемой в [11]. Полученные участки нуклеотидных последовательностей обрабатывали с использованием

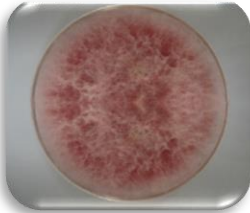
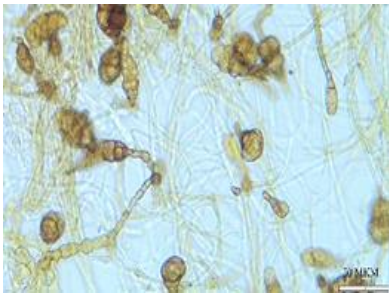
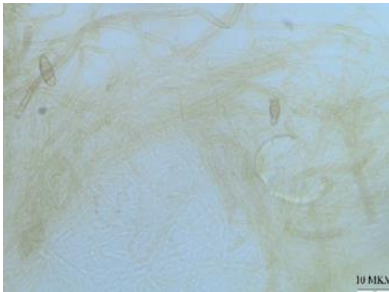
программы BioEdit v.7.0.5.3. Сравнительный анализ проводили с использованием последовательностей изолятов, депонированных в базу данных Gen Bank NCBI (Nucleotide BLAST)².

РЕЗУЛЬТАТЫ

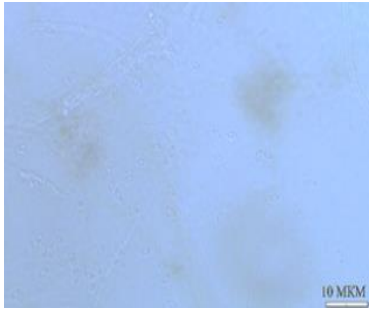
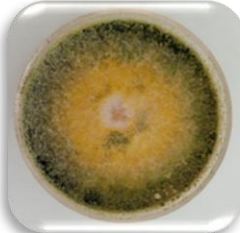
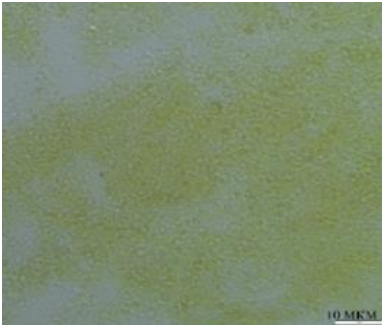
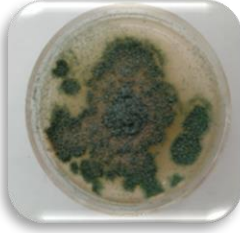
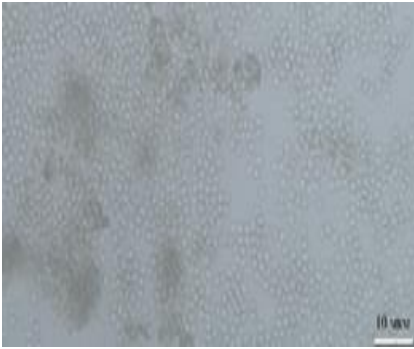
Микробиологические методы исследования микробиома семенного материала пшеницы разных селекционных генотипов позволили выделить грибы в чистую культуру, предварительно диагностировать их родовую принадлежность и отнести к условным фитопатологическим группам. Среди них выявлены грибы родов *Fusarium* Link (1809) и *Alternaria* Nees, которые могут вызывать такие заболевания, как фузариоз колоса и черная пятнистость («черный зародыш»). Также обнаружены эндофиты, полезные для защиты урожая и сокращения использования пестицидов, такие как *Trichoderma*. Pers (1801). Результаты исследования микробиологическим методом и методом микроскопирования грибов показаны в таблице 3.

Таблица 3. Результаты выделения чистой культуры гриба на питательную среду и микроскопирования

Table 3. Results of isolation of pure fungal culture on nutrient medium and microscopy

Фотография чистой культуры гриба	Фотография микропрепаратов мицелия грибов	Идентифицированный род
Группа патогенных грибов		
		<i>Fusarium</i> sp. Link (1809).
		<i>Alternaria</i> sp. Nees.
		<i>Alternaria</i> sp. Nees.

² National Center for Biotechnology Information. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.

Группа непатогенных грибов		
		<i>Clonostachys</i> sp. Corda.
		<i>Trichoderma</i> sp. Pers. (1801)
		<i>Penicillium</i> sp. Link (1809).
		<i>Penicillium</i> sp. Link (1809).

Группа патогенных грибов. Отнесены виды, определенные до рода *Fusarium*, являющиеся возбудителями фузариоза колоса зерновых культур (одного из самых серьезных заболеваний), поражающие посевы пшеницы во всем мире. Возбудителями заболевания являются несколько видов рода *Fusarium* [12]. Фузариоз колоса приводит не только к снижению урожайности, но и к ухудшению качества зерна из-за выработки микотоксинов [13], которые представляют опасность для здоровья людей и сельскохозяйственных животных [14]. Диагностированы виды, относящиеся к роду *Alternaria*, вырабатывают микотоксины, являющиеся опасными для человека, животных и сельскохозяйственных культур (тентоксин, теназоновая кислота, вызывают болезни зерновых культур) [15].

Группа непатогенных грибов. Выделены эндофитные грибы, стимулирующие рост растений. Представлены видами рода *Trichoderma*, *Clonostachys* и *Penicillium*. Потенциальное использование видов возможно при внесении в посевы в виде пшенично-зернового субстрата [16]. Виды этих родов являются наиболее популярными исследовательскими инструментами в качестве микробных инокулянтов, которые широко используются против ряда фитопатогенных грибов, вызывающих почвенные, воздушные и послеуборочные заболевания растений. Некоторые штаммы *Trichoderma* в последние годы стали популярны как стимуляторы роста растений, способные проникать в ризосферу, оказывать прямое воздействие на растения, увеличивая их потенциал роста и поглощение питательных веществ. Они способствуют эффективному использованию удобрений, увеличению процента и скорости прорастания семян, а также стимулируют защиту растений от биотических и абиотических повреждений [17].

Грибы, принадлежащие к роду *Penicillium*, считаются ключевой группой почвенной микрофлоры, участвующей в круговороте фосфора. Было продемонстрировано, что микробиологическая активность в ризосфере помогает растворять труднорастворимый неорганический фосфор и усиливать рост растений. Кроме того, *Penicillium* spp. часто выделяются как компоненты корневой микрофлоры различных видов сельскохозяйственных культур. Ассоциация фосфорсольбилизирующих *Penicillium* spp. с корнями растений имеет потенциал влиять на питание фосфором сельскохозяйственных растений [18].

Уточнение диагноза грибов до вида было проведено методом классической ПЦР с применением универсальных праймеров. Электрофореграммы продуктов амплификации по генотипам пшеницы приведены на рис. 2.

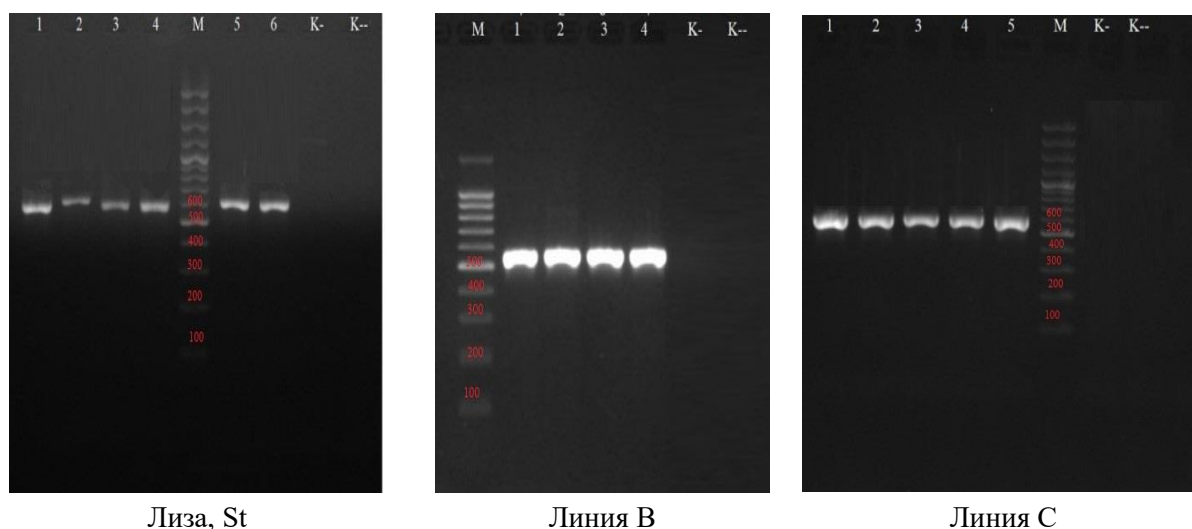


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов ПЦР чистых культур, полученных от семенного материала генотипов пшеницы: K^- – отрицательный контрольный образец (выделенный), K^+ – отрицательный контрольный образец (чистая зона)

Fig. 2. Electropherogram of PCR products of pure cultures obtained from spring-winter lines: K^- is the negative control sample (isolated), K^+ is the negative control sample (clean zone)

Показано, что покрытие и достоверность идентификации видовой принадлежности грибов по анализу продуктов секвенирования были достоверно высокими для всех выделенных грибов. Высокие показатели идентичности ($\geq 99\%$) и покрытия ($\geq 99\%$) подтверждают точность видовой идентификации и полноту генетических данных. Результаты секвенирования продуктов ПЦР для определения таксономии представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты анализа нуклеотидных последовательностей NCBI для определения принадлежности целевого гриба, где (№ s) – электрофореграммы продуктов ПЦР из рис. 2

Table 4. Results of the analysis of the read nucleotide sequence, where (No. s) – electropherograms of PCR products from Fig. 2

№ s	Инфицированный вид	Идентичность, %	Покрытие, %	Страна	Sequence ID: /ID NCBI
Сорт Лиза, St					
1	<i>Fusarium graminearum</i> isolate 24336 clone 2	99	99,38	Канада	Sequence ID: MH108136.1 NCBI: NCBI:txid5518
2	<i>Clonostachys rosea</i> (strain GFR45)	99,10	100	Китай	Sequence ID: MT447550.1 NCBI:txid29856
3	<i>Alternaria tenuissima</i> (strain PAS85)	100	100	Китай	Sequence ID: PP914110.1 NCBI:txid119927
4	<i>Trichoderma harzianum</i> isolate 31462-5S-3G-Sx	100	100	Канада	Sequence ID: PV156897.1 NCBI:txid5544
5	<i>Penicillium crustosum</i> (strain CN045B9)	99,51	100	ЮАР	Sequence ID: ON204056.1 NCBI:txid36656
6	<i>Clonostachys rosea</i> (isolate G409)	99,80	100	Россия	Sequence ID: PQ482364.1 NCBI:txid29856
Селекционная линия В					
1	<i>Fusarium graminearum</i> (isolate Pumpkin internal transcribed spacer 1)	99,29	99	Маврикий	Sequence ID: ON738580.1 NCBI:txid5518
2	<i>Clonostachys rosea</i> (strain N11)	99,83	100	Турция	Sequence ID: MH259860.1 NCBI:txid29856
3	<i>Trichoderma harzianum</i> (strain 38614DRJ 18S)	100	100	Польша	Sequence ID: MF782820.1 NCBI:txid5544
4	<i>Penicillium allii</i> (isolate CMV003F3 18S)	100	100	ЮАР	Sequence ID: MK450672.1 NCBI:txid1459053
Селекционная линия С					
1	<i>Fusarium graminearum</i> culture CBS:131569	99,38	99	Нидерланды	Sequence ID: MH865921.1 NCBI:txid5518
2	<i>Alternaria cf. infectoria</i> (IHEM 28029)	99,84	99	Бельгия	Sequence ID: OU989242.1 NCBI:txid2868185
3	<i>Trichoderma harzianum</i> (strain TH XIV)	99,61	100	Польша	Sequence ID: MH602418.1 NCBI:txid5544
4	<i>Clonostachys rosea f. catenulata</i> (isolate AB19PT294)	99,45	100	Россия	Sequence ID: OM965347.1 NCBI:txid62888
5	<i>Fusarium graminearum</i> culture CBS:131266	99,47	99	Нидерланды	Sequence ID: MH865928.1 NCBI:txid5518

Установлено, что для *Fusarium graminearum*: (teleomorph *Gibberella zeae*) идентичность последовательностей в базе NCBI варьирует от 99 до 100 % при покрытии от 99 до 100 % со штаммами из Канады, Маврикия и Нидерландов. Для *Clonostachys rosea*: (Link) Schroers (1999) идентичность последовательностей варьирует от 99,10 до 99,83 % при покрытии 100 %. Образцы сравнения представлены изолятами из Китая, Турции и России. Для *Alternaria tenuissima*: (Kunze ex Nees et T. Nees: Fries) идентичность последовательностей составляет 100 % при покрытии 100 % со штаммом происхождения из Китая. Для *Alternaria cf. infectoria* (E.G. Simmons, 1986) идентичность последовательностей составляет 99,84 % при покрытии 99 % с изолятом из Бельгии. Для *Trichoderma harzianum*: Rifai, (1969) идентичность последовательностей варьирует от 99,61 до 100 % при покрытии 100 %. Образцы

сравнения описаны в Канаде и Польше. Для *Penicillium crustosum* Thom, (1930) идентичность последовательностей 99,51 % при покрытии 100 % в сравнении со штаммом, описанным в ЮАР. Для *Penicillium allii* Vincent & Pitt, (1989) идентичность последовательностей 100 % при покрытии 100 % в сравнении с штаммом также из ЮАР.

Комплексный анализ исследования структуры сообществ эндофитных грибов, ассоциированных с семенами селекционных генотипов яровой пшеницы, позволил идентифицировать 7 видов грибов, относящихся к 5 родам. В семенном материале определены виды эндофитных грибов, обнаруживающие патогенные свойства: *F. graminearum*, характерный для всех генотипов пшеницы, и виды *A. tenuissima* и *A. infectoria* E.G, проявляющие генотип-генотипическую специфичность, в то же время селекционная линия В (Н1445-20) не была подвержена заселению этими видами. Из группы непатогенных грибов общими для всех генотипов пшеницы являются виды *C. rosea* и *T. harzianum* и дифференцирующими – виды рода *Penicillium*, при этом селекционная линия С (ДГЛ120) не вступает в отношения с этими видами. Выявленные непатогенные грибы могут вступать в симбиотические отношения с растениями, способствовать их росту или повышать продуктивность и устойчивость к стрессам, болезням [16, 17, 18]. Показано, что структура эндофитных грибных сообществ семян пшеницы в значительной степени определяется генотипом линии. Выделяется линия В (Н1445-20), созданная с применением эколого-географического метода подбора родительских пар и экологической валентной оценки сложной гибридной популяции, по наименьшему количеству участия видов грибов, относящихся к патогенным (*F. graminearum*) и наибольшему – к непатогенным грибам (*C. rosea*, *T. harzianum* и *P. allii*).

Комплексный анализ по полученным чистым культурам и нуклеотидным последовательностям показан в таблице 5.

Таблица 5. Результат секвенирования продуктов ПЦР и наличие грибных свойств

Table 5. Result of PCR product sequencing and presence of fungal properties

Патогенные свойства	Идентифицированный род	Идентифицированный вид	Лиза, St	Линия В	Линия С
Да	<i>Fusarium</i>	<i>F. graminearum</i>	+	+	+
	<i>Alternaria</i>	<i>A. tenuissima</i>	+	–	–
		<i>A. infectoria</i> E.G.	–	–	+
Нет	<i>Clonostachys</i>	<i>C. rosea</i>	+	+	+
	<i>Trichoderma</i>	<i>T. harzianum</i>	+	+	+
	<i>Penicillium</i>	<i>P. crustosum</i>	+	–	–
		<i>P. allii</i>	–	+	–
Общее количество грибов-эндофитов, видов			5	4	4
Соотношение патогенных к непатогенным, %			40	25	50

Выводы

Методологические аспекты. Комбинация микробиологических, микроскопических и молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование ITS-региона) обеспечила высокую точность идентификации грибов (идентичность ≥ 99 %, покрытие ≥ 99 %).

Разнообразие эндофитных грибов в семенном материале пшеницы. В семенах изученных генотипов мягкой яровой пшеницы выявлено 7 видов грибов, относящихся к 5 родам. Среди них обнаружены как патогенные виды (*Fusarium graminearum*, *Alternaria tenuissima*, *A. infectoria*), так и непатогенные (*Clonostachys rosea*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium crustosum*, *P. allii*).

Влияние генотипа на состав микробиома. Структура грибных сообществ семян значительно варьировала в зависимости от генотипа пшеницы. Наиболее устойчивой оказалась линия В (Н1445-20), созданная с применением эколого-географического метода подбора родительских пар. В ее семенах преобладали непатогенные грибы (*C. rosea*, *T. harzianum*, *P. allii*), а патогенные виды (*F. graminearum*) были представлены в меньшей степени.

Патогенные грибы и их угрозы. *Fusarium graminearum* (возбудитель фузариоза колоса) и *Alternaria* spp. (продуценты микотоксинов) представляют серьезную угрозу для урожая и качества зерна. Их наличие в семенном материале требует контроля для минимизации рисков заражения посевов.

Потенциал непатогенных грибов. Непатогенные эндофиты (*Trichoderma*, *Clonostachys*, *Penicillium*) демонстрируют потенциал для использования в сельском хозяйстве: *Trichoderma harzianum* и *Clonostachys rosea* могут применяться как агенты биоконтроля патогенов и стимуляторы роста растений. *Penicillium* spp. способствуют мобилизации фосфора в почве, улучшая питание растений.

Перспективы для селекции. Анализ структуры микробиома семян может служить дополнительным критерием при отборе селекционных линий на устойчивость к болезням. Линия В (Н1445-20) показала наилучший баланс между устойчивостью к патогенам и наличием полезных эндофитов, что подтверждает эффективность использованных при ее создании методов (экологические валенты).

Рекомендации для дальнейших исследований. Изучить влияние выявленных грибов на рост и развитие растений в полевых условиях. Разработать методы интродукции полезных эндофитов (*Trichoderma*, *Clonostachys*) в агроценозы для снижения зависимости от химических фунгицидов. Расширить исследования на другие селекционные линии и сорта пшеницы для выявления устойчивых генотипов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Структура микробиома семян изученных селекционных генотипов мягкой яровой пшеницы была представлена 7 видами грибов, относящихся к 5 родам, из них 3 вида были отнесены к группе патогенных грибов. На основании анализа соотношения патогенных и непатогенных грибов-эндофитов и их количества, выявленных в семенах, была выделена селекционная линия В (Н1445-20), созданная с применением эколого-географического метода подбора родительских пар пшеницы и экологической валентной оценки сложной ярово-озимой гибридной популяции, что подчеркивает влияние методов селекции на формирование микробиома. Показаны возможности проведения оценок селекционного материала при выведении новых коммерческих сортов по анализу структуры сообществ грибов-эндофитов.

Дальнейшие исследования будут сосредоточены на определении функции влияния идентифицированных штаммов грибов на стадии роста и развития растений селекционных генотипов пшеницы, проявляющих контрастные генотип-генотипические взаимодействия, а установление баланса между полезной ролью эндофитных грибов в семенах пшеницы и потенциальными рисками будет способствовать селекционным изысканиям. В свою очередь разработка методологии производства интегративных оценок микробиома семян позволит ускоренно создавать высокопродуктивные коммерческие сорта с широкой амплитудой полевой устойчивости к лимитирующим абиотическим и биотическим факторам внешней среды, что соответствует принципам устойчивого сельского хозяйства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Шалаева Л. В. Мировой и российский рынок зерна: оценка тенденций и перспектив // Продовольственная политика и безопасность. 2023. Т. 10. № 2. С. 287–302. DOI: 10.18334/ppib.10.2.117014

Shalaeva L.V. World and Russian grain market: assessment of trends and prospects. *Food policy and security*. 2023. Vol. 10. No. 2. Pp. 287–302. DOI: 10.18334/ppib.10.2.117014. (In Russian)

2. Словарева О. Ю. Анализ производства и экспорта российского зерна и составление перечня регулируемых фитосанитарными требованиями стран-импортеров возбудителей бактериозов зерновых культур // Аграрный вестник Северного Кавказа. 2023. № 3(51). С. 47–54. DOI: 10.31279/2949-4796-2023-3-51-47-54

Slovareva O.Yu. Production, export and import of cereals and compilation of a list of phytopathogenic bacteria associated with them. *Agrarian Bulletin of the North Caucasus*. 2023. No. 3(51). Pp. 47–54. DOI: 10.31279/2949-4796-2023-3-51-47-54 (In Russian)

3. Мальчиков П. Н., Мясникова М. Г. Развитие селекции яровой твердой пшеницы в России (странах бывшего СССР), результаты и перспективы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2023. Т. 27. № 6. С. 591–608. DOI: 10.18699/VJGB-23-71

Mal'chikov P.N., Myasnikova M.G. Development of breeding of spring durum wheat in Russia (former USSR countries), results and prospects. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023. Vol. 27. No. 6. Pp. 591–608. DOI: 10.18699/VJGB-23-71. (In Russian)

4. Ген А. А., Бурлуцкий В. А., Грингоф И. Г. и др. Фотометрический и ультразвуковой методы оценки состояния посевов ячменя // Гидрометеорология и образование. 2025. № 1. С. 76–93. EDN: LBNGJM

Gen A.A., Burlutskiy V.A., Gringof I.G. et al. Photometric and ultrasonic methods for assessing the condition of barley crops. *Hydrometeorology and education*. 2025. No. 1. Pp. 76–93. EDN: LBNGJM. (In Russian)

5. Gagkaeva T., Gavrilova O., Orina A. et al. Analysis of toxigenic fusarium species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia. *Toxins*. 2019. Vol. 11. No. 5. P. 252. DOI: 10.3390/toxins11050252

6. Пигалов А. В., Соловьев А. А., Гарибян Ц. С. Влияния грибов рода *Fusarium* на урожайность и качество пшеницы и тритикале и возможности использования РНК-интерференции и малых РНК в борьбе с грибными заболеваниями // Международный конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы». Сборник тезисов. Санкт-Петербург, 2024. С. 663.

Pigalov A.V., Soloviev A.A., Garibyan Ts.S. Effects of fusarium fungi on the yield and quality of wheat and triticale and the possibility of using RNA interference and small RNA in the fight against fungal diseases. In: *International Congress "VIII Congress of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders, dedicated to the 300th anniversary of Russian science and higher education"*. Collection of abstracts. St. Petersburg, 2024. P. 663. (In Russian)

7. Чумаков А. Е., Минкевич И. И., Власов Ю. И., Гаврилова Е. А. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, ВНИИЗР, 1974. С. 131–139.

Chumakov A.E., Minkevich I.I., Vlasov Yu.I., Gavrilova E.A. Basic methods of phytopathological research. Moscow: Kolos, VNIIZR, 1974. Pp. 131–139. (In Russian)

8. EPPO Standard PM 7/86 (1). *EPPO Bulletin*. 2009. Vol. 39. Pp. 18–24. DOI: 10.1111/j.1365-2338.2009.02245.x

9. White T., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press. 1990. Pp. 315–322. DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1
10. Кузнецова А. А., Цветкова Ю. В., Камченков А. В. Культурально-морфологические особенности возбудителя *Diaporthe vaccinii* в подкарантинной продукции – растениях клюквы // Фитосанитария. Карантин растений. 2021. № 2. С. 27–36. DOI: 10.69536/FKR.2021.49.45.001
- Kuznetsova A.A., Tsvetkova Yu.V., Kamchenkov A.V. Culture morphological characteristics of the pathogen *Diaporthe vaccinii* in regulated products – cranberry plants. *Plant Health and Quarantine*. 2021. No. 2. Pp. 27–36. DOI: 10.69536/FKR.2021.49.45.001. (In Russian)
11. Белкин Д. Л., Бондаренко Г. Н., Яремко А. Б., Уварова Д. А. Метод секвенирования по видам выявления карантинных вредных объектов // Карантин растений. Наука и практика. 2019. № 2(28). С. 31–34.
- Belkin D.L., Bondarenko G.N., Yaremko A.B., Uvarova D.A. Sequencing method by types for identifying quarantine pests. *Karantin rastenij. Nauka i praktika* [Plant Quarantine. Science and Practice]. 2019. No. 2(28). Pp. 31–34. (In Russian)
12. Rauwane M.E., Ogugua U.V., Kalu C.M. et al. Pathogenicity and virulence factors of fusarium graminearum including factors discovered using next generation sequencing technologies and proteomics. *Microorganisms*. 2020. Vol. 8. No. 2. P. 305. DOI: 10.3390/microorganisms8020305
13. Bianchini A., Battilani P. Climate change and Fusarium mycotoxins: A review of trends and predictions. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2021. Vol. 38. No. 6. Pp. 943–954. DOI: 10.1080/19440049.2021.1914864
14. Gizachew H.R. Harnessing and sounding the alarm on fusarium head blight of wheat: current status, biology, detection and diagnosis method, mycotoxins, and integrated management options. *Greener Journal of Agricultural Sciences*. 2023. Vol. 13. No. 4. Pp. 227–243.
15. Awuchi C.G., Ondari E.N., Ogbonna C.U. et al. Mycotoxins affecting animals, foods, humans, and plants: types, occurrence, toxicities, action mechanisms, prevention, and detoxification strategies – a revisit. *Foods*. 2021. Vol. 10. No. 6. P. 1279. DOI: 10.3390/foods10061279
16. Türkölmez Ş., Özer G., Derviş S. Clonostachys rosea Strain ST1140: An endophytic plant-growth-promoting fungus, and its potential use in seedbeds with wheat-grain substrate. *Current Microbiology*. 2022. Vol. 80. No. 1. P. 36. DOI: 10.1007/s00284-022-03146-3
17. Zin N.A., Badaluddin N.A. Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*. 2020. Vol. 65. No. 2. Pp. 168–178. DOI: 10.1016/j.aos.2020.09.003
18. Bernal S.P.F., Gritti M.A., Dos Santos V.P. et al. Pharmaceutical biotechnological potential of filamentous fungi isolated from textile industry. *Archives of Microbiology*. 2021. Vol. 203. No. 7. Pp. 3933–3944. DOI: 10.1007/s00203-021-02379-3

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Вклад авторов:

Дукси Ф. – основной исполнитель;

Бондаренко Г. Н. – руководитель;

Бурлуцкий В. А., Давыдова Н. В. – предоставление материала и аудит сельскохозяйственной части;

Цветкова Ю. В. – оформление методологии;

Декин Г. О. – перевод на английский

Contribution of the authors:

Duksi F. – main performer;
Bondarenko G.N. – manager;
Burlutskiy V.A., Davydova N.V. – provision of material and audit of the agricultural part;
Tsvetkova Yu.V. – design of methodology;
Dekin G.O. – translation into English

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed with no external funding.

Информация об авторах

Дукси Фатима, агроном испытательного лабораторного центра, Всероссийский центр карантина растений;

140150, Россия, Московская область, м.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32;
аспирант аграрного факультета, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы;
117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;
f.duksi@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7353-7816>, SPIN-код: 9937-6393

Бондаренко Галина Николаевна, канд. биол. наук, стар. науч. сотр., начальник испытательного лабораторного центра, Всероссийский центр карантина растений;

140150, Россия, Московская область, м.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32;
доцент, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы;
117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2172-7634>, SPIN-код: 2631-5209

Бурлуцкий Валерий Анатольевич, канд. с.-х. наук, ст. преподаватель Аграрно-технологического института, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы;

117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;
вед. науч. сотр. научного подразделения по направлению исследований – технологии производства продукции растениеводства, Калужский НИИСХ – филиал ФИЦ картофеля имени А. Г. Лорха;
249142, Россия, Калужская область, с. Калужская опытная сельскохозяйственная станция, ул. Центральная, 2;
burlutskiy-va@rudn.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5072-4766>, SPIN-код: 4167-4646

Цветкова Юлия Владиславовна, науч. сотр. лаборатории микологии испытательного лабораторного центра, Всероссийский центр карантина растений;

140150, Россия, Московская область, м.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32;
SPIN-код: 2744-1123

Декин Габриэль Окбатинсаэ, аспирант аграрного факультета, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы;

117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;
ghebrilokba@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4460-1077>

Давыдова Наталья Владимировна, д-р с.-х. наук, зав. лабораторией селекции и первичного семеноводства яровой пшеницы, Федеральный исследовательский центр «Немчиновка»;

143026, Россия, Московская область, г.п. Одинцово, р.п. Новоивановское, ул. Агрохимиков, 6;
SPIN-код: 5470-3052

Information about the authors

Fatima Duxsi, Agronomist Testing laboratory center of the All-Russian Plant Quarantine Center;
140150, Russia, Moscow region, Ramensky municipal district, Bykovo urban settlement, 32 Pogranichnaya street;

Postgraduate student of the Agrarian faculty of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba;

117198, Russia, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya street;
f.duksi@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7353-7816>, SPIN-code: 9937-6393

Galina N. Bondarenko, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Head of the testing laboratory center of the All-Russian Plant Quarantine Center;

140150, Russia, Moscow region, Ramensky municipal district, Bykovo urban settlement, 32 Pogranichnaya street;

Associate Professor of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba;

117198, Russia, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya street;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2172-7634>; SPIN-code: 2631-5209

Valeriy A. Burlutskiy, Candidate of Agricultural Sciences, Senior Lecturer, Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba;

117198, Russia, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya street;

Leading Researcher, Research Unit, Plant Production Technology, Kaluga Research Agriculture Institute – branch of Russian Potato Research Centre;

249142, Kaluga Region, Peremyshlsky District, Kaluga Experimental Agricultural Station, 2 Tsentralnaya street;

burlutskiy-va@rudn.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5072-4766>, SPIN-code: 4167-4646

Yulia V. Tsvetkova, Researcher, Mycology Laboratory, Testing Laboratory Center, All-Russian Plant Quarantine Center;

140150, Russia, Moscow region, Ramensky municipal district, Bykovo urban settlement, 32 Pogranichnaya street;

SPIN-code: 2744-1123

Ghebriel O. Dekin, Postgraduate Student of the Agrarian faculty of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba;

117198, Russia, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya street;

ghebrielokba@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4460-1077>

Natalia V. Davydova, Doctor of Agricultural Sciences, Head of the Laboratory of Selection and Primary Seed Production of Spring Wheat Federal Research Center “Nemchinovka”;

143026, Russia, Moscow Region, Odintsovo, Novoivanovskoye, 6 Agrokhimikov street;

SPIN-code: 5470-3052