

ГРИБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 633.1: 632.4

РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* И ИХ МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНЕ ИЗ АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

© 2022 г. О. П. Гаврилова^{1,*}, Т. Ю. Гагкаева^{1,**}, А. С. Орина^{1,***}, Н. Н. Гогина^{2,****}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, 141311 Сергиев Посад, Россия

*e-mail: olgavrilova1@yandex.ru

**e-mail: t.gagkaeva@mail.ru

***e-mail: orina-alex@yandex.ru

****e-mail: n.n.gogina@mail.ru

Поступила в редакцию 15.01.2022 г.

После доработки 05.02.2022 г.

Принята к публикации 24.02.2022 г.

Приведена актуальная информация о встречаемости грибов рода *Fusarium* и содержании микотоксинов в зерне пшеницы, ячменя и овса, выращенных в Уральском и Сибирском федеральных округах в 2018–2019 гг. Микологический анализ зерна и видовая идентификация грибов выявили в микобиоте зерна не менее 16 видов рода *Fusarium*, среди которых наиболее часто встречались *Fusarium sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae* и *F. anguioides*: их доли в составе фузариевых грибов составляли 31, 20, 19 и 13% соответственно. Установлена массовая встречаемость *F. graminearum*, продуцирующего микотоксин дезоксиниваленон в зерне как из Уральского, так и из Сибирского федеральных округов. Выявлены новые географические точки редких для азиатской территории России видов *F. langsethiae* (Курганская обл.), *F. sibiricum* (Кемеровская обл.), которые являются активными продуцентами трихотеценовых микотоксинов группы А, а также *F. globosum* (Алтайский край, Омская обл.) – продуцента фумонизинов. Установлено, что разнообразие видов рода *Fusarium*, встречающихся в зерне пшеницы и ячменя, было выше, чем в зерне овса. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией проанализировали содержание в образцах зерна 19 микотоксинов, продуцируемых видами рода *Fusarium*. Наибольшее разнообразие фузариотоксинов выявлено в пшенице (максимально 12 микотоксинов) по сравнению с овсом (9) и ячменем (8). Частота встречаемости Т-2 и НТ-2 токсинов, дезоксиниваленола, ниваленола, монилиформина и боверицина по сравнению с другими микотоксинами в образцах зерна была выше, но их содержание значительно варьировало в зависимости от погодных условий вегетационного периода и вида зерновой культуры. Среднее содержание дезоксиниваленола (максимум – 375 мкг/кг) в зерне пшеницы в 5 раз превышало его среднее содержание в зерне ячменя, а в зерне овса этот микотоксин не обнаружен. Типичным для образцов зерна ячменя и овса являлось их загрязнение Т-2 и НТ-токсинами (максимумы – 2652 мкг/кг и 481 мкг/кг), а также боверицином (максимум – 49 мкг/кг). Содержание монилиформина (максимум – 50 мкг/кг) в зерне трех культур было сходным.

Ключевые слова: зерновые культуры, распространение, Сибирь, Урал, фузариотоксины, *Fusarium*

DOI: 10.31857/S0026364822030035

ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Fusarium* Link – это многочисленная группа чрезвычайно разнообразных организмов, одни из которых широко распространены, а другие являются эндемичными и выявлены только в узколокальных местообитаниях (O'Donnell et al., 2015). Идентификация грибов рода *Fusarium* представляет значительную сложность из-за широкой вариабельности их морфологических признаков и отсутствия четких границ между видами. В России на зерновых культурах встречаются десятки видов грибов рода *Fusarium*, характеризующихся широким диапазоном свойств (от эндофи-

тов до патогенов), которые способны продуцировать как биологически активные вещества, защищающие растения, так и микотоксины, опасные для организмов (Gagkaeva et al., 2014).

Токсинообразование у грибов рода *Fusarium* имеет четко выраженный видоспецифичный характер (Thrane et al., 2004), что позволяет прогнозировать, какие именно микотоксины могут накапливаться в зерне при его колонизации грибами. Грибы рода *Fusarium* образуют разнообразные токсичные вторичные метаболиты, среди которых наиболее известны трихотеценовые микотоксины. Среди них, Т-2 и НТ-2 токсины, Т-2 триол, неосо-

ланиол (НЕО), диацетоксисцирпенол (ДАС) относятся к трихотеценовым микотоксинам группы А, а дезоксиниваленол (ДОН), его ацетилированные производные 3-ацетил-ДОН (3-АцДОН), 15-ацетил-ДОН (15-АцДОН), ДОН-3-глюкозид (ДОН-3-гл), ниваленол (НИВ) и его ацетилированное производное фузаренон-Х – к трихотеценовым микотоксинам группы Б. Зеараленон (ЗЕН) и его производные (α - и β -зеараленолы), фумонизины, монилиформин (МОН) и боверицин (БОВ) также являются микотоксинами, продуцируемыми фузариевыми грибами. Негативный эффект воздействия большинства микотоксинов при их попадании в организм человека или животного, регуляция их синтеза, токсичность, взаимодействие и способы детоксикации постоянно изучаются (McCormick et al., 2011; Berthiller et al., 2013; Karlovsky et al., 2016; Foroud et al., 2019; Fremy et al., 2019).

Мониторинговые исследования контаминации зерна грибами и микотоксинами обычно проводятся по проценту зараженных зерновок тем или иным таксоном и, реже по содержанию в зерне официально регламентируемых нормативными документами фузариотоксинов. Разнообразие и частота встречаемости видов грибов в значительной степени зависят от эколого-климатических особенностей региона и меняются при изменении факторов среды обитания организмов. Предыдущие исследования зараженности зерновых культур, выращенных в Уральском и Сибирском федеральных округах (ФО), выявили высокую встречаемость грибов рода *Fusarium* в микобиоте зерна, среди которых наиболее распространенными являлись виды *Fusarium sporotrichioides* Sherb., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., а также *F. poae* (Peck) Wollenw. (Ivashchenko et al., 2000; Ivashchenko, Shipilova, 2004; Gagkaeva et al., 2009; Gorobey, Ashmarina, 2009; Urazbakhtina, Khairullin, 2012; Piryaeva et al., 2016; Litovka, 2017; Toropova et al., 2019; Gagkaeva et al., 2019a; Gavrilova et al., 2020). Анализ содержания фузариотоксинов в образцах зерна пшеницы, ячменя и овса, выращенных в разных областях Уральского и Сибирского ФО (Kononenko, Burkin, 2009; Kononenko et al., 2018, 2020; Gagkaeva et al., 2019a; Gavrilova et al., 2020; Kiseleva et al., 2021), показал, что их количество, в том числе Т-2 токсина и ДОН, могло многократно превышать максимально допустимые уровни.

Несмотря на генетически детерминированную способность организма продуцировать тот или иной микотоксин, ее реализация также в большой степени зависит от конкретных условий среды. Наблюдаемое в последние годы изменение климата оказывает непосредственное влияние на распространение и видовой состав фитопатогенных грибов, в том числе токсинопродуцирующих (Levitin, 2015; Juroszek et al., 2020; Perrone et al., 2020). В определенном регионе в микобиоте зер-

новых культур может происходить как смена доминирующих, так и появление ранее нетипичных видов грибов.

Цель исследования – выявление видового состава грибов рода *Fusarium* и продуцируемых ими микотоксинов в зерне пшеницы, ячменя и овса, выращенных на азиатской территории России, а также определение факторов, влияющих на контаминацию зерна грибами и микотоксинами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализировали 137 средних образцов зерна урожая 2018–2019 гг., собранных в разных областях Сибирского ФО (76 образцов из Алтайского края, Кемеровской, Новосибирской и Омской обл.) и Уральского ФО (61 образец из Курганской, Свердловской, Тюменской и Челябинской обл.), включая 74 образца пшеницы, 47 – ячменя и 16 – овса.

Для оценки зараженности зерна грибами и выявления видового состава микромицетов из каждого образца отбирали 100–200 зерен. Поверхность зерен стерилизовали 5%-м раствором гипохлорита натрия в течение 3 мин, после их отмывали стерильной водой. В ламинарном боксе зерна раскладывали в чашки Петри на поверхность картофельно-сахарозной агаризованной среды (КСА), в которую предварительно вносили растворы антибиотиков и детергента Triton X-100.

Через 7–14 суток инкубирования чашек Петри в темноте при 24°C проводили учет числа колоний грибов, выросших из зерен. Видовую принадлежность устанавливали по сумме макро- и микроморфологических признаков с использованием специализированной литературы (Gerlach, Nirenberg, 1982; Aoki, Nirenberg, 1999; Torp, Nirenberg, 2004; Yli-Mattila et al., 2011).

Зараженность зерна определенным таксоном рассчитывали как число зерен, из которых были выделены грибы данного таксона, к общему числу анализируемых зерен, выраженное в процентах. Долю конкретного вида выражали как процентное отношение числа изолятов данного таксона ко всем выделенным грибам рода.

Зерно из каждого образца (20 г) гомогенизировали в стерильных контейнерах на мельнице Tube Mill Control (IKA, Германия) и замораживали при –20°C до последующей экстракции микотоксинов.

Экстракцию вторичных метаболитов проводили раствором ацетонитрил : вода : уксусная кислота (79 : 20 : 1). К 5 г навески зерновой муки добавляли 20 мл раствора и встряхивали на роторном шейкере PSU-20 (Biosan, Латвия) в течение 90 мин. Затем экстракт центрифугировали 2 мин при 3000 об/мин на центрифуге ЦЛн-16 (Поликом, Россия). Без какой-либо очистки 500 мкл полученного экстракта переносили в стеклянные вials и разводили смесью ацетонитрил : вода : уксус-

Таблица 1. Параметры ВЭЖХ-МС/МС метода анализа содержания фузариотоксинов в зерне

Микотоксин	Время удерживания в колонке, мин	Погрешность метода (\pm), %	Диапазон пределов количественного обнаружения, мкг/кг	Предел детекции*, мкг/кг
Т-2 токсин	10.3	5.0	5.23–193.6	3.3
НТ-2 токсин	9.8	8.2	3.48–129.2	2.7
Т-2 триол	10.0	7.4	7.26–268.8	3.2
Неосоланиол	7.55	5.8	2.36–88.0	2.0
Диацетоксисцирпенол	9.00	7.4	2.9–107.8	1.9
Ниваленол	5.4	6.0	8.7–323.4	7.5
Фузаренон Х	6.2	6.4	9.7–325.0	8.6
Дезоксиниваленол	5.8	5.0	5.8–215.2	4.9
3-ацетил-дезоксиниваленол	6.7	6.4	11.8–437.4	10.0
15-ацетил-дезоксиниваленол	8.26	5.6	34.9–1293.0	29.8
Дезоксиниваленол-3-глюкозид	5.83	9.8	4.84–162.0	4.0
Зеараленон	9.4	5.0	1.1–40.8	0.8
α -зеараленол	9.2	6.9	2.43–90.0	1.9
β -зеараленол	8.7	6.9	2.43–90.0	1.8
Боверицин	15.8	7.7	3.55–131.6	1.9
Монилиформин	3.84	7.7	6.50–240.2	3.1
Фумонизин В1	9.2	5.0	9.76–361.4	8.7
Фумонизин В2	10.5	7.9	5.95–220.2	3.2
Фумонизин В3	9.8	6.8	5.85–216.4	3.2

Примечание. *В “чистом” растворе ацетонитрил : вода : уксусная кислота (49.5 : 49.5 : 1).

ная кислота (20 : 79 : 1) в соотношении 1 : 1. Затем виалы запечатывали и встряхивали в течение 30 с на Vortex Genius3 (ИКА, Германия). Отбор 5 мкл экстракта для анализа проводили автоматическим автосамплером Agilent (Agilent Technologies, Германия).

Детектирование и количественное определение микотоксинов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на комплексе оборудования, состоящего из масс-спектрометра AB SCIEX Triple Quad™ 5500 (Applied Biosystems, США), оснащенного источником ионизации с электрораспылением TurboV (ESI) и системой ВЭЖХ 1290 Agilent Infinity (Agilent Technologies, Германия). Хроматографическое разделение проводили при 25°C на колонке Gemini® C18, 150 × 4.6 мм (Phenomenex, США). Валидацию методики для изучения восстановления аналитов при анализе различных матриц (пшеница, ячмень, овес) и количественный анализ содержания микотоксинов проводили согласно общепринятым руководствам (Sulyok et al., 2006; Malachová et al., 2014). В экстрактах анализировали содержание 19 микотоксинов, образуемых грибами рода *Fusarium*: Т-2 и НТ-2 токсинов, Т-2 триола, НЕО, ДАС, ДОН, 3-АцДОН, 15-АцДОН, ДОН-3-гл, НИВ, фузаренон-Х, ЗЕН, α - и β -зеараленолов, МОН,

БОВ и фумонизинов В1, В2 и В3 (табл. 1). Степень извлечения микотоксинов составляла от 79 до 105%.

Статистическую обработку результатов (расчет средних значений и доверительных интервалов при уровне значимости $p < 0.05$) проводили в программе Microsoft Excel 2010. Проверка статистической значимости разницы между средними анализированных показателей с помощью дисперсионного анализа (различия считали достоверными при $p < 0.05$), корреляционный анализ связей между количественными признаками [расчет коэффициента Пирсона (r)] и многофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) были выполнены в программе Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зараженность зерна грибами рода *Fusarium*, их видовой состав. Микологический анализ зерна выявил наличие грибов рода *Fusarium* в 80% образцов урожая 2018 г. и 71% образцов урожая 2019 г. из Уральского ФО. В образцах зерна из Сибирского ФО эти грибы встречались чаще – в 87% образцов в 2018 г. и 91% образцов в 2019 г.

Средняя зараженность фузариевыми грибами была невысокой и составила для образцов зерна из Уральского ФО 8.3% в 2018 г. и 3.6% в 2019 г.,

а для образцов зерна из Сибирского ФО — 6.8% в 2018 г. и 5.1% в 2019 г. Максимальная зараженность зерна в 2018 г. достигала 47% (ячмень, Свердловская обл.), а в 2019 г. — 19% (пшеница, Кемеровская обл.).

Всего из проанализированных образцов зерна за два года исследований выделено 899 изолятов грибов рода *Fusarium*. Их идентификация по сумме морфолого-культуральных признаков позволила установить присутствие в зерне не менее 16 видов фузариевых грибов: *F. acuminatum* Ellis et Everh., *F. anguoides* Sherb., *F. avenaceum*, *F. chlamydosporum* Wollenw. et Reinking, *F. equiseti* (Corda) Sacc., *F. globosum* Rheeder, Marasas et P.E. Nelson, *F. graminearum* Schwabe, *F. heterosporum* Nees et T. Nees, *F. incarnatum* (Desm.) Sacc., *F. langsethiae* Torp et Nirenberg, *F. oxysporum* Schldtl., *F. poae*, *F. sibiricum* Gagkaeva, Burkin, Kononenko, Gavrilova, O'Donnell, T. Aoki et Yli-Mattila, *F. sporotrichioides*, *F. torulosum* (Berk. et M.A. Curtis) Nirenberg и *F. tricinctum* (Corda) Sacc. Видовую принадлежность 32 изолятов по морфологическим характеристикам определить не удалось.

Число видов фузариевых грибов, выделенных из образцов зерна, полученных из двух анализируемых ФО в 2018 г., оказалось одинаковым — 10. В 2019 г. разнообразие видов в образцах зерна из Сибирского ФО было существенно выше (12 видов), чем из Уральского ФО (7 видов). Шесть видов грибов *Fusarium* — *F. anguoides*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. incarnatum*, *F. sporotrichioides* и *F. tricinctum* — ежегодно встречались в зерне из обоих регионов. Высокоагрессивный патоген *F. graminearum* встречался существенно реже. Особый интерес представляют массовое выявление *F. langsethiae* в составе микобиоты образцов зерна из Уральского ФО (впервые в 2018 г. этот гриб найден в зерне пшеницы и овса из Свердловской обл., а в 2019 г. — в зерне овса из Курганской обл.), а также единичное обнаружение в образцах из Сибирского ФО *F. globosum* (впервые в 2018 г. в зерне пшеницы из Алтайского края и в 2019 г. в зерне ячменя из Омской обл.) и *F. sibiricum* (впервые в 2019 г. в зерне овса из Кемеровской обл.).

Разнообразие видов грибов *Fusarium* в зерне пшеницы и ячменя было выше, чем в овсе (табл. 2). В микобиоте зерна пшеницы и ячменя преобладали виды *F. anguoides* (доля вида в составе *Fusarium* spp. составила 18–41%), *F. avenaceum* (17–37%) и *F. sporotrichioides* (16–55%). Доминирующими видами в микобиоте зерна овса, как правило, являлись *F. poae* (доля вида в составе *Fusarium* spp. составила 35–70%) и *F. sporotrichioides* (17–41%). Однако в 2019 г. в образцах из Уральского ФО также часто встречался *F. langsethiae* (24–27%).

Содержание фузариотоксинов в зерне. Доля образцов, не содержащих в зерне ни одного из 19 изученных фузариотоксинов, составляла 23% в 2018 г. и 29% в 2019 г. Большинство образцов урожая

2018 г. (63%) содержали в зерне от одного до трех микотоксинов, в зерне остальных 14% образцов выявлена совместная встречаемость четырех — шести микотоксинов. В 2019 г. ситуация была сходной: 58% образцов зерна были загрязнены одним — тремя микотоксинами, 9% — четырьмя. Пять микотоксинов выявлены в одном образце зерна пшеницы (Кемеровская обл.) и 7 микотоксинов в образце зерна овса (Тюменская обл.).

В анализированных образцах зерна не выявлены микотоксины: 3-АцДОН, фумонизины В1, В2 и В3, α - и β -зеараленолы, фузаренон-Х. Микотоксины Т-2 триол, НЕО, ДАС, 15-АцДОН, ДОН-3-гл и ЗЕН, как правило, встречались в зерне в единичных или редких случаях (не более 10% образцов выборки). Частота обнаружения в зерне Т-2 и НТ-2 токсинов, ДОН, НИВ, МОН и БОВ варьировала, в зависимости от географического происхождения образцов, погодных условий вегетационного периода и вида зерновой культуры (табл. 3, 4).

Одновременное присутствие в зерне НТ-2 токсина и БОВ установлено чаще остальных комбинаций микотоксинов (в 51% образцов зерна, загрязненных двумя и более микотоксинами). Микотоксин ДОН-3-гл встречался только в тех образцах, где был выявлен исходный метаболит ДОН, а в ситуации с НТ-2 токсином — производным Т-2 токсина, — такой четкой связи не наблюдалось. Только в 19% анализированных образцов зерна обнаружено совместное присутствие этих двух микотоксинов, в то же время, еще в 40% образцов выявлен только НТ-2 токсин, а еще в двух образцах только Т-2 токсин.

По спектру обнаруженных в зерне фузариотоксинов образцы зерна из Уральского и Сибирского ФО были сходными. Из трех исследованных зерновых культур наибольшее разнообразие фузариотоксинов выявлено в пшенице (максимально 12 микотоксинов), по сравнению с овсом (9) и ячменем (8).

Выявление связей между зараженностью зерна грибами рода *Fusarium* и содержанием микотоксинов. Специфический характер токсинообразования для разных видов грибов рода *Fusarium* еще раз продемонстрирован с помощью результатов корреляционного анализа. Ожидаемо высокая достоверная положительная связь между содержанием ДОН и его производным (ДОН-3-гл) и зараженностью зерна выявлена только в случае *F. graminearum* ($r = 0.60$ и $r = 0.31$, $p < 0.001$). Основным продуцентом МОН в зерне являлся *F. avenaceum* ($r = 0.31$, $p < 0.001$), в то время как связи между зараженностью зерна близкородственными ему видами *F. anguoides* и *F. tricinctum* и содержанием МОН не выявлено, несмотря на их способность продуцировать этот микотоксин. Положительная связь между зараженностью зерна *F. poae* и содержанием его основного микотоксина НИВ в зерне также была достоверной — $r = 0.32$, $p < 0.001$.

Таблица 2. Зараженность грибами рода *Fusarium* зерна пшеницы, ячменя и овса из Уральского и Сибирского федеральных округов

Федеральный округ	Год урожая	Пшеница		Ячмень		Овес	
		Средняя зараженность зерна (диапазон), %	Число выявленных видов* (доли доминирующих)	Средняя зараженность зерна (диапазон), %	Число выявленных видов (доли доминирующих)	Средняя зараженность зерна (диапазон), %	Число выявленных видов (доли доминирующих)
Уральский	2018	7.1 (0–31)	10 (<i>Fusarium sporotrichioides</i> – 27%, <i>F. poae</i> – 26%, <i>F. anguiooides</i> – 19%)	10.7 (0–47)	8 (<i>F. sporotrichioides</i> – 55%, <i>F. avenaceum</i> – 17%)	10.4 (2–27)	6 (<i>F. poae</i> – 56%, <i>F. sporotrichioides</i> – 21%)
	2019	2.9 (0–13)	6 (<i>F. anguiooides</i> – 41%, <i>F. sporotrichioides</i> – 24%, <i>F. poae</i> – 21%)	2.4 (0–8)	4 (<i>F. langsethiae</i> – 24%, <i>F. poae</i> – 18%, <i>F. sporotrichioides</i> – 18%)	7.5 (3–11)	3 (<i>F. poae</i> – 70%, <i>F. langsethiae</i> – 27%)
Сибирский	2018	7.6 (0–23)	10 (<i>F. avenaceum</i> – 32%, <i>F. sporotrichioides</i> – 26%, <i>F. anguiooides</i> – 18%)	8.1 (0–30)	8 (<i>F. sporotrichioides</i> – 49%, <i>F. avenaceum</i> – 20%)	3.4 (0–11)	6 (<i>F. sporotrichioides</i> – 41%, <i>F. poae</i> – 35%)
	2019	4.6 (0–19)	8 (<i>F. avenaceum</i> – 37%, <i>F. sporotrichioides</i> – 16%, <i>F. poae</i> – 15%)	5.2 (0–10)	10 (<i>F. poae</i> – 28%, <i>F. avenaceum</i> – 26%, <i>F. sporotrichioides</i> – 13%)	9.0 (7; 11)	5 (<i>F. poae</i> – 67%, <i>F. sporotrichioides</i> – 17%)

Примечание. *Без учета неидентифицированных изолятов *Fusarium* spp.

Таблица 3. Встречаемость выявленных фузариотоксинов в зерне из Уральского и Сибирского федеральных округов

Федеральный округ	Год урожая (число образцов)	Частота встречаемости микотоксинов грибов рода <i>Fusarium</i> в зерне		
		единично (количество, мкг/кг)	редко	массово
Уральский	2018 (40)	ДАС (5), 15-АцДОН (21), ЗЕН (2)	НЕО (8%; 3–15); ДОН-3-гл (5%; 21 и 34)	НТ-2 (57.5%; 6–481), БОВ (40%; 4–49), Т-2 (27.5%; 6–2652), ДОН (20%; 7–39), НИВ (20%; 10–194), Т-2 триол (12.5%; 11–60), МОН (10%; 7–50)
	2019 (21)	Т-2 триол (8), ДАС (3), НЕО (13), ЗЕН (12)	ДОН (9.5%; 137 и 235); ДОН-3-гл (7%; 11 и 31)	НТ-2 (38%; 9–131), НИВ (33.3%; 9–72), БОВ (28.6%; 4–15), МОН (19%; 7–39), Т-2 (19%; 5–108)
Сибирский	2018 (42)	Т-2 триол (15)	ДОН-3-гл (7%; 8–27); МОН (5%; 30 и 32)	НТ-2 (51%; 5–146), БОВ (44%; 4–21), ДОН (34%; 10–375), Т-2 (19.5%; 5–29), НИВ (12.2%; 15–176)
	2019 (34)	–	ДОН (6%; 14 и 46); ДОН-3-гл (6%; 15 и 25)	НТ-2 (41%; 7–32), МОН (29.4%; 5–50), Т-2 (14.7%; 4–15), НИВ (14.7%; 9–15), БОВ (14.7%; 4–37)

Таблица 4. Контаминация фузариотоксинами зерна пшеницы, ячменя и овса из Уральского и Сибирского федеральных округов

Федеральный округ	Зерновая культура	Год урожая (число образцов)	Процент загрязненных образцов; максимальное выявленное количество микотоксина, мкг/кг					
			Т-2 токсин	НТ-2 токсин	ДОН	НИВ	МОН	БОВ
Уральский	пшеница	2018 (20)	10%; 19	45%; 148	25%; 309	15%; 120	5%; 23	30%; 49
		2019 (10)	10%; 6	40%; 43	20%; 235	20%; 17	30%; 39	0
	ячмень	2018 (15)	40%; 2652	60%; 481	20%; 44	27%; 194	13%; 50	47%; 31
		2019 (7)	14%; 12	29%; 34	0	29%; 72	14%; 16	29%; 10
	овес	2018 (5)	60%; 63	100%; 109	0	40%; 111	20%; 17	60%; 36
		2019 (4)	50%; 108	50%; 131	0	75%; 14	0	100%; 15
Сибирский	пшеница	2018 (21)	0	38%; 40	19%; 375	5%; 20	5%; 32	38%; 11
		2019 (23)	0	26%; 24	9%; 46	13%; 13	30%; 33	4%; 4
	ячмень	2018 (16)	44%; 29	81%; 146	63%; 82	13%; 40	0	50%; 21
		2019 (9)	33%; 15	78%; 32	0	11%; 15	33%; 50	22%; 5
	овес	2018 (5)	20%; 11	0	0	40%; 176	20%; 30	40%; 17
		2019 (2)	100%; 14	50%; 9	0	50%; 9	0	100%; 37

Поиск связей между содержанием Т-2 токсина и родственных ему метаболитов с зараженностью грибами *F. sporotrichioides* и *F. langsethiae*, которые были массово выявлены в образцах зерна, показал наличие достоверной положительной связи между зараженностью зерна *F. langsethiae* и содержанием НТ-2 токсина ($r = 0.26$, $p = 0.002$) и НЕО ($r = 0.62$, $p < 0.001$), а также зараженностью зерна *F. sporotrichioides* и Т-2 триолом ($r = 0.27$, $p = 0.002$).

Интересно, что содержание редко анализируемого микотоксина БОВ достоверно, но в разной степени коррелировало с зараженностью зерна

разными видами фузариевых грибов – *F. langsethiae* ($r = 0.27$, $p = 0.002$), *F. poae* ($r = 0.73$, $p < 0.001$), *F. sporotrichioides* ($r = 0.25$, $p = 0.003$) и *F. tricinctum* ($r = 0.38$, $p < 0.001$).

Влияние географического происхождения образцов, погодных условий вегетационного периода и вида зерновой культуры на контаминацию зерна грибами и микотоксинами. Результаты многофакторного дисперсионного анализа показали, что географическое происхождение образцов зерна не оказывало существенного влияния ни на его зараженность доминирующими в составе микофиты

видами грибов рода *Fusarium*, ни на содержание выявленных в зерне фузариотоксинов. Два других фактора – погодные условия вегетационного периода и вид зерновой культуры – оказались в разной степени значимыми для выявленных показателей фузариоза зерна.

Установлено, что погодные условия вегетационного периода, сложившиеся в годы сбора образцов, влияли на зараженность зерна видами *F. graminearum* ($p = 0.013$) и *F. sporotrichioides* ($p = 0.003$). Оба года сбора образцов средняя температура в летний период была сходной как в Уральском ФО (17.5 в 2018 г. и 17.5°C в 2019 г.), так и в Сибирском ФО (18.1 и 18.6°C), но при этом количество осадков в этих регионах в 2019 г. было существенно выше – в среднем на 11–17 мм по сравнению с показателями предыдущего года. В 2018 г. *F. graminearum* выявлен в 18% изученных образцов (максимальная зараженность зерна составила 5%) в отличие от единичной находки этого патогена в 2019 г. в зерне пшеницы из Кемеровской обл. Частота встречаемости *F. sporotrichioides* в 2019 г. также была в 7 раз ниже по сравнению с 2018 г.

Кроме того, вид зерновой культуры оказывал существенное влияние на зараженность зерна *F. sporotrichioides* ($p < 0.001$), *F. avenaceum* ($p = 0.0018$) и близкородственными ему *F. anguoides* ($p < 0.001$) и *F. tricinctum* ($p = 0.0015$). Зараженность зерна пшеницы *F. sporotrichioides* превышала этот показатель для овса и ячменя в 2.5 раза. В то же время установлено, что зерно ячменя было в 2 раза выше заражено *F. tricinctum* по сравнению с пшеницей и овсом. Зерно овса характеризовалось наименьшей зараженностью зерна *F. avenaceum* (в два раза) и *F. anguoides* (в 5.8–8.6 раза), по сравнению с зараженностью этими видами зерна двух других культур. Несмотря на то, что средняя зараженность зерна овса *F. poae* превышала этот показатель для пшеницы и ячменя в 5 раз, статистически достоверных различий между культурами не выявлено.

В отношении содержания микотоксинов, продуцируемых фузариевыми грибами, достоверное влияние погодных условий в годы сбора образцов выявлено только для МОН ($p = 0.04$) и БОВ ($p = 0.048$), в отличие от других часто выявляемых в зерне вторичных метаболитов. В 2018 г. МОН выявлен в 7% образцов зерна, что существенно ниже показателя 2019 г. – 25% загрязненных образцов. Ситуация с БОВ была противоположной: в 2019 г. число образцов, где выявлен этот микотоксин составило 20%, что в два раза меньше по сравнению с 2018 г. (41%).

Вид зерновой культуры оказывал существенное влияние на содержание микотоксинов в зерне ($p = 0.0018–0.017$). Зерно пшеницы было значительно реже контаминировано Т-2 токсином (4% образцов за два года), НТ-2 токсином (35%), НИВ (11%) и БОВ (20%), и их содержание было

ниже по сравнению с другими культурами. В то же время в зерне 18% образцов пшеницы, как и 28% образцов ячменя, выявлен ДОН, но его среднее содержание в пшенице составило 124 ± 34 мкг/кг, что в 5 раз выше его среднего содержания в ячмене. Другой трихотеценовый микотоксин группы Б – НИВ в 3–5 раз чаще встречался в образцах овса (50%) по сравнению с ячменем и пшеницей; его средние количества в зерне разных культур составляли от 30 ± 13 до 65 ± 22 мкг/кг. Наиболее типичной контаминацией зерна образцов ячменя и овса являлось их загрязнение Т-2 токсином (среднее содержание в 50% образцах овса – 28 ± 13 мкг/кг, в 36% образцов ячменя – 14 ± 2 мкг/кг) и НТ-токсином (среднее содержание в 50% образцах овса – 40 ± 17 мкг/кг, в 66% образцов ячменя – 46 ± 16 мкг/кг), а также БОВ (среднее содержание в 69% образцов овса – 18 ± 3 мкг/кг, в 40% образцов ячменя – 8 ± 2 мкг/кг). Встречаемость и содержание МОН в зерне трех культур были сходными. Этот микотоксин был обнаружен в 15% образцов пшеницы (среднее количество из выявленных составило 19 ± 4 мкг/кг), и в 13% образцов как ячменя (25 ± 8 мкг/кг), так и овса (23 ± 6 мкг/кг).

ОБСУЖДЕНИЕ

Микологический анализ зерна выявил наличие грибов рода *Fusarium* в 84% образцов зерна, собранных в Уральском и Сибирском ФО в 2018–2019 гг. В составе микобиоты зерна идентифицировано не менее 16 видов грибов рода *Fusarium*, из которых доминирующими видами являлись три: *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum* и *F. poae*. В ранее опубликованных данных мониторинга заражения фузариевыми грибами зерновых культур в азиатской части России (Ivashchenko et al., 2000; Ivashchenko, Shipilova, 2004; Piryazeva et al., 2016; Litovka, 2017; Toropova et al., 2019) также отмечали преобладание именно этих видов. Кроме них, в зерне пшеницы часто встречался *F. anguoides* морфологически сходный с *F. avenaceum* (Gerlach, Nirenberg, 1982; Yli-Mattila et al., 2018), а в зерне ячменя и овса – *F. langsethiae*, появление которого на азиатской территории России отмечено недавно (Yli-Mattila et al., 2015; Gavrilova et al., 2020).

Представители видов *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae* и *F. sibiricum* образуют трихотеценовые микотоксины группы А, из которых первостепенное значение имеют Т-2 и НТ-2 токсины (Thrane et al., 2004; Kokkonen et al., 2010; Yli-Mattila et al., 2011; Lattanzio et al., 2013). Т-2 токсин быстро метаболизируется в НТ-2 токсин и токсичность этих двух метаболитов считается сходной. Эти микотоксины являются иммуносупрессорами, способны оказывать токсическое действие на репродуктивную и нервную системы, а в высоких дозах ингибировать синтез РНК и ДНК, вызывать апоптоз клеток (Schuhmacher-Wolz et al., 2010). В нашем

исследовании также выявлена связь между содержанием НТ-2 токсина в зерне с его зараженностью *F. langsethiae*, а не с широко распространенным *F. sporotrichioides*. В настоящее время неоднократно показано, что содержание Т-2 и НТ-2 токсинов, особенно в зерне овса, в большей степени связано с присутствием в зерне *F. langsethiae*, в то время как *F. sporotrichioides* является минорным продуцентом этих микотоксинов (Fredlund et al., 2010; Edwards et al., 2012; Hofgaard et al., 2016; Schöneberg et al., 2018). Образец зерна овса из Тюменской обл. 2019 г., где был выявлен максимальный процент зараженного зерна *F. langsethiae* (7%) и не обнаружен *F. sporotrichioides*, характеризовался не только наибольшим разнообразием трихотененовых микотоксинов группы А (Т-2 и НТ-2 токсины, НЕО, Т-2 триол, ДАС), но и максимальными количествами Т-2 токсина (108 мкг/кг) и НТ-2 токсина (131 мкг/кг). Образцы с меньшей зараженностью зерна *F. langsethiae* (1–3%), даже при сопутствующей инфекции *F. sporotrichioides* (1–7%), содержали в зерне меньшие количества Т-2 и НТ-2 токсинов – соответственно 0–63 мкг/кг и 0–109 мкг/кг. Таким образом, *F. langsethiae* за прошедшее десятилетие занял устойчивую нишу в микобиоте зерновых культур, возделываемых в Уральском ФО, и оказывает негативное влияние на качество зерна овса и ячменя, возделываемых в этом регионе.

Из-за высокой схожести морфолого-культуральных признаков *F. anguoides* и *F. avenaceum*, зачастую, их численность не учитывают отдельно, а относят к *F. avenaceum*, который характеризуется высокой генетической изменчивостью (Kulik et al., 2011; Stakheev et al., 2016). В настоящее время *F. avenaceum*, *F. tricinctum* и еще ряд близкородственных видов объединены в комплекс видов *F. tricinctum* (FTSC), включающий в том числе несколько не охарактеризованных филогенетических линий (Senatore et al., 2021; Laraba et al., 2022). Ранее проведенная нами сравнительная характеристика свойств штаммов, морфологически идентифицированных как *F. avenaceum* и *F. anguoides*, выявила их достоверные различия не только по молекулярно-генетическим признакам, но также по патогенности к проросткам пшеницы (Yli-Mattila et al., 2018). В дальнейшем более подробный филогенетический анализ выделенных штаммов поможет уточнить разнообразие видов грибов FTSC, встречающихся на зерновых культурах в России.

Известно, что *F. avenaceum*, как и близкородственные ему виды *F. tricinctum*, *F. torulosum* и др., образуют преимущественно МОН, энниатины и БОВ (Jestoi et al., 2008; Vogelgsang et al., 2008; Senatore et al., 2021; Laraba et al., 2022). В нашем исследовании установлено, что основным продуцентом МОН в зерне являлся *F. avenaceum*, а содержание БОВ было достоверно связано с зараженностью зерна *F. tricinctum*. Эти микотоксины относят к

группе остроактуальных вторичных метаболитов грибов рода *Fusarium* (Fraeyman et al., 2017; Fremy et al., 2019), но для них нет широкодоступных методов анализа и регламентов регулирования их содержания в зерне. Как следствие, информация о встречаемости этих микотоксинов в зерне достаточно ограничена. Выявленные максимальные количества МОН и БОВ согласуются с обобщенными данными, представленными в работе Fraeyman et al. (2017), где отмечали содержание этих микотоксинов не выше 100 мкг/кг как наиболее типичное для зерна пшеницы, ячменя и овса.

Обильно присутствующий в зерне изученных образцов *F. poae* является основным продуцентом микотоксинов ДАС, НИВ, а также БОВ (Thrane et al., 2004; Jestoi et al., 2008; Vogelgsang et al., 2008; Somma et al., 2010), которые также относятся к группе остроактуальных, но редко анализируемых микотоксинов. Этот вид особенно часто выделяют из зерна овса (Gagkaeva et al., 2014; Gavrilova et al., 2020; Schöneberg et al., 2018; Islam et al., 2021), что проявляется в характерном спектре микотоксинов, часто обнаруживаемых в зерне этой культуры. Не случайно в нашем исследовании доля *F. poae* среди фузариевых грибов, выделенных из овса (58%), была в 4 и 5 раз выше, чем доля изолятов этого вида, выделенных из зерна пшеницы и ячменя, соответственно. Как следствие, именно зерно овса оказалось наиболее загрязненным НИВ и БОВ. Наибольшие количества НИВ выявлены в зерне овса из Алтайского края (176 мкг/кг) и зерне ячменя из Челябинской обл. (194 мкг/кг).

Один из наиболее агрессивных патогенов среди фузариевых грибов – *F. graminearum* выявлен только в 12% изученных образцов (максимальная зараженность зерна составила 5%), полученных из Кемеровской, Курганской, Свердловской, Челябинской областей и Алтайского края. Это подтверждает ранее полученные данные о массовом присутствии *F. graminearum* (Gagkaeva et al., 2019a; Gavrilova et al., 2020) и загрязненности зерна продуцируемыми этим грибом микотоксинами – ДОН, его производными, а также ЗЕН (Gagkaeva et al., 2019a; Kononenko et al., 2020; Kiseleva et al., 2021) на территории Уральского и Сибирского ФО. Максимальное количество ДОН составило 375 мкг/кг, что является половиной от нижнего предела допустимого содержания для зерна пшеницы. Другой известный продуцент ДОН и ЗЕН – *F. culmorum* (Wm.G. Sm.) Sacc. – не обнаружен ни в одном из образцов за два года исследований, несмотря на его неоднократное выявление в составе микобиоты зерна пшеницы и ячменя в предыдущие годы (Litovka, 2017; Toropova et al., 2019). Долгое время полагали, что *F. graminearum* доминирует в регионах с теплым и влажным климатом, а *F. culmorum* – с прохладным и влажным (Xu et al., 2008). Вероятно, повышение средних значений температуры и количества осадков в летние периоды 2018–

2019 г. способствовали активному расселению *F. graminearum* и вытеснению *F. culmorum* на территории Уральского и Сибирского ФО. Многими исследователями высказывается предположение, что изменение климата в сторону потепления является лишь одной из причин повсеместного замещения *F. culmorum* на *F. graminearum* в составе микобиоты зерна, также этому способствуют изменение методов обработки почвы, расширение посевов кукурузы и использование широкого ассортимента фунгицидов (Waalwijk et al., 2003; West et al., 2012; Chrprová et al., 2016; Goral et al., 2021). Кроме того, вероятно, за счет более высокой скорости роста, чем у *F. culmorum*, повышается конкурентоспособность *F. graminearum* при колонизации зерна пшеницы, несмотря на одинаковую оптимальную температуру 25°C для роста грибов обоих видов и продуцирования ими ДОН (Hore et al., 2005; Brennan et al., 2005).

Еще одним интересным фактом стало обнаружение в зерне *F. globosum*, который впервые на территории России был найден в 2017 г. в зерне ячменя из Западной Сибири (Gagkaeva et al., 2019b). Его дальнейшее выявление в разных географических точках позволяет говорить о присутствии *F. globosum* в микобиоте зерновых культур на всей территории России. До настоящего времени на территории Уральского и Сибирского ФО штаммы морфологически сходные с представителями комплекса видов *F. fujikuroi* (FFSC), к которому относится *F. globosum*, отмечались редко и с незначительной частотой (Ivashchenko, Shipilova, 2004; Litovka, 2017; Toropova et al., 2019). Способность штаммов *F. globosum*, наряду с другими видами FFSC, продуцировать высокие количества ФУМ – группу микотоксинов, обладающих канцерогенными свойствами (Sydenham et al., 1997), повышает риски загрязнения зерна этими микотоксинами.

Благодаря способности грибов одновременно продуцировать различные вторичные метаболиты, не только совместное присутствие разных видов в зерне, но даже наличие одного вида, может представлять угрозу загрязнения его широким спектром микотоксинов. Одновременное присутствие нескольких микотоксинов в зерне представляет собой скорее правило, чем исключение. В нашем исследовании 46% проанализированных образцов были загрязнены более чем одним микотоксином. Из выявленных комбинаций, состоящих из 2–7 микотоксинов одновременно, чаще в зерне встречалось сочетание НТ-2 токсина с БОВ, что логично связано с доминированием грибов, продуцирующих эти вторичные метаболиты.

Продуцирование вторичных метаболитов позволяет грибам адаптироваться в окружающей среде при взаимоотношении с растениями и другими конкурентами за колонизируемый субстрат. Однако в некоторых случаях высокая зараженность грибами не приводит к значительному количеству

микотоксинов, выявляемых в зерне. Например, в нашем исследовании зараженность *F. sporotrichioides* зерна ячменя из Челябинской обл. с максимальным содержанием Т-2 и НТ-2 токсинов – суммарно 3133 мкг/кг составила всего 2%. Общая зараженность фузариевыми грибами этого образца была 7%, и кроме *F. sporotrichioides* других продуцентов Т-2 и НТ-2 токсинов в зерне не выявили. В то же время, в образце зерна с максимальной зараженностью *F. sporotrichioides* 35% общее количество всех трихотеценовых микотоксинов группы А составило всего 13 мкг/кг. Такие несоответствия могут быть связаны с генетическими особенностями грибов и растений, условиями окружающей среды, а также взаимовлиянием друг на друга организмов, совместно обитающих в зерне.

Показано, что на формирование состава микобиоты и конечное содержание микотоксинов в зерне достоверное влияние оказывают погодные условия вегетационного периода, из которых температура и влажность во время цветения зерновых культур являются ключевыми (Xu et al. 2008; Van Der Fels-Klerx et al., 2012; Hietaniemi et al., 2016; Hjelkrem et al., 2018). Например, *F. poae* или *F. avenaceum* получают преимущества в засушливые годы, когда из-за малого количества осадков во время цветения злаков условия для *F. graminearum* оказываются неблагоприятными (Xu et al. 2008; Chrprová et al., 2016; Beccari et al., 2018; Goral et al., 2021; Islam et al., 2021). Кроме того, недавно показано, что при первичном заражении пшеницы *F. poae*, повышается экспрессия генов, кодирующих ферменты, отвечающие за раннюю индукцию защитных функций растений, связанных с салициловой и жасмоновой кислотами, что в дальнейшем препятствует заражению пшеницы *F. graminearum* (Tan et al., 2020). Наиболее благоприятный период для заражения овса *F. langsethiae*, вероятно, наступает раньше, а не во время цветения, как для большинства других возбудителей фузариоза зерна. Влажные и умеренно теплые условия перед цветением приводили к повышенному накоплению Т-2 и НТ-2 токсинов в зерне, тогда как при низких или более высоких температурах воздуха в этот же период наблюдали снижение их содержания (Hjelkrem et al., 2018). В лабораторных условиях также было отмечено, что количества Т-2 и НТ-2 токсинов, продуцируемых штаммами *F. langsethiae* на зерновых субстратах, было выше при 25°C, чем при 30°C (Verheecke-Vaessen et al., 2019), а оптимальной для токсинообразования являлась температура 15°C (Kokkonen et al., 2010; Nazari et al., 2014).

Наряду с погодными условиями и присутствием микроорганизмов-конкурентов, вид зерновой культуры также может обуславливать разнообразие грибов рода *Fusarium* и микотоксинов, встречающихся в зерне. В нашем исследовании образцы пшеницы характеризовались большим числом

видов фузариевых грибов и разнообразием микотоксинов, чем образцы зерна ячменя и овса. Соотношения доминирующих видов, выделенных из зерна, также существенно различались: *F. avenaceum*, *F. anguoides* и *F. sporotrichioides* преобладали в микобиоте зерна пшеницы и ячменя, а *F. poae*, *F. sporotrichioides* и *F. langsethiae* – овса. Проведенный нами анализ содержания фузариотоксинов в образцах выявил, что НТ-2 токсин и НИВ чаще встречались в зерне овса и ячменя, а ДОН – в зерне пшеницы. Влияние вида зернового субстрата на токсинопродуцирующую способность разных видов грибов рода *Fusarium* в лабораторных условиях показано неоднократно (Vogelgsang et al., 2008; Shi et al., 2017; Mateo et al., 2018). Наиболее высокие количества Т-2 и НТ-2 токсинов штаммы *F. langsethiae* продуцировали при их выращивании на зерне овса при 25°C, по сравнению с зерном ячменя, пшеницы, кукурузы, сорго, ржи и риса (Mateo et al., 2018). Ранее нами также показано, что при культивировании на среде из муки овса и кукурузы при 24°C штаммы *F. sporotrichioides* и *F. langsethiae* продуцировали более высокие количества Т-2 токсина, чем на среде из муки пшеницы (Gagkaeva, Gavrilova, 2013). Таким образом, овес следует рассматривать как культуру, зерно которой наиболее подвержено загрязнению высокотоксичными трихотеценовыми микотоксинами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие проблемы фузариоза зерновых культур ведет к необходимости обязательного проведения мониторинга зараженности грибами и соответствующей токсикологической оценке получаемого зерна. В составе микобиоты образцов зерна из Уральского и Сибирского ФО, полученных в 2018–2019 гг., выявлено, как минимум, 16 видов рода *Fusarium*, среди которых доминировали *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae* и *F. anguoides*. Важно отметить массовую встречаемость *F. graminearum*, продуцирующего ДОН, в зерне из обоих ФО, а также новые точки обнаружения редких для азиатской территории России *F. langsethiae* и *F. sibiricum*, активно продуцирующих Т-2 и НТ-2 токсины, а также *F. globosum* – продуцента фумонизинов. Результаты ВЭЖХ-МС/МС показали, что из 19 исследованных фузариотоксинов чаще остальных в образцах зерна встречались Т-2 и НТ-2 токсины, ДОН, НИВ, МОН и БОВ, но их содержание значительно варьировало, в зависимости от погодных условий вегетационного периода и вида зерновой культуры. Разнообразие видов грибов рода *Fusarium* и микотоксинов, встречающихся в образцах зерна пшеницы было выше, чем ячменя и овса. Регулярно проводимый анализ микобиоты зерновых культур позволяет уточнять границы ареалов грибов, выявлять факторы, влияющие на их распространение в новых условиях, и обобщать

информацию о происходящих изменениях в региональном и временном аспектах.

Авторы благодарят сотрудников компании ООО “Сингента” и АО “Байер” за предоставленные образцы зерна. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-30005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aoki T., Nirenberg H. *Fusarium globosum* from subtropical Japan and the effect of different light conditions on its conidiogenesis. *Mycoscience*. 1999. V. 40. P. 1–9. <https://doi.org/10.1007/BF02465667>
- Beccari G., Colasante V., Tini F. et al. Causal agents of Fusarium head blight of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in central Italy and their in vitro biosynthesis of secondary metabolites. *Food Microbiol.* 2018. V. 70. P. 17–27. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.016>
- Berthiller F., Crews C., Dall'Asta C. et al. Masked mycotoxins: a review. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013. V. 57 (1). P. 165–186. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100764>
- Brennan J.M., Egan D., Cooke B.M. et al. Effect of temperature on head blight of wheat caused by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*. *Plant Pathol.* 2005. V. 54. P. 156–160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01157.x>
- Chrpová J., Šíp V., Sumíková T. et al. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in wheat grain collected in the Czech Republic. *World Mycotoxin J.* 2016. V. 9 (2). P. 317–327. <https://doi.org/10.3920/WMJ2015.1917>
- Edwards S.G., Imathiu S.M., Ray R.V. Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats. *Int. J. Food Microbiol.* 2012. V. 156 (2). P. 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.020>
- Foroud N.A., Baines D., Gagkaeva T.Y. et al. Trichothecenes in cereal grains – an update. *Toxins*. 2019. V. 11. 634. <https://doi.org/10.3390/toxins11110634>
- Fraeyman S., Croubels S., Devreese M. et al. Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics. *Toxins*. 2017. V. 9. P. 228. <https://doi.org/10.3390/toxins9070228>
- Fredlund E., Gidlund A., Pettersson H. et al. Real-time PCR detection of *Fusarium* species in Swedish oats and correlation to T-2 and HT-2 toxin content. *World Mycotoxin J.* 2010. V. 3 (1). P. 77–88. <https://doi.org/10.3920/WMJ2009.1179>
- Fremy J.-M., Allassane-Kpembi I., Oswald I.P. et al. A review on combined effects of moniliformin and co-occurring *Fusarium* toxins in farm animals. *World Mycotoxin J.* 2019. V. 12 (3). P. 281–291. <https://doi.org/10.3920/WMJ2018.2405>
- 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*. 2019a. V. 11 (5). 252. <https://doi.org/10.3390/toxins11050252>
- Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P. Production of T-2 toxin and diacetoxyscirpenol by *Fusarium* fungi on different nutrient media. *Agrokhimiya*. 2013. № 8. P. 84–89 (in Russ.).

- Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Levitin M.M. Biodiversity and distribution of the main toxigenic *Fusarium* fungi. *Biosfera*. 2014. V. 6 (1). P. 36–45 (in Russ.).
- Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Orina A.S. First detection of *Fusarium globosum* in small grain cereals on Ural and Siberian territory. *Novosti zashchity rasteniy*. 2019b. № 1. P. 10–18 (in Russ.).
[http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-10-18](http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-10-18)
- Gagkaeva T.Yu., Levitin M.M., Sanin S.S. et al. *Fusarium* head blight of small cereals and causal organisms associated with this disease on the territory of Russia during 2004–2006. *Agro XXI*. 2009. № 4–6. P. 3–5 (in Russ.).
- Gavrilova O.P., Orina A.S., Gogina N.N. et al. The problem of *Fusarium* head blight in the Trans-Urals region: the history and current situation. *Agrarnyy vestnik Urala*. 2020. № 7. P. 29–40 (in Russ.).
<https://doi.org/10.32417/1997-4868-2020-198-7-29-40>
- Gerlach W., Nirenberg H.I. The genus *Fusarium* – a pictorial atlas. Dahlem, Berlin, 1982.
- Góral T., Ochodzki P., Nielsen L.K. et al. Species of the genus *Fusarium* and *Fusarium* toxins in the grain of winter and spring wheat in Poland. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*. 2021. № 296. P. 25–42.
<https://doi.org/10.37317/biul-2021-0011>
- Gorobey I.M., Ashmarina L.F. Seed infections of legume and grain crops with toxinogen fungus in conditions of Western Siberia. *Agrarnyy vestnik Yugo-Vostoka*. 2009. № 3. P. 55–56 (in Russ.).
- Hietaniemi V., Rämö S., Yli-Mattila T. et al. Updated survey of *Fusarium* species and toxins in Finnish cereal grains. *Food Addit. Contam. Part A*. 2016. V. 33 (5). P. 831–848.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1162112>
- Hjelkrem A.G.R., Aamot H.U., Brodal G. et al. HT-2 and T-2 toxins in Norwegian oat grains related to weather conditions at different growth stages. *Eur. J. Plant Pathol.* 2018. V. 151. P. 501–514.
<https://doi.org/10.1007/s10658-017-1394-3>
- Hofgaard I.S., Aamot H.U., Torp T. et al. Associations between *Fusarium* species and mycotoxins in oats and spring wheat from farmers' fields in Norway over a six-year period. *World Mycotoxin J.* 2016. V. 9 (3). P. 365–378.
<https://doi.org/10.3920/WMJ2015.2003>
- Hope R., Aldred D., Magan N. Comparison of environmental profiles for growth and deoxynivalenol production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain. *Lett. Appl. Microbiol.* 2005. V. 40 (4). P. 295–300.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01674.x>
- Islam M.N., Tabassum M., Banik M. et al. Naturally occurring *Fusarium* species and mycotoxins in oat grains from Manitoba, Canada. *Toxins*. 2021. V. 13. P. 670.
<https://doi.org/10.3390/toxins13090670>
- Ivashchenko V.G., Shipilova N.P. *Fusarium* fungi on cereal seeds in the main grain regions of Russia (habitats, frequency of occurrence, ratio). *VIZR, St. Petersburg*, 2004 (in Russ.).
- Ivashchenko V.G., Shipilova N.P., Levitin M.M. Species composition of *Fusarium* fungi on cereals in the Asian part of Russia. *Mycology and Phytopathology*. 2000. V. 34 (4). P. 54–68 (in Russ.).
- Jestoi M.N., Paavanen-Huhtala S., Parikka P. et al. In vitro and in vivo mycotoxin production of *Fusarium* species isolated from Finnish grains. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz*. 2008. V. 41 (8). P. 545–558.
<https://doi.org/10.1080/03235400600881547>
- Juroszek P., Racca P., Link S. et al. Overview on the review articles published during the past 30 years relating to the potential climate change effects on plant pathogens and crop disease risks. *Plant Pathol.* 2020. V. 69. P. 179–193.
<https://doi.org/10.1111/ppa.13119>
- Karlovsky P., Suman M., Berthiller F. et al. Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Res.* 2016. V. 32 (4). P. 179–205.
<https://doi.org/10.1007/s12550-016-0257-7>
- Kiseleva M.G., Sedova I.B., Chalyy Z.A. et al. Multi-mycotoxin screening of food grain produced in Russia in 2018. *Selskokhozyaistvennaya biologiya*. 2021. V. 56 (3). P. 559–577.
<https://doi.org/10.15389/agrobiol.2021.3.559eng>
- Kokkonen M., Ojala L., Parikka P. et al. Mycotoxin production of selected *Fusarium* species at different culture conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 2010. V. 143 (1–2). P. 17–25.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.015>
- Kononenko G.P., Burkin A.A. About fusariotoxins contamination of cereals used for fodder. *Selskokhozyaistvennaya Biologiya*. 2009. № 4. P. 81–88.
- Kononenko G.P., Burkin A.A., Zotova E.V. et al. Features of wheat and barley grain contamination with fusariotoxins. *Russian Agricultural Sciences*. 2018. V. 44. (2) P. 137–141.
<https://doi.org/10.3103/S106836741802009X>
- Kononenko G.P., Burkin A.A., Zotova Ye.V. Mycotoxological monitoring. Part 2. Wheat, barley, oat and maize grain. *Veterinary Microbiology*. 2020. № 2. P. 139–145.
<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145>
- Kulik T., Pszczółkowska A., Łojko M. Multilocus phylogenetics show high intraspecific variability within *Fusarium avenaceum*. *Int. J. Mol. Sci.* 2011. V. 12 (9). P. 5626–5640.
<https://doi.org/10.3390/ijms12095626>
- Laraba I., Busman M., Geiser D.M. et al. Phylogenetic diversity and mycotoxin potential of emergent phytopathogens within the *Fusarium tricinctum* species complex. *Phytopathology*. 2022.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-21-0394-R>
- Lattanzio V.M., Ciasca B., Haidukowski M. et al. Mycotoxin profile of *Fusarium langsethiae* isolated from wheat in Italy: production of type-A trichothecenes and relevant glucosyl derivatives. *J. Mass Spectrom.* 2013. V. 48 (12). P. 291–298.
<https://doi.org/10.1002/jms.3289>
- Levitin M.M. Microorganisms and global climate change. *Selskokhozyaistvennaya biologiya*. 2015. V. 50 (5). P. 641–647.
<https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.5.641eng>
- Litovka Yu.A. Specific structure and representation of fungi of the sort *Fusarium* on the grain crops (wheat and barley) grown up in the conditions of Central Siberia. *Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2017. № 6. P. 140–149 (in Russ.).
- Malachová A., Sulyok M., Beltrán E. et al. Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices. *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1362. P. 145–156.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.08.037>
- Mateo E.M., Gómez J.V., Romera D. et al. Comparative Study of different cereals as substrates for T-2 and HT-2 pro-

- duction by *Fusarium langsethiae*. Int. J. Food Eng. 2018. V. 4 (1). P. 40–45.
<https://doi.org/10.18178/ijfe.4.1.40-45>
- McCormick S.P., Stanley A.M., Stover N.A. et al. Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. Toxins. 2011. V. 3 (7). P. 802–814.
<https://doi.org/10.3390/toxins3070802>
- Nazari L., Pattori E., Terzi V. et al. Influence of temperature on infection, growth, and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides* in durum wheat. Food Microbiol. 2014. V. 39. P. 19–26.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.009>
- O'Donnell K., Ward T.J., Robert V.A.R.G. et al. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. Phytoparasitica. 2015. V. 43. P. 583–595.
<https://doi.org/10.1007/s12600-015-0484-z>
- Perrone G., Ferrara M., Medina A. et al. Toxigenic fungi and mycotoxins in a climate change scenario: ecology, genetics, distribution, prediction and prevention of the risk. Microorganisms. 2020. V. 8 (10). 1496.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8101496>
- Piryazeva E.A., Kononenko G.P., Burkin A.A. Affection of coarse fodders by toxigenic *Fusarium* fungi. Selskokhozyaistvennaya biologiya. 2016. V. 51 (6). P. 937–945.
<https://doi.org/10.15389/agrobiology.2016.6.937eng>
- Shi W., Tan Y., Wang S. et al. Mycotoxigenic potentials of *Fusarium* species in various culture matrices revealed by mycotoxin profiling. Toxins. 2017. V. 9 (1). 6.
<https://doi.org/10.3390/toxins9010006>
- Schöneberg T., Jenny E., Wettstein F.E. et al. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Swiss oats – impact of cropping factors. Eur. J. Agronomy. 2018. V. 92. P. 123–132.
<https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.09.004>
- Schuhmacher-Wolz U., Heine K., Schneider K. Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins. EFSA Supporting Publications. 2010. V. 7 (7). EN-65.
<https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2010.EN-65>
- Senatore M.T., Ward T.J., Cappelletti E. et al. Species diversity and mycotoxin production by members of the *Fusarium tricinctum* species complex associated with *Fusarium* head blight of wheat and barley in Italy. Int. J. Food Microbiol. 2021. V. 358. 109298.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109298>
- Somma S., Alvarez C., Ricci V. et al. Trichothecene and beauvericin mycotoxin production and genetic variability in *Fusarium poae* isolated from wheat kernels from northern Italy. Food Addit. Contam. Part A. 2010. V. 27 (5). P. 729–737.
<https://doi.org/10.1080/19440040903571788>
- 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. Int. J. Food Microbiol. 2016. V. 225. P. 27–37.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.012>
- Sulyok M., Berthiller F., Krška R. et al. Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of 39 mycotoxins in wheat and maize. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2006. V. 20. P. 2649–2659.
<https://doi.org/10.1002/rcm.2640>
- Sydenham E.W., Shephard G.S., Stockenstrom S. et al. Production of fumonisin analogues and related compounds by *Fusarium globosum*, a newly described species from corn. J. Agric. Food Chem. 1997. V. 45. P. 4004–4010.
<https://doi.org/10.1021/jf9607066>
- Tan J., Ameye M., Landschoot S. et al. At the scene of the crime: new insights into the role of weakly pathogenic members of the *Fusarium* head blight disease complex. Mol. Plant Pathol. 2020. V. 21. P. 1559–1572.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12996>
- Thrane U., Adler A., Clasen P.E. et al. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. Int. J. Food Microbiol. 2004. V. 95 (3). P. 257–266.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.005>
- Toropova E.Yu., Vorobyeva I.G., Mustafina M.A. et al. *Fusarium* Link fungi on the wheat grains in Western Siberia. Agrokhimiya. 2019. № 5. P. 76–82 (in Russ.).
<https://doi.org/10.1134/S0002188119050119>
- Torp M., Nirenberg H.I. *Fusarium langsethiae* sp. nov. on cereals in Europe. Int. J. Food Microbiol. 2004. V. 95. P. 247–256.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.014>
- Urazbakhtina D., Khayrullin R. The spreading of *Fusarium* species in winter ryes' seeds in the South Urals. Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2012. № 3. C. 14–16 (in Russ.).
- Van Der Fels-Klerx H.J., Klemsdal S., Hietaniemi V. et al. Mycotoxin contamination of cereal grain commodities in relation to climate in North West Europe. Food Addit. Contam. Part A. 2012. V. 29 (10). P. 1581–1592.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2012.689996>
- Verheecke-Vaessen C., Diez-Gutierrez L., Renaud J. et al. Interacting climate change environmental factors effects on *Fusarium langsethiae* growth, expression of *Tri* genes and T-2/HT-2 mycotoxin production on oat-based media and in stored oats. Fungal Biol. 2019. V. 123 (8). P. 618–624.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.04.008>
- Vogelgsang S., Sulyok M., Banziger I. et al. Effect of fungal strain and cereal substrate on in vitro mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum*. Food Addit. Contam. Part A. 2008. V. 25 (6). P. 745–757.
<https://doi.org/10.1080/02652030701768461>
- Waalwijk C., Kastelein P., de Vries I. et al. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. Eur. J. Plant Pathol. 2003. V. 109. P. 743–754.
<https://doi.org/10.1023/A:1026086510156>
- West J.S., Holdgate S., Townsend J.A. et al. Impacts of changing climate and agronomic factors on *Fusarium* ear blight of wheat in the UK. Fungal Ecol. 2012. V. 5 (1). P. 53–61.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.03.003>
- Xu X.-M., Nicholson P., Thomsett M.A. et al. Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions. Phytopathology. 2008. V. 98. P. 69–78.
<https://doi.org/10.1094/PHTO-98-1-0069>
- Yli-Mattila T., Ward T.J., O'Donnell K. et al. *Fusarium sibiricum* sp. nov., a novel type A trichothecene-producing *Fusarium* from northern Asia closely related to *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae*. Int. J. Food Microbiol. 2011. V. 147 (1). P. 58–68.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.007>

- Yli-Mattila T., Gavrilova O., Hussien T. et al.* Identification of the first *Fusarium sibiricum* isolate in Iran and *Fusarium langsethiae* isolate in Siberia by morphology and species-specific primers. *J. Plant Pathol.* 2015. V. 97 (1). P. 183–187.
https://doi.org/10.4454/JPP.V97I1.017
- Yli-Mattila T., Hussien T., Gavrilova O. et al.* Morphological and molecular variation between *Fusarium avenaceum*, *Fusarium arthrosporioides* and *Fusarium anguioides* strains. *Pathogens.* 2018. V. 7 (4). P. 94.
https://doi.org/10.3390/pathogens7040094
- Гаврилова О.П., Орина А.С., Гогина Н.Н. и др.* (Gavrilova et al.) Проблема фузариоза зерна в Зауралье: ретроспектива исследований и современная ситуация // *Аграрный вестник Урала.* 2020. № 7. С. 29–40.
- Гագкаева Т.Ю., Гаврилова О.П.* (Gagkaeva, Gavrilova) Образование Т-2 токсина и диацетоксисцирпенола грибами рода *Fusarium* на различных питательных средах // *Агрохимия.* 2013. № 8. С. 84–89.
- Гագкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М.* (Gagkaeva et al.) Биоразнообразие и ареалы основных токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium* // *Биосфера.* 2014. Т. 6. № 1. С. 36–45.
- Гագкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Орина А.С.* (Gagkaeva et al.) Первое обнаружение гриба *Fusarium globosum* в микобиоте зерновых культур на территории Урала и Сибири // *Вестник защиты растений.* 2019. № 1. С. 10–18.
- Гագкаева Т.Ю., Левитин М.М., Санин С.С. и др.* (Gagkaeva et al.) Зараженность зерна и видовой состав грибов рода *Fusarium* на территории РФ в 2004–2006 годах // *Агро XXI.* 2009. № 4–6. С. 3–5.
- Горобей И.М., Ашмарина Л.Ф.* (Gorobey, Ashmarina) Зараженность зерна бобовых и зернофуражных культур токсиногенными грибами в условиях Западной Сибири // *Аграрный вестник Юго-Востока.* 2009. № 3. С. 55–56.
- Иващенко В.Г., Шипилова Н.П.* (Ivashchenko, Shipilova) Грибы рода *Fusarium* на семенах хлебных злаков в основных зерновых регионах России (ареалы, частота встречаемости, соотношение). СПб., 2004. 20 с.
- Иващенко В.Г., Шипилова Н.П., Левитин М.М.* (Ivashchenko et al.) Видовой состав грибов рода *Fusarium* на злаках в азиатской части России // *Микология и фитопатология.* 2000. Т. 34. № 4. С. 54–68.
- Литовка Ю.А.* (Litovka) Видовой состав и представленность грибов рода *Fusarium* на зерновых культурах (пшеница и ячмень), выращиваемых в условиях средней Сибири // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета.* 2017. № 6. С. 140–149.
- Торопова Е.Ю., Воробьева И.Г., Мустафина М.А. и др.* (Togorova et al.) Мониторинг грибов рода *Fusarium* Link. и их микотоксинов на зерне пшеницы в Западной Сибири // *Агрохимия.* 2019. № 5. С. 76–82.
- Уразбахтина Д.Р., Хайруллин Р.М.* (Urazbakhitina, Khayrullin) Распространенность грибов рода *Fusarium* в зерне озимой ржи на Южном Урале // *Вестник Башкирского государственного аграрного университета.* 2012. № 3. С. 14–16.

Diversity of *Fusarium* Species and Their Mycotoxins in Cereals Grain from the Asian Territory of Russia

O. P. Gavrilova^{a,#}, T. Yu. Gagkaeva^{a,###}, A. S. Orina^{a,###}, and N. N. Gogina^{b,####}

^a All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

^b All-Russian Research and Technological Poultry Institute, Sergiev Posad, Russia

[#]e-mail: olgavrilova1@yandex.ru

^{##}e-mail: t.gagkaeva@mail.ru

^{###}e-mail: orina-alex@yandex.ru

^{####}e-mail: n.n.gogina@mail.ru

Up-to-date information on the occurrence of *Fusarium* fungi and their mycotoxins in wheat, barley and oat grains grown in the Urals and West Siberia in 2018–2019 is presented. Mycological analysis of grain revealed at least 16 species of *Fusarium* fungi. The *Fusarium sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae*, and *F. anguioides* prevailed, and the proportions of these fungi among all *Fusarium* fungi occurred in grain were 31, 20, 19, and 13%, respectively. *F. graminearum* and mycotoxin deoxynivalenol (DON) are often occurred in mycobiota of cereals grain on the territory of both the Urals and West Siberia. New records of fungal species that are rare in the Asian territory of Russia were detected: *F. langsethiae* and *F. sibiricum*, which are active producers of group A trichothecene mycotoxins, were found in the Kurgan and Kemerovo Regions, respectively. In addition, *F. globosum* that characterized as able to produce fumonisins was detected in Altai Kray and Omsk Region. The diversity of *Fusarium* species was higher in wheat and barley grain samples, than in oats. The HPLC–MS/MS method was used to analyze the content of 19 mycotoxins produced by *Fusarium* fungi. The highest diversity of mycotoxins was found in wheat (maximum 12), compared with oats (9) and barley (8). The T-2 and HT-2 toxins, DON, nivalenol, moniliformin (MON) and beauvericin (BEA) occurred more often in grain samples, compared with other mycotoxins, but their amounts varied significantly, depending on the weather conditions in vegetation season and species of cereal. The average content of DON (maximum amount was 375 µg/kg) in wheat grain was 5 times higher than its average content in barley grain, and this mycotoxin was not detected in oat grain. The contamination with T-2 and HT-toxins (maximum amounts were 2652 µg/kg and 481 µg/kg, respectively), as well as with BEA (maximum amount was 49 µg/kg) was typical for barley and oat grain samples. The content of MON (maximum amount was 50 µg/kg) in the grain of three different cereals was similar.

Keywords: distribution, fungi, *Fusarium*, mycotoxins, small grain cereals, the Urals, West Siberia