

УДК 582.282: 632.4.01/.08

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГРИБА *Nigrospora gorlenkoana* Novobr., РАСПРОСТРАНЕННОГО НА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ

© 2023 г. А. С. Орина*, @, О. П. Гаврилова*, Т. Ю. Гагкаева*

*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР),
ш. Подбельского, 3, Санкт-Петербург, 196608 Россия

@E-mail: orina-alex@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.06.2022 г.

После доработки 11.07.2022 г.

Принята к публикации 25.04.2023 г.

Установлено повсеместное распространение грибов рода *Nigrospora* в микобиоте зерновых культур на территории России. Четырнадцать штаммов *Nigrospora* с использованием филогенетического анализа ITS, *tub* и *TEF* локусов были идентифицированы как *N. gorlenkoana*, впервые выявленный в России. На различных питательных средах проанализированы морфолого-культуральные свойства штаммов *N. gorlenkoana*. Установлен широкий температурный диапазон 15–25°C оптимальный для роста *N. gorlenkoana*, что обуславливает его повсеместное распространение в природе. Показана патогенность *N. gorlenkoana* по отношению к зерновым культурам — длина проростков пшеницы и ячменя под воздействием штаммов гриба снижалась и в среднем составила 48 и 39% от контроля, соответственно.

Ключевые слова: злаковые растения, микромицеты, филогения, патогенность

DOI: 10.31857/S1026347022600546, **EDN:** WCWAPT

Род *Nigrospora* Zimm. (Ariosporaceae, Xylariales, Sordariomycetes) установлен немецким ботаником Альбрехтом Циммерманном (Albrecht Zimmermann) в 1902 г. при описании вида *N. panici* Zimm., выделенного из листьев злакового растения *Panicum amphibium* Steud., собранного на острове Ява. Грибы рода *Nigrospora* образуют одиночные, черные, блестящие, одноклеточные конидии, как правило, округлой формы на монобластических конидиогенных клетках (Mason, 1927). Изначально, классификация видов *Nigrospora* основывалась, главным образом, на размерах конидий. Часто упоминаемые в научных публикациях виды *N. oryzae* (Berk. & Broome) Petch и *N. sphaerica* (Sacc.) E.W. Mason были обособлены на основании размеров спор: 13–15 и 15–20 мкм, соответственно (Mason, 1927).

Современные исследования показывают возможность точной видовой идентификации *Nigrospora* только с помощью полифазного подхода, включающего установление морфологических, экологических, физиологических и молекулярно-генетических характеристик (Wang *et al.*, 2017; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). Для дифференциации видов *Nigrospora* и их аккуратной идентификации в филогенетический анализ включают последовательности нескольких локусов — внут-

реннего транскрибируемого спейсера рибосомальной РНК ITS, гена β-тубулина *tub*, гена фактора элонгации трансляции *TEF*, большой субъединицы рибосомальной РНК LSU (Wang *et al.*, 2017; Crous *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). К настоящему времени род *Nigrospora* объединяет 33 валидных видовых таксона, штаммы которых часто включают в микологические и филогенетические исследования (Crous *et al.*, 2019; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020; de Silva *et al.*, 2021). Таксономический статус еще восьми видовых эпитетов, в т. ч. типового вида рода, образец которого был утерян, требует уточнения (Wang *et al.*, 2017; Hao *et al.*, 2020).

Интерес к детальному изучению грибов *Nigrospora* достаточно высок, поскольку, с одной стороны, их рассматривают как вредоносные организмы, оказывающие негативное влияние на растения (Harwooda *et al.*, 1995; Рубежняк, 2013; Wright *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2017; Rashmi *et al.*, 2019; Raza *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020; Pan *et al.*, 2020; Матвиенко, Кинчарова, 2020), а с другой стороны как представителей микобиоты, продуцирующих вторичные метаболиты, защищающие растения от неблагоприятных абиотических и биотических факторов (Kim *et al.*, 2001; Ramesha *et al.*, 2020). Показано, что некоторые метаболиты грибов рода *Nigrospora* обладают антивирусными,

антибиотическими, фунгицидными (Starratt, Loschiavo, 1974; Rathod *et al.*, 2014; Waill *et al.*, 2022) и инсектицидными свойствами (Meeragala *et al.*, 2015). Виды рода *Nigrospora* были выделены не только из растений (Sharma *et al.*, 2013; Nao *et al.*, 2020), но также из лишайников (Oh *et al.*, 2020), насекомых (Wu *et al.*, 2018; Aghyl *et al.*, 2021) и морских объектов (Zhang *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2014). В русскоязычной научной литературе, как правило, упоминается только вид *N. oryzae* как патоген кукурузы и других растений (http://www.agroatlas.ru/content/diseases/Zae/Zae_Nigrospora_oryzae). До настоящего времени целенаправленное изучение разнообразия и распространения этих грибов в РФ не проводилось.

Целью исследования являлось выявление видового разнообразия грибов рода *Nigrospora*, встречающихся на злаковых культурах, а также характеристика их физиолого-биохимических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Создание коллекции штаммов грибов рода *Nigrospora*. Анализировали 262 образца зерна урожая 2017–2021 гг., собранных в Приволжском ($n = 1$), Северо-Кавказском ($n = 20$), Сибирском ($n = 105$), Уральском ($n = 61$), Центральном ($n = 67$) и Южном ($n = 8$) федеральных округах. Среди них было 169 образцов пшеницы, 38 – овса и 55 – ячменя. Оценку зараженности зерна грибами проводили общепринятым микологическим методом (Гагкаева, 2009).

В результате анализа микобиоты зерна в коллекцию лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР было депонировано более 40 штаммов *Nigrospora* spp., из которых для дальнейших исследований были рандомизированно выбраны 16 штаммов. Также в исследование были включены три штамма *Nigrospora*, выделенные из тростника, из зерна кукурузы и семян рапса (табл. 1).

Молекулярно-генетическая идентификация штаммов. Экстракцию ДНК проводили из 10–50 мг мицелия, собранного с поверхности колонии гриба, выращенной на картофельно-сахарозной агаризованной среде (КСА), с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва) согласно протоколу производителя.

Аmplификацию фрагментов внутреннего транскрибируемого спейсера рДНК (ITS), генов β -тубулина (*tub*) и фактора элонгации трансляции (*TEF*) проводили с использованием праймеров и протоколов авторов (White *et al.*, 1990; O'Donnell, Cigel'nik, 1997; Carbone, Kohn, 1999). Нуклеотидную последовательность фрагментов определяли на секвенаторе ABIPrism 3500 (Applied Biosystems, Hitachi, Япония) с использованием набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cy-

cle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Процедуры выравнивания и ручного редактирования хроматограмм, а также получение консенсусных нуклеотидных последовательностей проводили в программе Vector NTI Advance 10. Нуклеотидные последовательности с помощью инструмента BLAST были проверены на сходство с депонированными в международной информационной базе данных NCBI GenBank. Филогенетические отношения между таксонами оценивали методами максимального правдоподобия (maximum likelihood; ML) и максимальной экономии (maximum parsimony; MP) с использованием программы MEGA X 10.1 (Kumar *et al.*, 2018). Также рассчитывали байесовскую вероятность (Bayesian probability; BP) с помощью MrBayes v. 3.2.1 на платформе Armadillo 1.1 (Lord *et al.*, 2012). Достоверность топологии филогенетических деревьев определяли посредством бутстрэп-анализа (1000 повторностей). Полученные нуклеотидные последовательности были размещены в базе данных NCBI GenBank.

Оценка морфолого-культуральных свойств штаммов. Фенотипические особенности и скорость роста штаммов грибов анализировали при их культивировании на трех агаризованных питательных средах: картофельно-сахарозной (КСА), овсяной (ОА) и среде Чапека (ЧА) в темноте при 25°C (Crous *et al.*, 2021). Через трое суток роста грибов измеряли размер каждой колонии в двух перпендикулярных направлениях и рассчитывали среднее значение диаметра колоний каждого штамма. Через 7–30 сут оценивали тип и окраску воздушного мицелия, пигментацию колоний.

Описание микроморфологических признаков проводили при культивировании или выращивании штаммов на КСА в темноте при 25°C в течение 7–14 сут. Морфологические структуры штаммов были исследованы и задокументированы с помощью микроскопа Olympus BX53 (Olympus America, США), подключенного к камере Supra (Jenoptik, Германия). Обработку фотографий проводили в программе Adobe Photoshop CC 2018 (Adobe, США).

Определение диапазона температур, оптимальных для накопления грибами биомассы, проводили методом глубинного культивирования. Каждый штамм выращивали в 100 мл жидкой среды Чапека в качалочных колбах объемом 750 мл в термостатируемых орбитальных шейкерах Innova 44R (Eppendorf, Германия). В объем питательной среды вносили по два диска диаметром 5 мм, вырезанных из культур грибов, выращенных на КСА при 25°C в течение 10–14 сут. Культивирование проводили при температурах 10, 15, 20, 25 и 30°C и постоянном перемешивании со скоростью 100 об./мин в течение 7 сут. Отделение биомассы грибов от культуральной жидкости проводили методом вакуум-фильтрации

Таблица 1. Штаммы грибов, использованные в филогенетическом исследовании

| Вид | Номер штамма в коллекции | Растение-хозяин, субстрат | Страна, регион | Год | Номер нуклеотидной последовательности в GenBank | | |
|--|--|---|---|------|---|----------------------------------|----------------------------------|
| | | | | | ITS | TEF | tub |
| <i>Arthrinium arundinis</i> <i>A. arundinis</i> | CBS 114316* MFG 70050** | <i>Hordeum vulgare</i> Пшеница, зерно | Иран Россия, Краснодарский край | 2019 | KF144884 OK563249*** | KF145016 OK626387 | KF144974 OK626371 |
| <i>Nigrospora aurantiaca</i> | CGMCC3.18130 T | <i>Nelumbo</i> sp., листья | Китай | | KX986064 | KY019295 | KY019465 |
| <i>N. bambusae</i> <i>N. brasiliensis</i> | CGMCC3.18327 T CMM1214 T | Бамбук, листья <i>Nopalea cochenilifera</i> | Китай Бразилия | 2018 | KY385307 KY569629 | KY385313 MK753271 | KY385319 MK720816 |
| <i>N. camelliae-sinensis</i> | CGMCC3.1812 T | <i>Camellia sinensis</i> | Китай | | KX985986 | KY019293 | KY019460 |
| <i>N. chinensis</i> | CGMCC3.18127 T | <i>Machilus breviflora</i> | Китай | 2020 | KX986023 | KY019422 | KY019462 |
| <i>N. falsivesicularis</i> | CGMCC 3.19678 T | <i>Saccharum officinarum</i> , листья | Китай | 2018 | MN215778 | MN264017 | MN329942 |
| <i>N. globosa</i> <i>N. gorlenkoana</i> <i>N. gorlenkoana</i> | CGMCC3.19633 T CBS 480.73 T MFG 70030 | Почва <i>Vitis vinifera</i> Пшеница, зерно | Китай Казахстан Россия, Республика Башкирия | 2020 | MK329121 KX986048 OK563236 | MK336056 KY019420 OK626374 | MK336134 KY019456 OK626358 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70031 | Пшеница, зерно | Россия, Белгородская обл. | | OK563237 | OK626375 | OK626359 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70032 | Пшеница, зерно | Россия, Воронежская обл. | 2020 | OK563238 | OK626376 | OK626360 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70033 | Пшеница, зерно | Россия, Краснодарский край | 2018 | OK563239 | OK626377 | OK626361 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70034 | Пшеница, зерно | Россия, Краснодарский край | 2020 | OK563240 | OK626378 | OK626362 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70036 | Пшеница, зерно | Россия, Новосибирская обл. | 2018 | OK563241 | OK626379 | OK626363 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70038 | Пшеница, зерно | Россия, Омская обл. | 2018 | OK563242 | OK626380 | OK626364 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70039 | Пшеница, зерно | Россия, Псковская обл. | 2018 | OK563243 | OK626381 | OK626365 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70040 | Пшеница, зерно | Россия, Ростовская обл. | 2020 | OK563244 | OK626382 | OK626366 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70042 | Пшеница, зерно | Россия, Тамбовская обл. | 2020 | OK563245 | OK626383 | OK626367 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70044 | Пшеница, зерно | Россия, Челябинская обл. | 2019 | OK563246 | OK626384 | OK626368 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70045 | Пшеница, зерно | Россия, Республика Чечня | 2019 | OK563247 | OK626385 | OK626369 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70048 | Рапс, семена | Россия, Ленинградская обл. | 2020 | OK563248 | OK626386 | OK626370 |
| <i>N. gorlenkoana</i> | MFG 70051 | Овес, зерно | Россия, Московская обл. | 2020 | OK563250 | OK626388 | OK626372 |
| <i>N. guilinensis</i> <i>N. hainanensis</i> <i>N. lacticolonia</i> <i>N. macarangae</i> | CGMCC3.18124 T CGMCC3.18129 T CGMCC3.18123 T MFLUCC 19-0141 T | <i>Camellia sinensis</i> <i>Musa paradisiaca</i> <i>Camellia sinensis</i> <i>Macaranga tanarius</i> , листья | Китай Китай Китай Тайвань | 2019 | KX985983 KX986091 KX985978 MW114318 | KY019292 KY019415 KY019291 | KY019459 KY019464 KY019458 |
| <i>N. magnoliae</i> <i>N. magnoliae</i> | LC 6704 MFLUCC 19-0112 T | <i>Camellia sinensis</i> <i>Magnolia liliifera</i> , листья | Китай Китай | | KX986047 MW285092 | KY019373 MK753271 | KY019571 MW438334 |
| <i>N. musae</i> | CBS 319.34 T | <i>Musa paradisiaca</i> | Австралия | 2019 | KX986076 | KY019419 | KY019455 |

Таблица 1. Окончание

| Вид | Номер штамма в коллекции | Растение-хозяин, субстрат | Страна, регион | Год | Номер нуклеотидной последовательности в GenBank | | |
|--------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|-----------------|------|---|-----------------|-----------------|
| | | | | | ITS | TEF | tub |
| <i>N. oryzae</i> | LC 6759 | <i>Oryza sativa</i> | Китай | | KX986054 | KY019374 | KY019572 |
| <i>N. osmanthi</i> | CGMCC3.18126 T | <i>Osmanthus</i> sp. | Китай | | KX986010 | KY019421 | KY019461 |
| <i>N. pyriformis</i> | CGMCC3.18122 T | <i>Citrus sinensis</i> | Китай | | KX985940 | KY019290 | KY019457 |
| <i>N. rubi</i> | CGMCC3.18326 T | <i>Rubus</i> sp. | Китай | | KX985948 | KY019302 | KY019475 |
| <i>N. saccharicola</i> | CGMCC3.19362 T | <i>Saccharum officinarum</i> , листья | Китай | | MN215788 | MN264027 | MN329951 |
| <i>N. sacchari-officinatum</i> | CGMCC3.19335 T | <i>Saccharum officinarum</i> , корни | Китай | | MN215791 | MN264030 | MN329954 |
| <i>N. singularis</i> | CGMCC3.19334 T | <i>Saccharum officinarum</i> , корни | Китай | | MN215793 | MN264032 | MN329956 |
| <i>N. sphaerica</i> | LC7298 | <i>Nelumbo</i> sp. | Китай | | KX985937 | KY019401 | KY019606 |
| <i>N. vesicularifera</i> | CGMCC3.19333 T | <i>Saccharum officinarum</i> , листья | Китай | | MN215812 | MN264051 | MN329975 |
| <i>N. vesicularis</i> | CGMCC3.18128 | <i>Musa paradisiaca</i> | Китай | | KX986088 | KY019294 | KY019463 |
| <i>N. zimmermanii</i> | CBS 290.62 T | <i>Saccharum officinarum</i> | Эквадор | | KY385309 | KY385311 | KY385317 |
| <i>Nigrospora</i> sp. 1 | LC 2725 | <i>Symplocos zizyphoides</i> | Китай | | KX985960 | KY019313 | KY019487 |
| <i>Nigrospora</i> sp. | MFG 70052 | <i>Phragmites</i> sp. | Приморский край | 2010 | OK563251 | OK626389 | OK626373 |

Примечание. * – Штаммы, нуклеотидные последовательности которых использовались в филогенетическом анализе в качестве референсных; ** – полужирным шрифтом отмечены исследуемые штаммы из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР; *** – полужирным шрифтом отмечены нуклеотидные последовательности, полученные в данном исследовании.

через бумажные фильтры “Красная лента” 90 мм (Экрос, Россия) с помощью насоса Millipore Vacuum Pump XF 54 (Merck, Германия). Биомассу высушивали при 50°C в течение суток и взвешивали. Значения pH культуральной жидкости определяли с помощью индикаторных бумажных полосок (Macherey-Nagel, Германия).

Оценка патогенности штаммов грибов. Патогенность штаммов грибов оценивали по влиянию на длину проростков семян зерновых культур, разложенных на поверхность колоний гриба. Зерно озимой пшеницы сорта Васса и пивоваренного ячменя сорта Деспина. поверхность стерилизовали 70% этанолом и замачивали на сутки в стерильной воде. Затем зерна с набухшим зародышем, без видимых повреждений, раскладывали на поверхность колоний штаммов грибов, предварительно выращенных на КСА при 25°C в течение 10 сут. В контроле зерна раскладывали на чистую КСА. Через 5 сут инкубации в темноте при температуре 25°C измеряли длину проростков, рассчитывали средние значения. Изменение длины проростков под воздействием гриба оценивали в процентах к их средней длине в контроле.

Статистический анализ. Использовали программы Microsoft Excel 2010 и Minitab 17 для расчета средних значений, стандартного отклонения, доверительных интервалов и построения графиков зависимостей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Встречаемость грибов рода *Nigrospora*. Микологический анализ выявил повсеместное распространение грибов *Nigrospora* в зерне, выращенном в различных регионах России: они были обнаружены в 45.8% анализированных образцов (табл. 2). Зараженность зерна этими грибами, как правило, была низкой, но в отдельных случаях достигала высоких значений – до 19% (озимая пшеница, Курская обл., 2020 г.). Взаимосвязи между встречаемостью грибов рода *Nigrospora* и видом зерновой культуры, а также регионом её возделывания не выявлены.

Идентификация штаммов с помощью молекулярно-генетических методов. Филогенетический анализ комбинированных нуклеотидных последовательностей 16 штаммов, предварительно морфологически определенных как *Nigrospora* spp., а также 28 рефересных штаммов грибов, включал 1038 пар нуклеотидов (п.н.) (ITS – 428 п.н., *tub* – 355 п.н., *TEF* – 255 п.н.), среди которых 544 п.н. были консервативными, 484 п.н. – вариабельными, в т. ч. 388 п.н. – информативными.

С высокой бутстрэп-поддержкой ML/MP/VP 100/100/0.95 четырнадцать анализированных штаммов формировали кладу с референсным штаммом CBS 480.73 *N. gorklenkoana* Novobr., что подтверждает их принадлежность этому виду (рис. 1). Один штамм *Nigrospora* sp. MFG 70052,

Таблица 2. Встречаемость грибов рода *Nigrospora* в образцах зерна из различных регионов России (2017–2021 гг.)

| Происхождение образцов зерна | Год урожая | Зерновая культура (число образцов) | Доля образцов зерна, зараженных грибами рода <i>Nigrospora</i> , % | Максимальная зараженность зерна грибами рода <i>Nigrospora</i> , % |
|------------------------------|------------|------------------------------------|--|--|
| Центральный ФО | 2019 | Овес (13) | 8 | 1 |
| | 2020 | Оз. пшеница (33) | 55 | 19 |
| | 2021 | Овес (16) | 6 | 1 |
| Южный ФО | 2021 | Яр. ячмень (5) | 67 | 7 |
| | | Оз. пшеница (7) | 29 | 1 |
| Северокавказский ФО | 2019 | Яр. ячмень (1) | 100 | 1 |
| | | Оз. пшеница (20) | 60 | 9 |
| Приволжский ФО | 2020 | Яр. пшеница (1) | 100 | 2 |
| Уральский ФО | 2018 | Яр. пшеница (23) | 30 | 3 |
| | | Яр. ячмень (15) | 53 | 6 |
| | 2019 | Овес (4) | 50 | 2 |
| | | Яр. пшеница (11) | 45 | 10 |
| Сибирский ФО | 2017 | Яр. ячмень (8) | 37 | 3 |
| | | Яр. пшеница (26) | 54 | 8 |
| | 2018 | Яр. ячмень (2) | 100 | 12 |
| | | Овес (5) | 80 | 6 |
| | | Оз. пшеница (3) | 33 | 6 |
| | | Яр. пшеница (20) | 50 | 9 |
| | 2019 | Яр. ячмень (16) | 44 | 2 |
| | | Яр. пшеница (25) | 56 | 6 |
| | | Яр. ячмень (8) | 50 | 6 |

выделенный из тростника из Приморского края, представляет собой отдельную филогенетическую линию, и, вероятно, является представителем нового для науки вида грибов рода *Nigrospora*. Штамм MFG 70050 с бутстрэп-поддержкой ML/MP/VP 100/100/1.0 формировал общую кладу со штаммом *Arthrinium arundinis* (Corda) Dyko & B. Sutton CBS 114316. В дальнейшем, при оценке скорости роста и патогенности штаммов *N. gorlenkoana*, штамм MFG 70050 использовали для сравнения в качестве внешней группы.

Морфолого-культуральные свойства штаммов *N. gorlenkoana*. На КСА колонии *N. gorlenkoana* быстрорастущие, распростертые, плоские, с разреженным воздушным мицелием серого цвета (рис. 2). С возрастом воздушный мицелий становится плотнее, шерстисто-кочковатым, серовато-черным, с пучками стерильных гиф белого цвета. Реверс колонии оттенков серого цвета, неровный, с темными пятнами и просвечивающим рисунком субстратных гиф гриба. На ЧА культуры гриба *N. gorlenkoana* слабо растущие, плоские, с разреженным воздушным мицелием, почти не образующие спороношение, в отличие от ОА, на которой колонии гриба образуют обильный, плотный, шерстистый, бело-серого цвета мице-

лий, с возрастом темнеющий за счет увеличения числа образующихся окрашенных спор.

Микроскопический анализ показал, что гифы воздушного мицелия *N. gorlenkoana* гладкие, гиалиновые, разветвленные, с хорошо заметными перегородками, диаметром 1.5–4.5 мкм (рис. 3). Гифы субстратного мицелия темноокрашены, с плотной оболочкой и заметными межклеточными перегородками, искривленные, с очевидными утолщениями, диаметром 2.0–5.5 мкм. Спороношение образуется быстро на 2–3 сут. Конидиеносцы утолщенные, хорошо выраженные, прямые или изогнутые, бледно серо-охряные, длинные, иногда сводятся к конидиогенным клеткам. Конидиогенные клетки монобластические, одиночные, дискретные, часто расширены, от почти сферических, бочкообразных до ампуловидных, размерами 3.0–15.5 × 4.0–9.0 мкм. Конидии обильные, одноклеточные, одиночные, по одной на каждой конидиогенной клетке, шаровидные или широкоэллиптические, в начале образования имеют вид бесцветных или бледно-коричневых вздутый, которые по мере созревания становятся плотно-черными, блестящими, гладкими, размеры в диапазоне 13.0–14.0 × 10.6–16.5 мкм (в среднем 12.0 × 13.6 мкм).

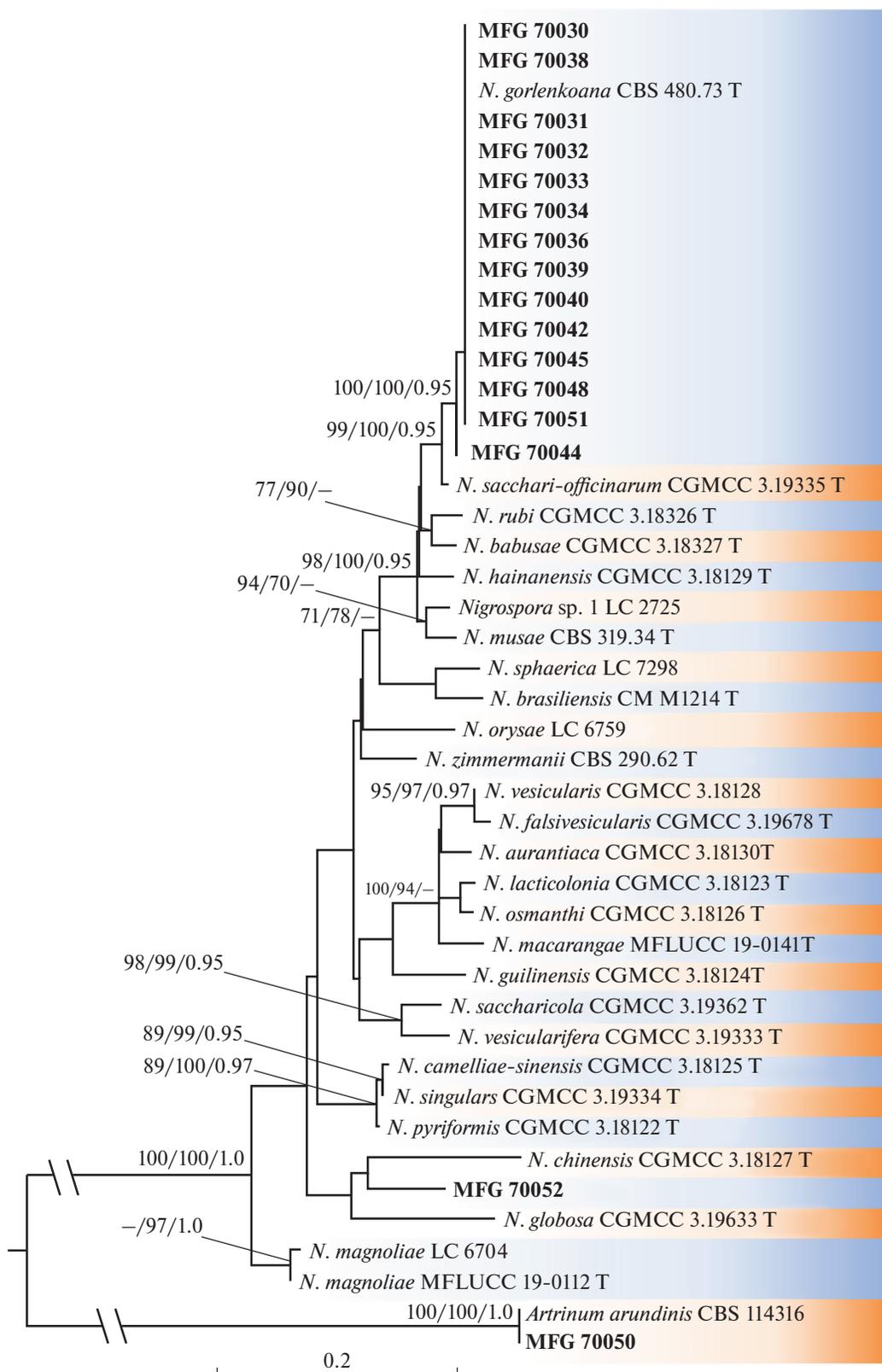


Рис. 1. Дендрограмма филогенетического сходства, построенная на основе комбинированных нуклеотидных последовательностей ITS, *TEF* и *tub* фрагментов генома методом максимального правдоподобия. В узлах приведены значения бутстреп-поддержки (>70%) при анализе методами максимального правдоподобия и максимальной экономии, а также значения Байесовской апостериорной вероятности (>0.95). полужирным шрифтом отмечены штаммы из коллекции MFG, включенные в исследование.

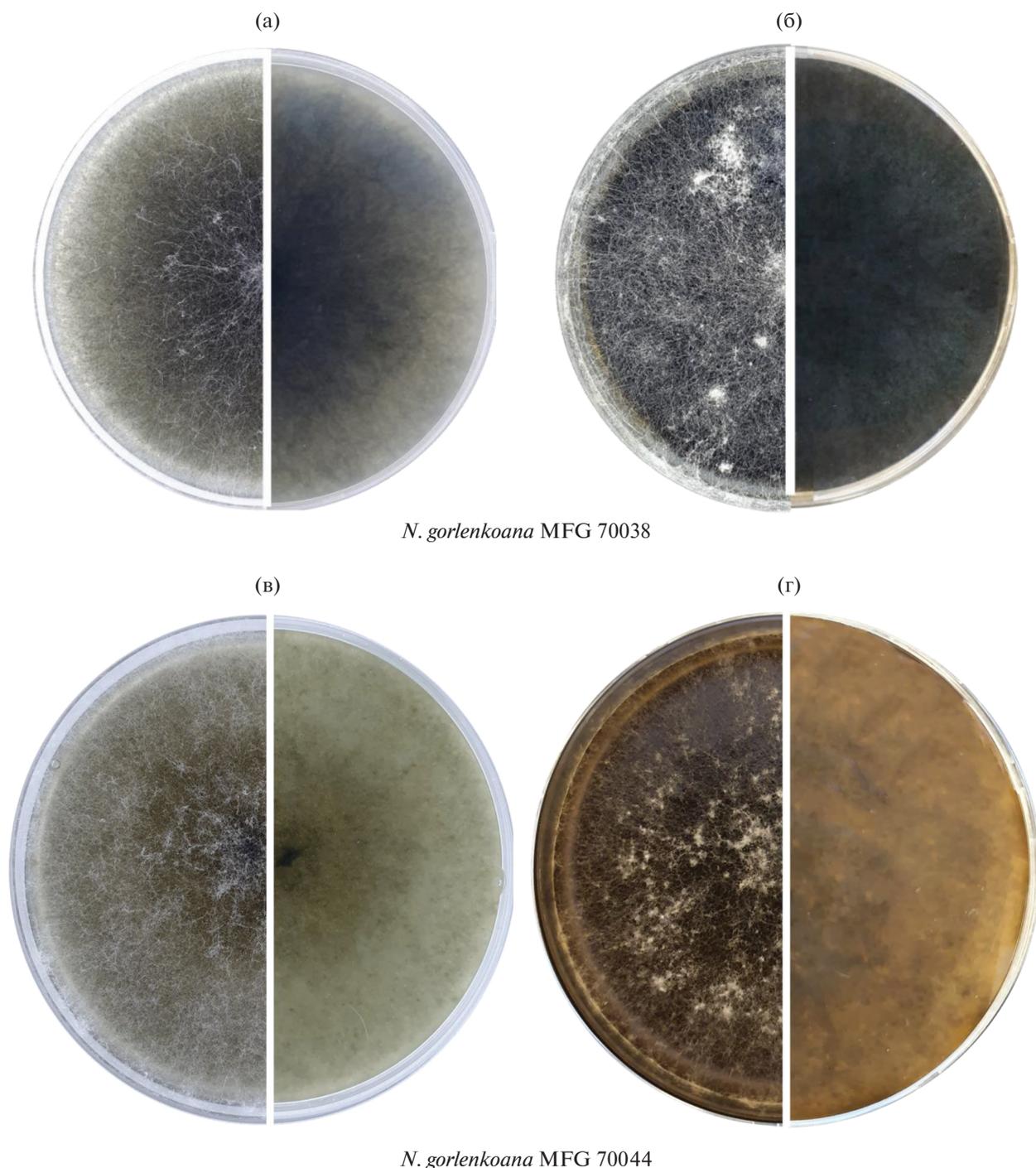


Рис. 2. Фенотипы штаммов грибов рода *Nigrospora*, выращенных на КСА в темноте при 25°C: возраст культур 7 сут (а, в) и 30 (б, г) суток.

Анализ скорости роста штаммов *N. gorlenkoana* выявил, что на третьи сутки культивирования диаметр колоний на КСА варьировал от 60 до 80 мм (в среднем 74.2 ± 1.8 мм), а на ОА — от 23 до 70 мм (в среднем 45.0 ± 3.4 мм). На ЧА скорость роста штаммов *N. gorlenkoana* была значительно ниже, чем на двух других агаризованных средах: диаметр

колоний грибов варьировал в широком диапазоне 10–53 мм и в среднем составил 31.2 ± 3.7 мм. У трех штаммов *N. gorlenkoana* выявлена относительно низкая скорость роста — через 3 сут диаметр их колоний на ЧА не превышал 18 мм. Размеры колонии *A. arundinis* MFG 70050 на всех трех средах оказались существенно меньше, по сравнению со

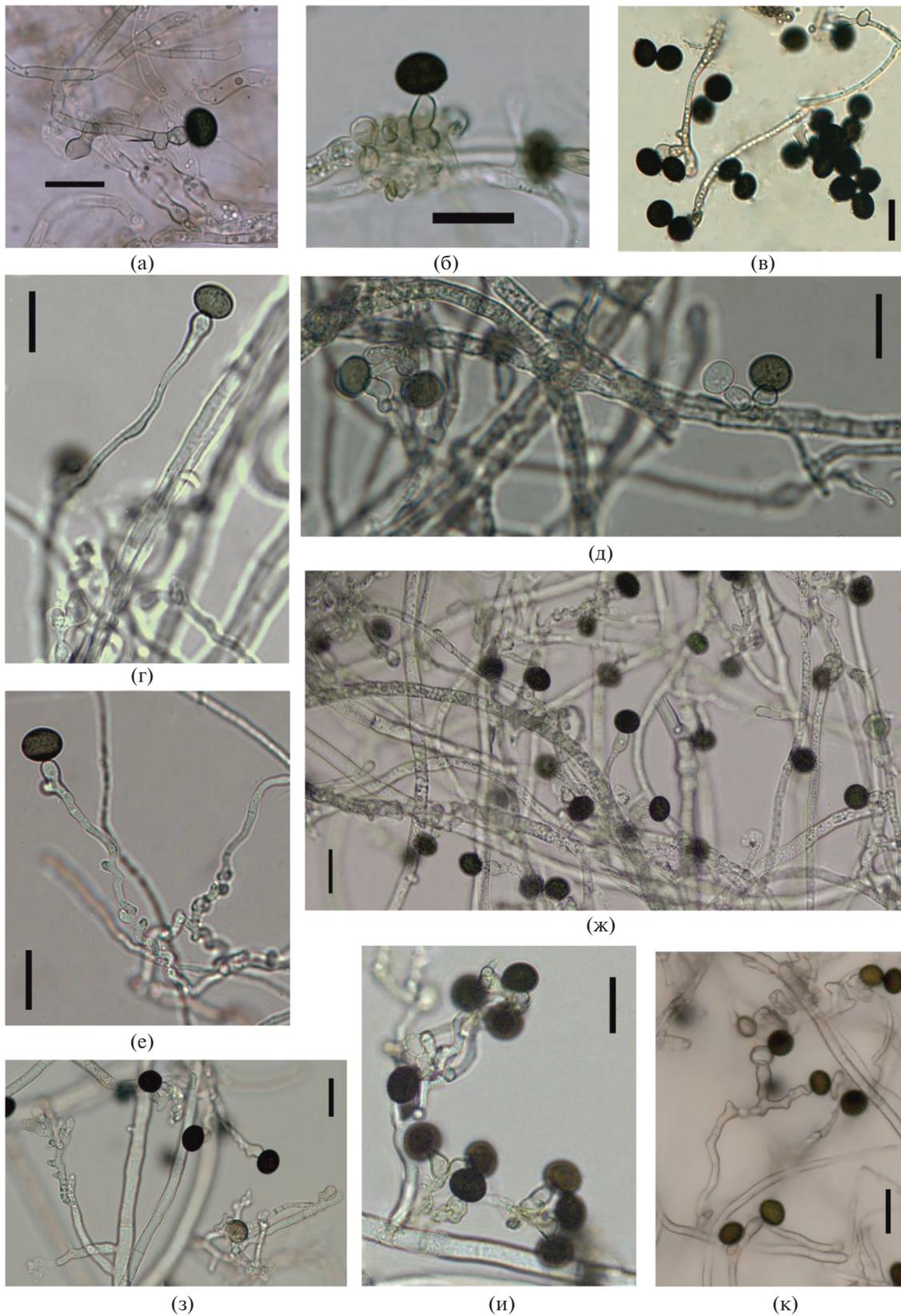


Рис. 3. Типичные микроструктуры гриба *N. gorlenkoana* (а–к). Гифы, конидиогенные клетки и конидии. КСА, в темноте, 25°C. Масштабные линейки: 20 мкм.

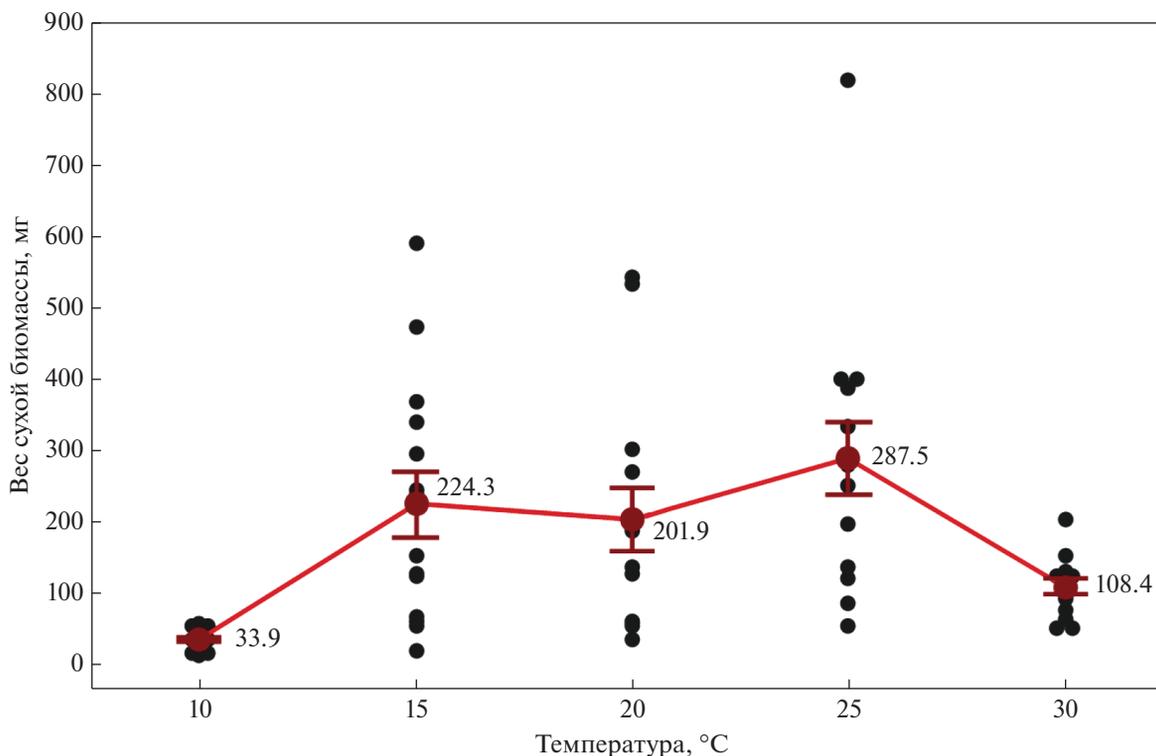


Рис. 4. Динамика накопления биомассы штаммов *N. gorklenkoana* при глубинном культивировании в диапазоне температур (среда Чапека, 7 сут, в темноте). Отрезками указаны доверительный интервал при уровне значимости $p < 0.05$.

штаммами *N. gorklenkoana*, и составили на КСА 53 ± 2 мм, на ОА — 38 ± 2 мм и на ЧА — 25.0 ± 0.1 мм.

Накопление биомассы штаммами *N. gorklenkoana* при глубинном культивировании на среде Чапека при температурах 10–30°C существенно варьировало от 13 мг при 10°C до 818 мг при 25°C (рис. 4). Сравнение средних показателей веса сухой биомассы, полученной при разных температурах культивирования, выявило широкий диапазон температур, при которых штаммы *N. gorklenkoana* росли одинаково хорошо — от 15°C (224 ± 86 мг) до 25°C (288 ± 96 мг). Оптимальной температурой для роста *A. arundinis* MFG 70050 являлась 25°C, при которой вес биомассы составил 540 ± 96 мг, что в 1.4–13.5 раз выше, чем при других четырех температурах.

Измерение pH культуральных жидкостей, полученных в процессе культивирования *Nigrospora* spp. при температуре 25°C, выявило изменение данного показателя от 5.5 (значение чистой среды Чапека) до 6.3. В то же время pH культуральной жидкости штамма *A. arundinis* MFG 70050 снизилось до 4.5.

Патогенность штаммов к проросткам пшеницы и ячменя. Всхожесть выбранных для экспериментов образцов зерна пшеницы и ячменя составляла 100% и 80%, соответственно. Длина проростков зерновых культур в контрольных вариантах зна-

чительно варьировала — от 7 до 109 мм у пшеницы и от 25 до 155 мм у ячменя. После недельной инкубации на поверхности колоний *N. gorklenkoana* и *A. arundinis* MFG 70050 выявлено достоверное снижение длины проростков пшеницы и ячменя, по сравнению с контролем (рис. 5).

Среди анализированных штаммов наиболее агрессивными по отношению к проросткам пшеницы являлись *N. gorklenkoana* MFG 70044 и *A. arundinis* MFG 70050 — длина проростков, полученных после культивирования на культурах этих грибов, составила всего 19.6 и 16.4% от контроля, соответственно. Только один штамм *N. gorklenkoana* MFG 70040 оказывал стимулирующее действие на прорастание зерна пшеницы, под влиянием которого длина проростков увеличилась до 120.8% от контроля.

Три штамма *N. gorklenkoana* MFG 70031, MFG 70038 и MFG 70044 можно охарактеризовать как наиболее агрессивные в отношении ячменя: длина проростков, после культивирования на поверхности колоний этих грибов составила 11.9–13.1% от контроля. Остальные анализированные штаммы *N. gorklenkoana*, а также *A. arundinis* MFG 70050, приводили к уменьшению длины проростков ячменя до 23.8–66.7% от контроля.

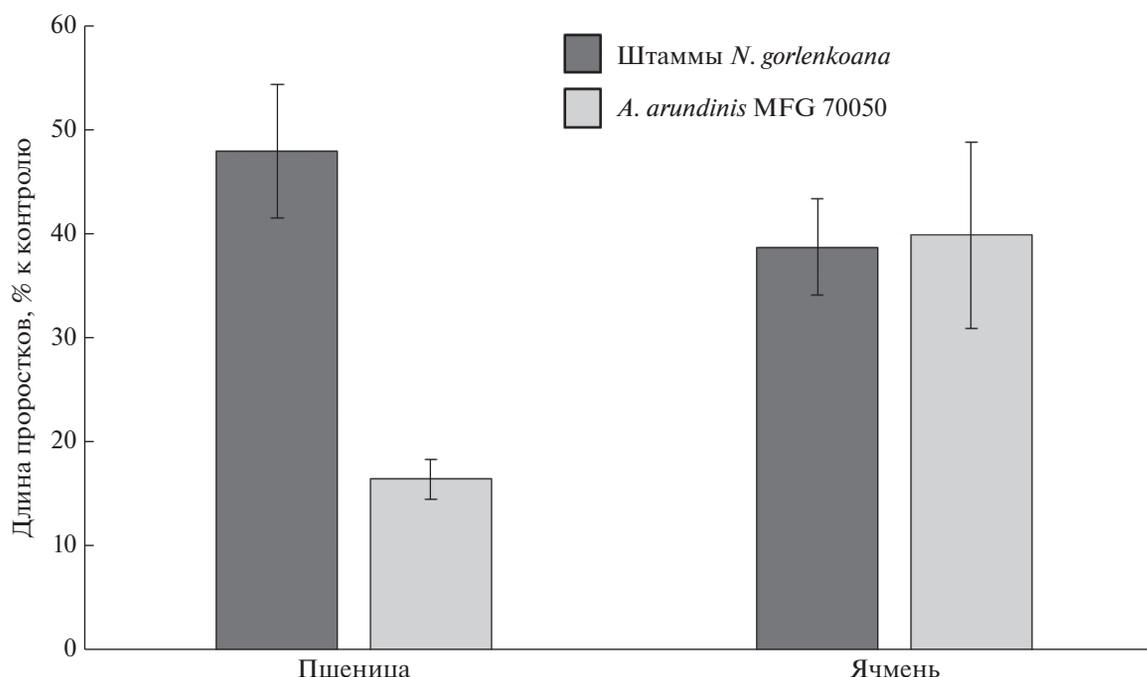


Рис. 5. Влияние штаммов грибов *N. gorklenkoana* и *A. arundinis* на длину проростков зерна пшеницы и ячменя. Отрезками указаны доверительный интервал при уровне значимости $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Впервые на территории России в период 2017–2021 гг. проведен мониторинг зараженности зерна грибами рода *Nigrospora* и выявлено их присутствие в образцах пшеницы, ячменя и овса в европейской части страны (40.6% образцов), в Уральском регионе (41.0%) и в Западной Сибири (53.3%). Несмотря на достаточно частое обнаружение грибов *Nigrospora* в микобиоте зерновых культур, зараженность зерна ими, в большинстве случаев, была невысокой, что согласуется с информацией о встречаемости этих грибов в других странах. Микологический анализ образцов зерна пшеницы в Сербии показал, что гриб *N. oryzae* встречался в 16.1% образцов зерна, со средней зараженностью 2.4% (Levic *et al.*, 2012), а в другом исследовании этот вид был найден в 40% образцов со средней зараженностью 1.5% (Kruľj *et al.*, 2016). Встречаемость *Nigrospora* spp. в микобиоте зерна пшеницы в Египте варьировала от 0 до 63% в зависимости от региона, тогда как зараженность в среднем не превышала 1% (Shabana *et al.*, 2021). В микобиоте растений пшеницы с симптомами поражения колоса и корневой гнили из Казахстана грибы рода *Nigrospora* также выявляли спорадически (Bozođlu *et al.*, 2022).

С помощью филогенетического анализа комбинированных нуклеотидных последовательностей ITS, *tub* и *TEF* нами установлена принадлежность штаммов, выделенных из семян зерновых культур (пшеница, ячмень, овес, кукуруза) и

рапса, к виду *N. gorklenkoana*. Поскольку выбор штаммов для исследования был обусловлен только шириной охвата географического и растительного разнообразия, отнесение их к одному виду позволяет утверждать, что *N. gorklenkoana* является космополитом, повсеместно ассоциированным с сельскохозяйственными культурами. Три анализированных штамма *N. gorklenkoana* MFG70031, MFG70038, MFG70048 депонированы в Всероссийскую Коллекцию Микроорганизмов (ВКМ).

Это первая находка *N. gorklenkoana* на зерновых культурах в России. Ранее вид *N. gorklenkoana* был выявлен на листьях и ягодах винограда в Казахстане и описан Новобрановой Т.И. (1972) с указанием размеров конидий $12.0–16.0 \times 8.0–12.0$ мкм. Типовой штамм *N. gorklenkoana* CBS 480.73 = VKM F-1761 активно используется в филогенетических исследованиях (Wang *et al.*, 2017; Crous *et al.*, 2019; Hao *et al.*, 2020). Кроме того, вид *N. gorklenkoana* был выявлен на листьях *Cirsium setosum* (Willd.) Besser ex M.Bieb (Asteraceae) (Hao *et al.*, 2020), на корнях дуба *Quercus robur* L. (Jankowiak *et al.*, 2022), а также был выделен из четырех видов лишайников (Oh *et al.*, 2020) и из насекомых (Aghyl *et al.*, 2021).

Как правило, штаммы *Nigrospora* spp., изолированные из злаковых культур, определяли только до уровня рода (Moуа-Elizondo *et al.*, 2015), или идентифицировали по морфологическим признакам как *N. oryzae* (Levic *et al.*, 2012; Abdullah, Atrosh, 2014; Kruľj *et al.*, 2016). В некоторых исследованиях принадлежность выделенных грибов к

виду *N. oryzae* подтверждали молекулярно-генетическими исследованиями, проводя анализ одного локуса (Eken *et al.*, 2016; Bozoğlu *et al.*, 2022). Так, сравнение последовательности ITS штамма *Nigrospora* KW1 (KT429637), выделенного из зерна пшеницы из Казахстана, с базой данных NCBI GenBank выявило ее 98.1% сходство с последовательностью штамма *N. oryzae* 2684 (EU272488), изолированного из кустарника *Espeletia* sp. в Колумбии, что позволило авторам отнести штамм KW1 к виду *N. oryzae* (Eken *et al.*, 2016). В то же время, сходство последовательности данного штамма с последовательностью ITS типового штамма *N. gorlenkoana* CBS 480.73 (KX986048) составило 98.2%, и с последовательностями штаммов *N. gorlenkoana*, полученных в нашем исследовании, 98.1–98.2%. Аналогично, в исследовании Бозоглу с соавтр. (Bozoğlu *et al.*, 2022) идентичные между собой последовательности ITS пяти штаммов *Nigrospora* (OM685081–OM685085), выделенных из пшеницы в Казахстане, имели сходство 99.5% с последовательностью референсного штамма *N. oryzae* CBS 113884, тогда как с последовательностью ITS типового штамма *N. gorlenkoana* CBS 480.73 (KX986048) сходство было выше и составило 99.8%. Таким образом, можно предположить, что штаммы *Nigrospora* KT429637 и OM685081–OM685085, выделенные из зерновых культур в Казахстане, также относятся к виду *N. gorlenkoana*.

В нашем исследовании, один штамм *Nigrospora* sp. MFG 70052, выделенный из стебля тростника в Приморском крае, на основании филогенетического анализа и совокупности морфологических признаков, представлял собой отдельную генетическую линию, являющуюся сестринской виду *N. chinensis* и, по всей видимости, представляющий собой новый вид *Nigrospora*. Ранее, среди представителей рода *Nigrospora* были выявлены два штамма LC 2725 и LC 6704, ассоциированные соответственно с растениями *Symplocos zizyphoides* Stapf и *Camellia sinensis* (L.) Kuntze из Китая, которые в результате филогенетического анализа были выделены в отдельные генетические линии (Wang *et al.*, 2017). Позднее, штамм LC 6704 совместно со штаммом, выделенным из *Magnolia lilifera* (L.) Baill., был описан как новый для науки вид *N. magnoliae* N.I. de Silva, Lumyong & K.D. Hyde (de Silva *et al.*, 2021). Очевидно, что существующее видовое разнообразие рода *Nigrospora* требует дальнейшей инвентаризации.

Штамм MFG 70050 был охарактеризован нами как *A. arundinis* – представитель рода *Arthrimum*, филогенетически и морфологически близкого к роду *Nigrospora* (Нао *et al.*, 2020) Обнаружение этого вида на различных субстратах в России (Московская, Тверская области и о. Кунашир) документально подтверждено (http://www.sevin.ru/collections/microcoll/vkm_coll/fungi4.html).

Оценка роста штаммов *N. gorlenkoana* на среде Чапека при температуре от 10 до 30°C показала, что диапазон 15–25°C является оптимальным для накопления биомассы грибов, что, вероятно, обуславливает наблюдаемое повсеместное распространение грибов рода *Nigrospora* в природе. Также выявлено, что pH культуральной жидкости штаммов увеличивалась до 6.3 по сравнению с pH исходной среды 5.5. Ранее для штамма *Nigrospora* sp. NIOT, выделенного из морской воды, были выявлены сходные оптимальные условия для роста на жидкой картофельно-глюкозной среде – температура 20–30°C и pH 6.0–8.0 (Arumugam *et al.*, 2015), а для штамма *N. aurantiaca* CMU-A109, являющегося эндофитом *Cinnamomum verum* J.Presl, оптимальными для накопления биомассы являлись 25–27°C и pH среды 6–9 (Suwannarach *et al.*, 2019).

В данном исследовании наблюдалась неспособность отдельных штаммов *N. gorlenkoana*, выделенных из зерна пшеницы, активно расти как на ЧА, так и в жидкой среде Чапека, в отличие от богатых питательных сред КСА и ОА, что предполагает их ауксотрофность – неспособность синтезировать определенные органические соединения, необходимые для их роста. Зависимость роста некоторых штаммов гриба *N. oryzae* от присутствия в среде биотина и еще одного неустановленного вещества была продемонстрирована ранее (Allam, Yusef, 1974).

Анализируемые штаммы *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* MFG 70050 вызывали заметное уменьшение длины проростков пшеницы и ячменя. Штамм *A. arundinis* MFG 70050 был сравнительно более агрессивным по отношению к пшенице, чем к ячменю. Ранее грибы *Arthrimum*, в т. ч. *A. arundinis*, уже выявляли на зерновых культурах, и было показано их негативное влияние на качество зерна пшеницы и ячменя (Martínez-Cano *et al.*, 1992; Mavragani *et al.*, 2007).

Информация о патогенности грибов рода *Nigrospora* в отношении злаков преимущественно относится к штаммам *N. oryzae* и *N. sphaerica*, тогда как о вредоносности гриба *N. gorlenkoana* доступные данные отсутствуют. В исследовании Бозоглу с соавтр. (Bozoğlu *et al.*, 2022) пять штаммов *N. oryzae* оказались патогенными в отношении проростков пшеницы при инокуляции суспензией конидий, однако агрессивность была невысокой, средний балл поражения составил 1.56 по 5-балльной шкале. Также при раскладывании семян пшеницы на поверхность колоний *N. oryzae* на проростках развивались некрозы (Eken *et al.*, 2016). Гриб *N. sphaerica* вызывал поражение проростков и развитие пятнистости листьев злаковых растений (Cui *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2019). Причем, симптомы заболевания, вызываемого *N. sphaerica*, проявлялись на листьях *Cenchrus purpu-*

reus Schumach. всех возрастов, однако молодые листья были более восприимчивы (Han *et al.*, 2019). Выявлена высокая агрессивность *N. sphaerica* в отношении проростков сахарного тростника, тогда как взрослые растения оказались невосприимчивы в условиях искусственной инокуляции: авторы предполагают передачу инфекции с семенами (Cui *et al.*, 2017). В тоже время, несмотря на способность грибов рода *Nigrospora* вызывать заболевания растений, некоторые из них могут обитать в растениях эндофитно (Wang *et al.*, 2017).

Возможности, представляемые системным подходом к установлению таксономического статуса организма, могут быть успешно использованы для решения многих прикладных задач. В связи с выявлением грибов рода *Nigrospora* в микобиоте различных растений необходимо продолжить установление и уточнение видового разнообразия грибов этого рода и описания их свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Грибы рода *Nigrospora* были обнаружены в 45.8% анализированных образцов пшеницы, ячменя и овса, выращенных в шести федеральных округах России. Филогенетический анализ ДНК штаммов, выбранных случайным образом, выявил принадлежность 14 штаммов к виду *N. gorlenkoana*, тогда как один штамм представлял собой отдельную филогенетическую линию, а еще один был отнесен к виду *A. arundinis*. Включение в исследование штаммов грибов широкого географического происхождения позволяет утверждать, что вид *N. gorlenkoana* является типичным представителем микобиоты злаковых культур в России.

Штаммы *N. gorlenkoana* и *A. arundinis* оказывали негативное влияние на семенные качества зерна пшеницы и ячменя. В дальнейшем требуется установление видового состава грибов рода *Nigrospora*, ассоциированных с различными как однодольными, так и двудольными растениями, выявление их вредоносности, а также мест сохранения во внешней среде и распространения инфекционного начала.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-30005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гагкаяева Т.Ю. Фитопатогенный гриб *Fusarium cerealis* на территории России // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. № 4. С. 331–342.

- Матвиенко Е.В., Кинчарова М.Н. Фитосанитарная экспертиза семян сорго зернового // Современная микология в России. 2020. Т. 8. № 1. С. 337–338.
- Новобранова Т.И. Новые виды несовершенных грибов из Алма-Атинской области // Новости систематики низших растений. 1972. Т. 9. С. 180–187.
- Рубежняк И.Г. Оценка потенциала синтеза биологически активных веществ штаммами микроскопических грибов // Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты. 2013. Т. 8. С. 7–11.
- Abdullah S., Atrosh H. New records of fungi on wheat grains from Iraq // Sci. J. Univ. Zakho. 2014. V. 2. P. 256–265.
- Aghyl H., Mehrabi-Koushki M., Esfandiari M. New records of the fungal species associated with insects in Iran // J. Appl. Res. Plant Prot. 2022. V. 11. P. 61–79.
- Allam M.E., Yusef H.M. Biotin deficiency in *Nigrospora oryzae* // Mycopathol. Mycol. Appl. 1974. V. 52. P. 65–74.
- Arumugam G., Srinivasan S., Joshi G., Gopal D., Ramalingam K. Production and characterization of bioactive metabolites from piezotolerant deep sea fungus *Nigrospora* sp. in submerged fermentation // J. Appl. Microbiol. 2015. V. 118. P. 99–111.
- Bozoglul T., Dervis S., Imren M., Amer M., Özdemir F., Paulitz T.C., Morgounov A., Dababat A.A., Özer G. Fungal pathogens associated with crown and root rot of wheat in Central, Eastern, and Southeastern Kazakhstan // J. Fungi. 2022. V. 8. 417.
- Carbone I., Kohn L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes // Mycologia. 1999. V. 91. P. 553–556.
- Crous P.W., Carnegie A.J., Wingfield M.J., Sharma R., Mughini G., Noordeloos M.E., Santini A., Shouche Y.S., Bezerra J.D.P., Dima B. et al. Fungal planet description sheets: 868–950 // Persoonia. 2019. V. 42. P. 291–473.
- Crous P.W., Lombard L., Sandoval-Denis M., Seifert K.A., Schroers H.-J., Chaverri P., Gené J., Guarro J., Hirooka Y., Bensch K. et al. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell // Stud. Mycol. 2021. V. 98. P. 1–184.
- Cui Y., Wu B., Peng A., Li Z., Ling J., Xiaobing S. First report of *Nigrospora* leaf blight on sugarcane caused by *Nigrospora sphaerica* in China // Plant Dis. 2017. V. 102. P. 824.
- Eken C., Spanbayev A., Tulegenova Z., Yechshzhanov T. First report of *Nigrospora oryzae* on wheat in Kazakhstan // Plant Dis. 2016. V. 100. P. 861.
- Han Y.Z., Fan Z.W., Wu C.F., Li M.Y., Zhou D.D. First report of *nigrospora* leaf blight on elephant grass caused by *Nigrospora sphaerica* in China // Plant Dis. 2019. V. 103. P. 2681.
- Hao Y., Aluthmuhandiram J.V.S., Chethana K.W.Th., Manawasinghe I.S., Li X., Liu M., Hyde K.D., Phillips A.J.L., Zhang W. *Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China // Mycobiology. 2020. V. 48. P. 169–183.
- Harwooda J.S., Cutler H.G., Jacyno J.M. *Nigrosporolide*, a plant growth-inhibiting macrolide from the mould *Nigrospora sphaerica* // Nat. Prod. Lett. 1995. V. 6. P. 181–185.

- Jankowiak R., Stepniewska H., Bilański P., Taerum S. Fungi as potential factors limiting natural regeneration of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in mixed-species forest stands in Poland // Plant Pathol. 2022. V. 71. P. 805–817.
- Kim J.-C., Choi G.J., Park J.-H., Kim H.T., Cho K.Y. Activity against plant pathogenic fungi of phomalactone isolated from *Nigrospora sphaerica* // Pest. Manag. Sci. 2001. V. 57. P. 554–559.
- Krulj J., Bočarov-Stančić A., Krstović S., Igor J., Kojic J., Tomić A., Bodroža-Solarov M. Mycobiota on common wheat (*Triticum aestivum*) and spelt (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) grains from the region of Vojvodina in 2015 // Food Feed Res. 2016. V. 43. P. 1–8.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
- Levic J., Stanković S., Krnjaja V., Tančić Živanov S., Ivanovic D., Bočarov-Stančić A. Relationships of mycobiota on rachides and kernels of wheat // Eur. J. Plant Pathol. 2012. V. 134. P. 149–256.
- Lord E., Leclercq M., Boc A., Diallo A.B., Makarenkov V. Armadillo 1.1: An original workflow platform for designing and conducting phylogenetic analysis and simulations // PLoS ONE. 2012. V. 7. e29903.
- Martínez-Cano C., Grey W.E., Sands D.C. First report of *Arthrimum arundinis* causing kernel blight on barley // Plant Dis. 1992. V. 76. P. 1077.
- Mason E.W. On species of the genus *Nigrospora* Zimmermann recorded on monocotyledons // Trans. Br. Mycol. Soc. 1927. V. 12. P. 152–165.
- Mavragani D.C., Abdellatif L., McConkey B., Hamel C., Vujanovic V. First report of damping-off of durum wheat caused by *Arthrimum sacchari* in the semi-arid Saskatchewan fields // Plant Dis. 2007. V. 91. P. 469.
- Meepagala K.M., Becnel J.J., Estep A.S. Phomalactone as the active constituent against mosquitoes from *Nigrospora sphaerica* // Agricultural Sci. 2015. V. 6. P. 1195–1201.
- Moya-Elizondo E., Arismendi N., Castro M.P., Doussoulin H. Distribution and prevalence of crown rot pathogens affecting wheat crops in southern Chile // Chil. J. Agric. Res. 2015. V. 75. P. 78–84.
- O'Donnell K., Cigelnik E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous // Mol. Phylogenet. Evol. 1997. V. 7. P. 103–116.
- Oh S.-Y., Yang J.H., Woo J.-J., Oh S.-O., Hur J.-S. Diversity and distribution patterns of endolichenic fungi in Jeju island, South Korea // Sustainability. 2020. V. 12. 3769.
- Pan X.-X., Yuan M.-Q., Xiang S.-Y., Ma Y.-M., Zhou M., Zhu Y.-Y., Yang M.-Z. The symbioses of endophytic fungi shaped the metabolic profiles in grape leaves of different varieties // PLoS ONE. 2020. V. 15. e0238734.
- Ramesha K.P., Mohana N. C., Nuthan B.R., Rakshith D., Satish S. Antimicrobial metabolite profiling of *Nigrospora sphaerica* from *Adiantum philippense* L. // J. Genet. Eng. Biotechnol. 2020. V. 18. P. 66.
- Rashmi M., Kushveer J., Sarma V. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity // Mycosphere. 2019. V. 10. P. 798–1079.
- Rathod D.P., Dar M.A., Gade A.K., Rai M.K. Griseofulvin producing endophytic *Nigrospora oryzae* from Indian *Emblca officinalis* gaertn: a new report // Austin. J. Biotechnol. Bioeng. 2014. V. 1. P. 5.
- Raza M., Zhang Z.F., Hyde K.D., Diao Y.-Z., Cai L. Culturable plant pathogenic fungi associated with sugarcane in southern China // Fun. Div. 2019. V. 99. P. 1–104.
- Shabana Y.M., Rashad Y.M., Ghoneem K.M., Arafat N.S., Aseel D.G., Qi A., Richard B., Fitt B.D.L. Biodiversity of pathogenic and toxigenic seed-borne mycoflora of wheat in Egypt and their correlations with weather variables // Biology. 2021. V. 10. P. 1025.
- Sharma P., Meena P.D., Chauhan J.S. First report of *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch causing stem blight on *Brassica juncea* in India // J. Phytopathol. 2013. V. 161. P. 439–441.
- de Silva N., Maharachchikumbura S., Thambugala K., Bhat D.J., Karunarathna S., Tennakoon D., Phookamsak R., Jayawardena, R., Lumyong S., Hyde K. Morphomolecular taxonomic studies reveal a high number of endophytic fungi from *Magnolia candolli* and *M. garrettii* in China and Thailand // Mycosphere. 2021. V. 12. P. 163–237.
- Starratt A.N., Loschiavo S.R. The production of aphidicolin by *Nigrospora sphaerica* // Can. J. Microbiol. 1974. V. 20. P. 416–417.
- Suwannarach N., Kumla J., Nishizak, Y., Sugimoto N., Meerak J., Matsui K., Lumyong S. Optimization and characterization of red pigment production from an endophytic fungus, *Nigrospora aurantiaca* CMU-ZY2045, and its potential source of natural dye for use in textile dyeing // Appl. Microbiol. Biotech. 2019. V. 103. P. 6973–6987.
- Sun X.-P., Xu Y., Cao F., Xu R.-F., Zhang X.-L., Wang C.-Y. Isoechinulin-type alkaloids from a soft coral-derived fungus *Nigrospora oryzae* // Chem. Natural Compoun, 2014. V. 50. P. 1153–1155.
- Waill A.E., Ghoson M.D. Chemical and bioactive metabolites of *Humicola* and *Nigrospora* secondary metabolites // J. Pharmaceutics and Pharmacology Res. 2022. V. 5. P. 1.
- Wang M., Liu F., Crous P.W., Cai L. Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens // Persoonia. 2017. V. 39. P. 118–142.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR Protocols: a guide to methods and applications / Eds Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. N.Y.: Academic Press, 1990. P. 315–322.
- Wright E.R., Folgado M., Rivera M.C., Crelier A., Vasquez P., Lopez S.E. *Nigrospora sphaerica* causing leaf spot and twig and shoot blight on blueberry: a new host of the pathogen // Plant Dis. 2008. V. 92. P. 171.
- Wu Z., Xie Z., Wu M., Li X., Li W., Ding W., She Z., Li C. New antimicrobial cyclopentenones from *Nigrospora sphaerica* ZMT05, a fungus derived from *Oxya chinensis* Thunber // J. Agricultural Food Chem. 2018. V. 66. P. 5368–5372.
- Zhang Q.H., Tian L, Zhou L.D., Zhang Y., Li Z.F., Hua H.M., Pei Y.H. Two new compounds from the marine *Nigrospora sphaerica* // J. Asian Nat. Prod. Res. 2009. V. 11. P. 962–966.

Physiological and Biochemical characters of *Nigrospora gorlenkoana* Novobr. Occurring on Cereals

A. S. Orina^{1, #}, O. P. Gavrilova¹, and T. Yu. Gagkaeva¹

¹All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, 196608 Russia

[#]e-mail: orina-alex@yandex.ru

The ubiquitous distribution of *Nigrospora* fungi in the mycobiota of cereal grain in Russia has been established. Fourteen *Nigrospora* strains using phylogenetic analysis of ITS, *tub*, and *TEF* loci were identified as *N. gorlenkoana*, first identified in Russia. Morphological characteristics of *N. gorlenkoana* strains were analyzed on various nutrient media. A wide temperature range of 15–25°C was optimal for growth of *N. gorlenkoana* strains. This probably contributes to the wide distribution of *N. gorlenkoana* in nature. The pathogenicity of *N. gorlenkoana* strains to cereal crops was shown. The fungal strains reduced length of wheat and barley seedlings on average 48% and 39% compared to the control, respectively.

Keywords: cereals, fungi, phylogeny, pathogenicity