

Проблема фузариоза зерна в Зауралье: ретроспектива исследований и современная ситуация

О. П. Гаврилова¹, А. С. Орина¹, Н. Н. Гогина², Т. Ю. Гагкаева^{1✉}

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

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

✉ E-mail: t.gagkaeva@mail.ru

Аннотация. Исследование направлено на выявление контаминации грибами и микотоксинами зерна овса, пшеницы и ячменя, выращенного в четырех областях Зауралья (Курганской, Свердловской, Тюменской, Челябинской) в 2017–2018 гг. **Методы.** Зараженность зерна анализировали с помощью традиционных микологических методов; содержание ДНК токсинопродуцирующих грибов определяли методом количественной ПЦР; присутствие в зерне токсичных вторичных метаболитов грибов выявили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. **Результаты.** В анализированных образцах зерна идентифицировано не менее 10 видов *Fusarium*, среди которых преобладали *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum sensu lato* и *F. poae*. Уточнены ареалы нетипичных для территории Зауралья видов: *F. graminearum*, обнаруженного в 14 % образцов повсеместно, и *F. langsethiae*, выявленного в трех образцах из Свердловской области. Частота обнаружения ДНК вида *F. poae* в зерне составила 48 % образцов, ДНК *F. avenaceum* – 39 %, ДНК *F. sporotrichioides* – 30 %, ДНК *F. graminearum* – 29 %. Диапазоны содержания микотоксинов в анализированном зерне существенно варьировали в зависимости от типа культуры и происхождения образцов: в одном образце могло присутствовать от одного до семи фузариотоксинов. Наиболее часто встречались Т-2 и НТ-2 токсины (суммарно 59 % образцов), боверицин (34 %) и дезоксиниваленол (25 %). В образце ячменя из Челябинской области выявлено превышение ПДК Т-2 токсина в 26 раз. **Научная новизна.** Впервые приведена информация о встречаемости и количествах редко анализируемых микотоксинов – монилформина и боверицина. Выявлены достоверные положительные связи между содержанием ДНК доминирующих видов грибов *Fusarium* и их основных микотоксинов в зерне.

Ключевые слова: зерновые культуры, *Fusarium*, зараженность, ДНК, количественная ПЦР, микотоксины, ВЭЖХ-МС/МС.

Для цитирования: Гаврилова О. П., Орина А. С., Гогина Н. Н., Гагкаева Т. Ю. Проблема фузариоза зерна в Зауралье: ретроспектива исследований и современная ситуация // Аграрный вестник Урала. 2020. № 07 (198). С. 29–40. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-198-7-29-40.

Дата поступления статьи: 11.05.2020.

Постановка проблемы (Introduction)

Производство зерновых культур, которые занимают в структуре посевных площадей наибольший удельный вес (около 63 %), является важной отраслью сельского хозяйства Уральского региона. Качество выращиваемого зерна определяется набором критериев, важнейшим из которых является его микотоксикологическая чистота.

В зерне сельскохозяйственных культур обитают микроскопические грибы, относящиеся к различным таксономическим группам, которые успешно выживают и существуют в часто контрастных природно-экологических условиях. Среди них одними из основных представителей микобиоты зерновых культур являются грибы *Fusarium* Link, которые оказывают существенное влияние на урожайность и качество зерна.

Интерес к фузариозу зерна в Уральском регионе связан с тем, что данная территория навсегда вошла в историю мировой микотоксикологии из-за массового выявле-

ния заболевания людей и животных алиментарно-токсической алейкией или септической ангиной (АТА) в 1930–1940 гг. Особо тяжелые случаи были зарегистрированы в Оренбургской области (ранее Чкаловская), Свердловской области, Башкирии, Алтайском крае и др., где констатировали массовую гибель людей и животных в результате отравлений от употребляемого в пищу плесневелого или перезимовавшего на необработанных полях зерна [1, с. 27]. Микологический анализ 107 образцов перезимовавших злаков выявил свыше 83 видов грибов, среди которых доминировали грибы *Fusarium*, зараженность зерна пшеницы которыми достигала 43 %. Причиной микотоксикоза являлся гриб *F. sporotrichioides* Sherb., доля которого в составе микобиоты не превышала 8,5 % [1, с. 48]. Однако данный гриб продуцирует Т-2 и НТ-2 токсины, которые являются одними из наиболее опасных для теплокровных организмов [2, с. 43]. Более поздние исследования токсикологической чистоты зерна, выращенного в Уральском

регионе, неоднократно выявляли его загрязнение Т-2 токсином, а также другими микотоксинами, образуемыми грибами *Fusarium* [3, с. 4], [4, с. 84].

Исследования видового состава грибов рода *Fusarium*, встречающихся на зерновых культурах в Уральском регионе, показывает наличие и достаточную изученность проблемы зараженности зерна. Микологический анализ 445 зерновых проб из Уральского региона (1985–2002 гг.) позволил установить, что доминирующими видами являются *F. poae* (Peck) Wollenw. и *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. [5, с. 279]. Анализ 60 проб сена и соломы из Челябинской области выявил присутствие в них не менее шести видов фузариевых грибов, и в 90 % проб *F. sporotrichioides* был обнаружен либо как единственный вид, либо вместе с другими, но, как правило, он преобладал [6, с. 940]. Среди доминирующих видов рода *Fusarium* в зерне ячменя из Восточного Зауралья были также отмечены *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., комплекс видов *F. oxysporum* Schltdl., *F. equiseti* (Corda) Sacc., из которых *F. sporotrichioides* был наиболее распространенным [7, с. 37]. В период 2012–2018 гг. ежегодный анализ фитосанитарного состояния семян яровой пшеницы методом влажных рулонов показал, что все партии зерна инфицированы грибами *Fusarium*, и зараженность отдельных партий составляла 60–70 % [8, с. 21]. Видовой состав *Fusarium* в порядке убывания частоты встречаемости был представлен: *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. solani* (Mart.) Sacc., *F. avenaceum* и др.

Видовая идентификация грибов *Fusarium* в отсутствие четких морфологических границ признаков между видами представляет сложную задачу. Внедрение методов молекулярно-генетического анализа, таких как количественная ПЦР (кПЦР), не только значительно упрощает и повышает скорость анализа инфицированности зерна, но и позволяет проводить объективное сравнение представленности в зерне разных видов грибов по их биомассе, выраженной через содержание ДНК [9, с. 84], [10, с. 463], [11, с. 990]. В последние годы данный метод начал активно внедряться в мониторинговые исследования, проводимые на территории нашей страны [3, с. 10], [12, с. 19].

Анализируя видовой состав микобиоты зерна, можно прогнозировать присутствие определенных микотоксинов, поскольку токсинообразование у грибов имеет четко выраженный видоспецифичный характер [13, с. 76]. К наиболее опасным вредоносным видам рода *Fusarium*, влияющим как на семенные качества, так и на пищевые/кормовые качества зерна, относят *F. avenaceum*, *F. graminearum* Schwabe, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae* Torp & Nirenberg, *F. poae*, *F. tricinctum* (Corda) Sacc.

Зерно, зараженное токсинопродуцирующими грибами, обязательно должно проверяться на загрязнение микотоксинами. В России, согласно нормативным документам, установлены предельно допустимые количества (ПДК) для микотоксинов, образуемых грибами *Fusarium*. В про-

довольственном зерне содержание Т-2 токсина не должно превышать 100 мкг/кг, ДОН – 700–1000 мкг/кг, ЗЕН – 200–1000 мкг/кг, а фумонизина (только для зерна сырой кукурузы на пищевые цели) – 4000 мкг/кг¹.

Исследование качества зерна и кормов в Уральском регионе выявило контаминацию 47 % образцов микотоксинами грибов *Fusarium* в 2007 г. и 31 % образцов – в 2008 г. [14, с. 89]. По данным других исследователей, средняя частота обнаружения Т-2 токсина в зерне составила 36,3 % при наиболее широком распространении в Челябинской (69,4 %), Свердловской (46,2 %) и Курганской областях (49,0 %). Анализ загрязненности микотоксинами образцов фуражного зерна в 2002–2006 гг. из отдельных областей Уральского региона выявил, что Т-2 токсин встречался в 70 % образцов в количествах 10–100 мкг/кг, один образец из Курганской области оказался положительным по ДОН (730 мкг/кг), а ЗЕН в образцах отсутствовал; также было показано, что овес подвержен контаминации Т-2 токсином в большей степени, чем другие зерновые культуры [4, с. 84].

Большинство мониторинговых исследований по определению загрязненности зерна микотоксинами проводят с помощью иммуноферментного анализа, который имеет ограничения по числу выявляемых метаболитов. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) позволяет получить информацию о широком спектре метаболитов, но из-за дороговизны оборудования и аналитических стандартов ограничено используется для скрининга микотоксинов в растительных образцах.

Цель исследования – выявление зараженности грибами *Fusarium* и контаминации микотоксинами зерна, полученного в 2017–2018 г. из четырех областях Зауралья.

Методология и методы исследования (Methods)

Материалом для исследований являлись 56 образцов зерна урожая 2017–2018 гг., из которых 36 – зерно яровой пшеницы, 14 – ячменя, 5 – овса. Средние образцы зерна были получены из Щучанского района Курганской области (2 шт.), Исетского района Тюменской области (4 шт.), трех районов (Алапаевского, Белоярского и Пышминского) Свердловской области (11 шт.) и 10 районов (Варненского, Октябрьского, Чесменского, Еткульского, Кизильского, Красноармейского, Сосновского, Троицкого, Уйского, Чебаркульского) Челябинской области (39 шт.).

Оценку зараженности грибами и определение всхожести зерна проводили по описанным ранее методикам, а таксономическую принадлежность выросших микромицетов определяли по сумме макро- и микроморфологических признаков [13, с. 108–111]. Зараженность зерна определенным таксоном рассчитывали как отношение числа зерен, из которых были выделены грибы данного таксона, к общему числу анализируемых зерен, выраженное в процентах. Долю вида в комплексе видов *Fusarium* определяли как отношение числа зерен, зараженных определенным видом *Fusarium* к числу зерен, зараженных грибами *Fusarium*.

Зерно каждого образца (20 г) гомогенизировали в стерильных контейнерах на мельнице Tube Mill Control (ИКА, Германия). Размолотую муку хранили при –20 °С.

¹ Технический регламент Таможенного союза 015/2011 «О безопасности зерна» с изменениями на 15 сентября 2017 г. Приложение № 2. Технический регламент Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» с изменениями от 8 августа 2019 г. Приложение № 3.

Выделение ДНК из 200 мг зерновой муки, а также из активно растущего мицелия типовых штаммов *Fusarium* из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР проводили с помощью набора для выделения геномной ДНК (Thermo Fisher Scientific, Литва) по протоколу производителя.

Концентрацию выделенной ДНК из муки и штаммов определяли, используя флуориметр Qubit 2.0 с набором реагентов Quant-iT dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). ДНК штаммов грибов разбавляли до концентрации 10 нг/мл и использовали для построения калибровочных кривых в десятикратных последовательных разведениях от 10^{-1} до 10^{-6} нг/мкл. ДНК из образцов муки разводили до концентрации в диапазоне 2–50 нг/мкл.

Содержание ДНК гриба *F. sporotrichioides* в зерновой муке определяли методом количественной ПЦР (кПЦР) с красителем SYBR Green, а содержание ДНК *F. avenaceum sensu lato*, *F. graminearum* и *F. poae* – методом кПЦР с пробамии TaqMan [3, с. 10], [9, с. 81], [11, с. 988]. Амплификацию проводили на термоциклере CFX96 Real-Time System (BioRad, США), обработку первичных данных – с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager 1.6.

Количество ДНК грибов выражали в виде доли от общей ДНК, выделенной из зерновой муки (пг/пг общей ДНК, сокращенно – пг/пг). Нижний достоверный предел выявления содержания ДНК грибов в пробе общей ДНК, выделенной из образца муки, установлен на уровне 5×10^{-4} пг/пг.

Экстрагирование вторичных метаболитов грибов проводили, добавляя к 5 г навески зерновой муки 20 мл раствора ацетонитрила, воды, уксусной кислоты в соотношении 79:20:1. Детектирование и количественное определение микотоксинов выполняли методом высокоэффективной 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), согласно методике ГОСТ¹. Хроматографическое разделение проводили при 25 °С на колонке Gemini® C18, 150×4,6 мм (Phenomenex, США). Степень извлечения микотоксинов из зерна составляла от 79 до 105 %.

В экстрактах анализировали содержание 19 микотоксинов, образуемых грибами *Fusarium*: трихотеценовых микотоксинов (Т-2 и НТ-2 токсинов, Т-2 триола, неосолапиола (НЕО), диацетоксисцирпенола (ДАС), ниваленола (НИВ), фузаренона-Х, дезоксиниваленола (ДОН), ДОН-3-глюкозида, 3-ацетатДОН, 15-ацетатДОН), зеараленола (ЗЕН), α -ЗЕН и β -ЗЕН, фумонизинов В1, В2, и В3, мониформина (МОН) и боверицина (БОВ).

Программу Microsoft Excel 2010 использовали для расчета средних значений, доверительного интервала при уровне значимости $p < 0,05$ и визуализации полученных результатов. В программе STATISTICA 10.0 проводили дисперсионный анализ данных и расчет корреляционных связей между признаками через линейный коэффициент Пирсона (r) при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты (Results)

Инфицированность зерна грибами Fusarium, их видовой состав. Грибы *Fusarium* выявлены в 100 % образцов зерна из Курганской (диапазон зараженности составил 2–12 %), Свердловской (6–47 %) и Тюменской (10–30 %) областей. Эти грибы также были обнаружены в большинстве образцов из Челябинской области (67 %), зараженность которых составляла от 1 до 23 %. Установлены различия средней зараженности грибами *Fusarium* зерна разных культур: в среднем зараженность зерна образцов овса и ячменя ($10,4 \pm 4,2$ % и $9,7 \pm 3,8$ % соответственно) была выше по сравнению с зараженностью зерна пшеницы ($5,6 \pm 1,4$ %). Независимо от типа зерновой культуры самая низкая зараженность грибами *Fusarium* отмечена в Челябинской области. Тогда как средняя зараженность грибами *Fusarium* образцов из Свердловской области была относительно высокой и варьировала в пределах 12,5–27,3 %, достигая 47 % (ячмень, Пышминский район).

Видовая идентификация изолятов *Fusarium*, выделенных из зерна, позволила выявить не менее 10 видов, из которых чаще остальных встречались *F. sporotrichioides* (61 % образцов), *F. avenaceum sensu lato* (45 %), *F. poae* (29 %) и *F. tricinctum* (21 %).

Выявленная максимальная зараженность зерна *F. sporotrichioides* составила 35 % (ячмень из Пышминского района Свердловской области), *F. avenaceum sensu lato* – 21 % (пшеница из Исетского района Тюменской области), *F. poae* – 19 % (пшеница из Пышминского района Свердловской области). Средняя зараженность зерна *F. tricinctum* не превышала 4 % (пшеница из Белоярского района Свердловской области).

Гриб *F. graminearum* выявлен в 14 % всех анализированных образцов, с наибольшей зараженностью 5 % зерна пшеницы из Челябинской области. Вид *F. langsethiae* найден только в Свердловской области в зерне двух образцов овса и пшеницы, а зараженность зерна этим видом составила 3 и 1 % соответственно. Также единично в образцах пшеницы были отмечены *F. acuminatum* Ellis & Everh., *F. globosum* Rheeder, Marasas & P.E. Nelson и *F. semitectum* Berk. & Ravenel, а в образцах ячменя – *F. equiseti*. Доли основных представителей грибов рода *Fusarium* приведены на рис. 1.

Количество ДНК грибов Fusarium в зерне. ДНК *F. avenaceum* обнаружена в 39 % образцов, ДНК *F. graminearum* – в 29 %, ДНК *F. poae* – в 48 %, ДНК *F. sporotrichioides* – в 30 %. При этом по содержанию ДНК грибов *Fusarium* в зерне разных культур были выявлены различия (таблица 1). В образцах овса и ячменя чаще выявляли ДНК *F. poae* – в 80 % и 73 % образцов, реже *F. avenaceum* – в 60 и 47 % и *F. graminearum* – в 40 и 20 % соответственно. Частота обнаружения ДНК разных видов *Fusarium* в зерне пшеницы была сходной: ДНК *F. sporotrichioides* выявили в 39 % образцов, *F. avenaceum* и *F. poae* – в 33 %, а *F. graminearum* – в 31 %. Влияние вида зерновой культуры на количества ДНК грибов *Fusarium* было достоверным только в случае *F. sporotrichioides*.

Распределение содержания ДНК видов *Fusarium* в зерне из разных областей также оказалось неравномерным. Влияние происхождения образцов на количества

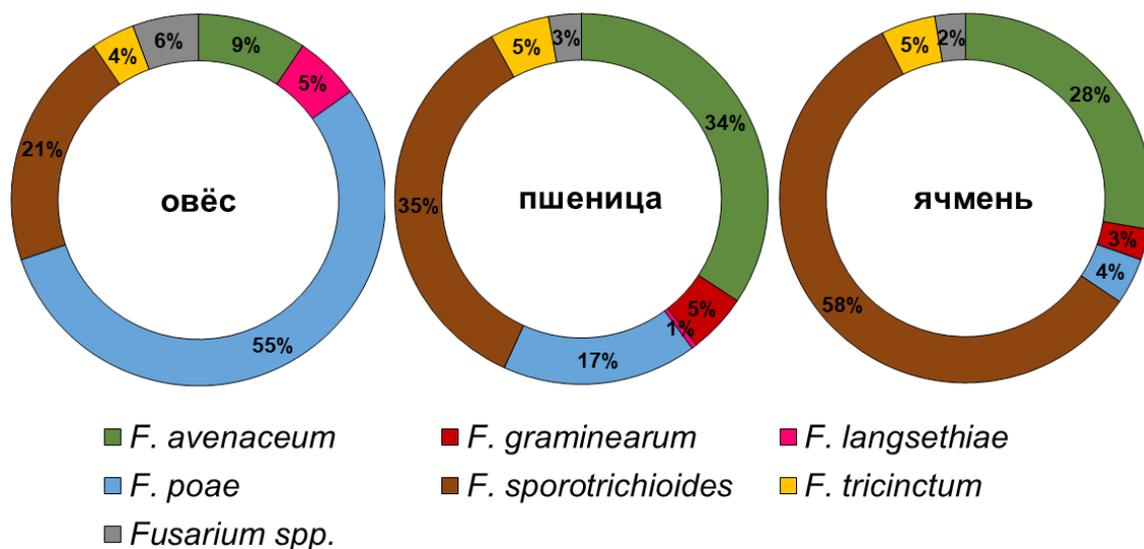


Рис. 1. Видовой состав грибов рода *Fusarium*, выявленных в зерне образцов из различных областей Зауралья, 2017–2018 гг.

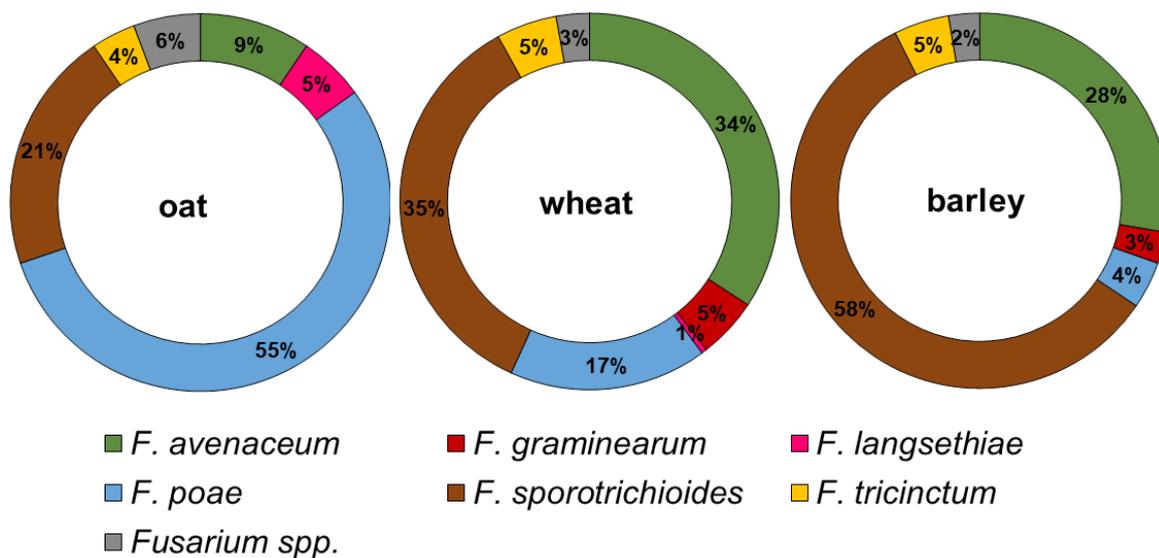


Fig. 1. The species composition of *Fusarium* fungi detected in grain samples from Ural region, 2017–2018

ДНК грибов в зерне было достоверным для *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum* и *F. poae*. Высокие количества ДНК *F. avenaceum* выявлены в зерне ячменя из Свердловской области – в среднем $(115,9 \pm 85,3) \times 10^{-4}$ пг/нг, пшеницы из Тюменской области – $(67,6 \pm 25,2) \times 10^{-4}$ пг/нг. Высокие количества ДНК *F. poae* также обнаружены в зерне из Свердловской области – в среднем $(195,5 \pm 102,2) \times 10^{-4}$ пг/нг для овса, $(315,9 \pm 194,1) \times 10^{-4}$ пг/нг для пшеницы и $(206,4 \pm 106,7) \times 10^{-4}$ пг/нг для ячменя. Наименьшее содержание ДНК *F. poae* – в среднем $(2,1 \pm 2,1) \times 10^{-4}$ пг/нг – выявлено в зерне пшеницы из Тюменской области, но при этом среднее количество ДНК *F. sporotrichioides* в этих образцах было наибольшим – $(223,7 \pm 51,4) \times 10^{-4}$ пг/нг. Максимальное среднее количество ДНК *F. graminearum* обнаружено в зерне пшеницы из Челябинской области – $(98,9 \pm 78,7) \times 10^{-4}$ пг/нг, в то время как в зерне пшеницы из Свердловской области ДНК этого патогена не выявлено вовсе.

Количество вторичных метаболитов грибов *Fusarium* в зерне. Проведенный с помощью ВЭЖХ-МС/МС анализ показал отсутствие микотоксинов грибов рода *Fusarium* в зерне двух образцов ячменя из Уйского и Чебаркульского районов Челябинской области, а также в 28 % образцов зерна пшеницы из Курганской области и разных районов Челябинской области. Из 19 анализированных микотоксинов ни в одном из образцов не обнаружены фузариенон-Х, α -ЗЕН и β -ЗЕН.

В 79 % образцов зерна встречались от одного до семи токсичных метаболитов. Максимальное число различных микотоксинов обнаружено в образце пшеницы из Тюменской области. В целом образцы из Тюменской и Свердловской областей характеризовались большим разнообразием выявленных микотоксинов: кроме трихотеценовых микотоксинов, в их зерне чаще обнаруживали МОН (27 и 75 % образцов соответственно) и БОВ (64 % и 75 %) по сравнению с образцами из двух других областей.

Содержание ДНК грибов *Fusarium* в образцах зерна из различных областей Зауралья, 2017–2018 гг.

Зерновая культура	Область (число образцов)	Процент зараженных образцов / диапазон количества ДНК гриба × 10 ⁻⁴ , пг/пг			
		<i>aven</i> *	<i>gram</i>	<i>poae</i>	<i>spor</i>
Овес	Свердловская (4)	75 / 14,6–56,5	50 / 7,7; 8,2	75 / 30,2–378,0	0
	Челябинская (1)	0	0	41,8	0
	В среднем по овсу	19,3 ± 10,3	3,2 ± 1,9	164,7 ± 84,7	0
Пшеница	Курганская (2)	50 / 32,6	50 / 23,1	50 / 93,4	50 / 6,2
	Свердловская (3)	100 / 5,8–104,9	0	67 / 266,8; 680,9	33 / 30,8
	Тюменская (4)	100 / 13,2–137,3	75 / 5,7–59,4	25 / 8,4	100 / 151,9–379,3
	Челябинская (27)	15 / 7,5–11,2	26 / 6,7–2160,2	30 / 5,5–209,4	30 / 5,9–163,6
	В среднем по пшенице	13,5 ± 5,0	76,8 ± 59,1	41,0 ± 20,3	44,1 ± 13,5
Ячмень	Свердловская (4)	100 / 20,4–376,9	25 / 7,6	100 / 30,3–523,8	25 / 6,5
	Челябинская (11)	30 / 5,2–33,9	18 / 6,7; 30,1	64 / 29,5–433,6	18 / 17,8; 23,6
	В среднем по ячменю	34,1 ± 24,2	3,0 ± 2,0	129,8 ± 42,1	3,2 ± 1,9

Примечание: *aven* – *Fusarium avenaceum*; *gram* – *F. graminearum*; *poae* – *F. poae*; *spor* – *F. sporotrichioides*.

Table 1

The content of DNA of *Fusarium* fungi in grain samples from Ural region, 2017–2018

Cereals	Region (the number of samples)	Percentage of infected samples / the range of fungal DNA amounts × 10 ⁻⁴ , pg/ng			
		<i>aven</i>	<i>gram</i>	<i>poae</i>	<i>spor</i>
Oats	<i>Sverdlovsk</i> (4)	75 / 14.6–56.5	50 / 7.7; 8.2	75 / 30.2–378.0	0
	<i>Chelyabinsk</i> (1)	0	0	41.8	0
	Average in oats	19.3 ± 10.3	3.2 ± 1.9	164.7 ± 84.7	0
Wheat	<i>Kurgan</i> (2)	50 / 32.6	50 / 23.1	50 / 93.4	50 / 6.2
	<i>Sverdlovsk</i> (3)	100 / 5.8–104.9	0	67 / 266.8; 680.9	33 / 30.8
	<i>Tyumen</i> (4)	100 / 13.2–137.3	75 / 5.7–59.4	25 / 8.4	100 / 151.9–379.3
	<i>Chelyabinsk</i> (27)	15 / 7.5–11.2	26 / 6.7–2160.2	30 / 5.5–209.4	30 / 5.9–163.6
	Average in wheat	13.5 ± 5.0	76.8 ± 59.1	41.0 ± 20.3	44.1 ± 13.5
Barley	<i>Sverdlovsk</i> (4)	100 / 20.4–376.9	25 / 7.6	100 / 30.3–523.8	25 / 6.5
	<i>Chelyabinsk</i> (11)	30 / 5.2–33.9	18 / 6.7; 30.1	64 / 29.5–433.6	18 / 17.8; 23.6
	Average in barley	34.1 ± 24.2	3.0 ± 2.0	129.8 ± 42.1	3.2 ± 1.9

Note: *aven* – *Fusarium avenaceum*; *gram* – *F. graminearum*; *poae* – *F. poae*; *spor* – *F. sporotrichioides*.

Сравнение загрязненности микотоксинами разных культур показало, что все 13 выявленных токсичных метаболитов встречались только в зерне образцов пшеницы, в образцах зерна овса и ячменя их разнообразие было ниже – 7 и 8 микотоксинов соответственно (рис. 2).

К редко встречаемым в зерне (не более 2–7 % загрязненных образцов) можно отнести трихотеценовые микотоксины группы А: ДАС (5,1 мкг/кг) и НЕО (3,1–15,2 мкг/кг); трихотеценовые микотоксины группы В: 3-АцДОН

(28,8 мкг/кг), 15-АцДОН (15,9–24,5 мкг/кг) и ДОН-3-глюкозид (20,8–34,2 мкг/кг), а также ЗЕН (2,4 мкг/кг). Встречаемость и диапазоны содержания других семи микотоксинов, обнаруженных в образцах из различных областей Зауралья, приведены в таблице 2.

Наиболее распространенными микотоксинами являлись НТ-2 токсин (59 % загрязненных образцов), БОВ (34 %), Т-2 токсин и ДОН (по 25 %). Сравнение культур показало, что зерно овса было в большей степени конта-

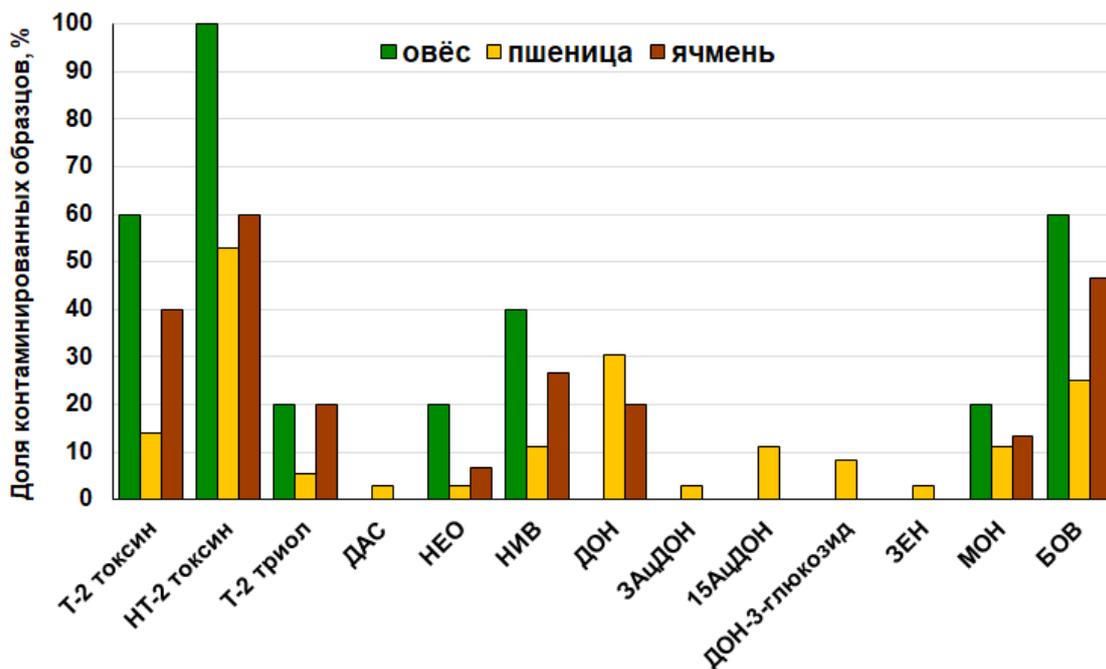


Рис. 2. Встречаемость микотоксинов грибов рода *Fusarium* в образцах зерна из Зауралья, 2017–2018 гг.

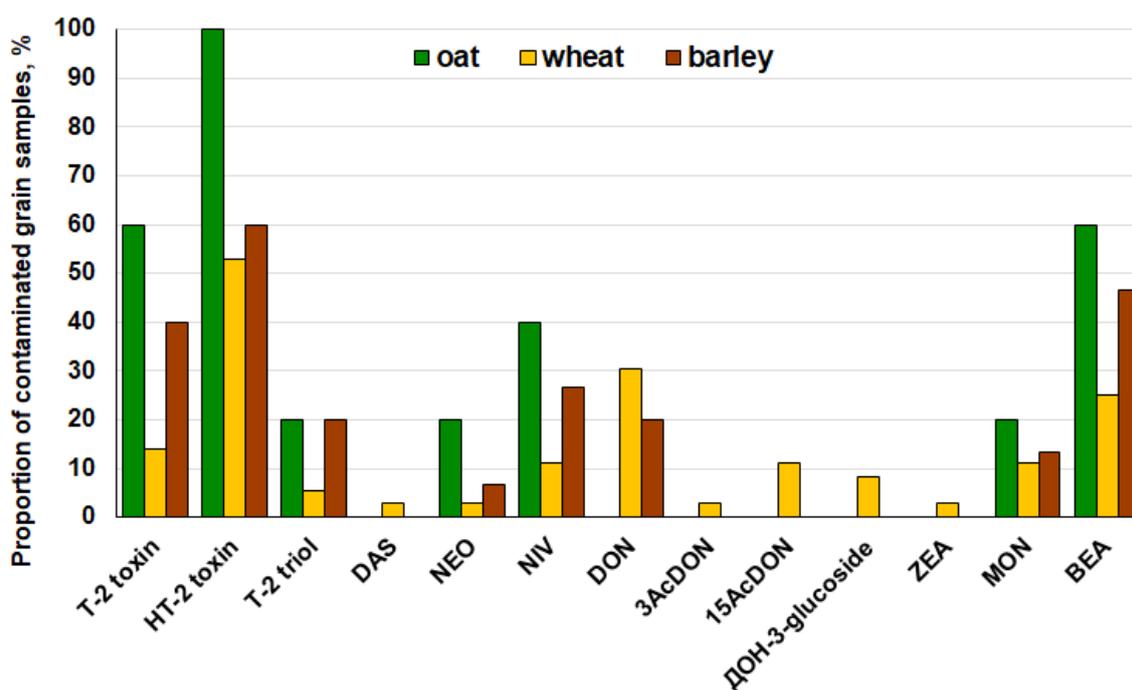


Fig. 2. The occurrence of mycotoxins produced by *Fusarium* fungi in grain samples from Ural region, 2017–2018

минировано трихотеценовыми микотоксинами группы А по сравнению с зерном пшеницы и ячменя. Число загрязненных различными микотоксинами образцов в ряду овес – пшеница – ячмень было следующим (в %): HT-2 токсин 100 – 53 – 60, Т-2 токсин 60 – 14 – 40, Т-2 триол 20 – 6 – 20, НИВ 40 – 14 – 27, МОН 20 – 11 – 13 и БОВ 60 – 25 – 47. В то же время ДОН в зерне овса не обнаружен, тогда как выявлен в 31 % образцов пшеницы и 20 % ячменя.

Из микотоксинов, имеющих установленные в России ПДК, превышение этого показателя было выявлено только

в случае Т-2 токсина. В зерне ячменя из Сосновского района Челябинской области было выявлено 2651,5 мкг/кг, что превышает значение ПДК более чем в 26 раз. Количество HT-2 токсина выше 100 мкг/кг были выявлены чаще: в образцах зерна овса и пшеницы из Свердловской области (109,5 и 147,6 мкг/кг), а также в зерне двух образцов пшеницы и двух ячменя из Челябинской области (129,2–481,3 мкг/кг). Максимальное содержание ДОН составило 413,6 мкг/кг в образце пшеницы из Исетского района Тюменской области, что почти в два раза ниже значения ПДК этого микотоксина.

Количество микотоксинов грибов *Fusarium* в зерне образцов зерновых культур из Зауралья, 2017–2018 гг.

Зерновая культура	Область (число образцов)	Процент образцов загрязненных микотоксинами грибов <i>Fusarium</i> / диапазон количеств, мкг/кг						
		T-2 токсин	HT-2 токсин	T-2 триол	НИВ	ДОН	МОН	БОВ
Овес	Свердловская (4)	50 / 5,6; 62,9	100 / 10,5–109,5	25 / 10,6	50 / 47,3; 110,8	0	25 / 16,9	50 / 23,8; 36,2
	Челябинская (1)	100 / 14,5	100 / 23,4	0	0	0	0	100 / 6,5
Пшеница	Курганская (2)	0	50 / 11,6	0	0	0	0	0
	Свердловская (3)	67 / 17,7; 19,4	67 / 28,0; 147,6	33 / 11,6	67 / 32,6; 119,6	0	33 / 22,9	67 / 18,7; 49,3
	Тюменская (4)	25 / 9,3	100 / 14,2–63,6	0	25 / 9,5	100 / 8,1–413,6	75 / 47,4–112,5	75 / 3,5–5,3
	Челябинская (27)	7 / 18,2; 66,3	44 / 7,7–152,2	4 / 5,7	4 / 7,8	26 / 7,3–309,0	0	15 / 3,6–7,8
Ячмень	Свердловская (4)	75 / 5,9–32,3	100 / 13,2–95,3	25 / 34,6	50 / 9,6; 42,0	0	25 / 50,0	75 / 5,4–11,7
	Челябинская (11)	27 / 6,2–2651,5	45 / 5,8–481,3	18 / 21,9; 59,7	18 / 160,9; 194,3	27 / 18,2–43,7	9 / 6,9	36 / 4,1–30,7

Примечание: НИВ – ниваленол; ДОН – дезоксиниваленол; МОН – монилиформин; БОВ – боверицин.

Table 2

The amounts of mycotoxins produced by *Fusarium* fungi in grain samples from Ural region, 2017–2018

Cereal	Region (the number of samples)	The percentage of samples contaminated with <i>Fusarium</i> mycotoxins / The range of amount, ppb						
		T-2 toxin	HT-2 toxin	T-2 triol	NIV*	DON	MON	BEA
Oats	Sverdlovsk (4)	50 / 5.6. 62.9	100 / 10.5–109.5	25 / 10.6	50 / 47.3; 110.8	0	25 / 16.9	50 / 23.8; 36.2
	Chelyabinsk (1)	100 / 14.5	100 / 23.4	0	0	0	0	100 / 6.5
Wheat	Kurgan (2)	0	50 / 11,6	0	0	0	0	0
	Sverdlovsk (3)	67 / 17.7; 19.4	67 / 28.0; 147.6	33 / 11.6	67 / 32.6; 119.6	0	33 / 22.9	67 / 18.7; 49.3
	Tyumen (4)	25 / 9.3	100 / 14.2–63.6	0	25 / 9.5	100 / 8.1–413.6	75 / 47.4–112.5	75 / 3.5–5.3
	Chelyabinsk (27)	7 / 18.2; 66.3	44 / 7.7–152.2	4 / 5.7	4 / 7.8	26 / 7.3–309.0	0	15 / 3.6–7.8
Barley	Sverdlovsk (4)	75 / 5.9–32.3	100 / 13.2–95.3	25 / 34.6	50 / 9.6; 42.0	0	25 / 50.0	75 / 5.4–11.7
	Chelyabinsk (11)	27 / 6.2–2651.5	45 / 5.8–481.3	18 / 21.9; 59.7	18 / 160.9; 194.3	27 / 18.2–43.7	9 / 6.9	36 / 4.1–30.7

Note: NIV – nivalenol; DON – deoxynivalenol; MON – moniliformin; BEA – beauvericin.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Микологический анализ зерна урожая 2017–2018 гг. из четырех областей Зауралья выявил, что в зерне 77 % образцов присутствовали грибы *Fusarium*, средняя зараженность которыми составила $9,3 \pm 1,7$ %. Полученные результаты показали, что за последние годы список доминирующих видов фузариевых грибов на зерновых культурах в этом регионе России не претерпел существенных изменений. Установлено присутствие в зерне не менее 10

видов *Fusarium*, из которых *F. avenaceum*, *F. poae* и *F. sporotrichioides* были наиболее представленными. В зерне овса доля *F. poae* составила 56 % от всех выделенных изолятов *Fusarium*, в зерне ячменя превалировал *F. sporotrichioides* с долей 59 %, а в зерне пшеницы доли *F. sporotrichioides* и *F. avenaceum* оказались равными – 37 и 36 % соответственно. Впервые в зерне пшеницы из Кизильского района Челябинской области выявлен вид *F. globosum*, единичные находки которого были отмечены ранее в Новосибирской области и Алтайском крае [15, с. 10].

Сочетания высокоточных аналитических методов, таких как кПЦР и ВЭЖХ-МС/МС, позволили выявить связи между первичными (ДНК) и вторичными метаболитами (микотоксины) грибов.

Основным продуцентом трихотеценовых микотоксинов группы А в зерне образцов являлся *F. sporotrichioides*. Между количествами его ДНК и микотоксинов – Т-2 и НТ-2 токсинов, Т-2 триола и НЕО – в зерне выявлена высокая достоверная связь ($r =$ от +0,74 до +0,93). Одновременная контаминация зерна Т-2 токсином и его производным – НТ-2 токсином – также подтверждается существенной связью между их количествами ($r = +0,93$). При попадании в организм животного или человека Т-2 токсин превращается в НТ-2 токсин, таким образом, токсичность этих микотоксинов для потребителя считается одинаковой [16, с. 67]. Однако для НТ-2 токсина нет установленных ПДК, в отличие от Т-2 токсина, при этом НТ-2 токсин встречается в количествах более 100 мкг/кг чаще, чем Т-2 токсин, и правильнее было бы учитывать и регламентировать их суммарные количества. При таком подходе в нашем исследовании число образцов зерна, загрязненных этими двумя микотоксинами, составляет 73 %, в отличие от 25 % образцов, где выявлен только Т-2 токсин.

Кроме широко распространенного *F. sporotrichioides*, другой продуцент Т-2 и НТ-2 токсинов – *F. langsethiae* – выявлен в единичных образцах пшеницы и овса, в которых также наблюдалось превышение ПДК микотоксинов. Если в начале 2000-х его выявляли только в странах Северной Европы, то сейчас он стал типичным видом микобиоты зерновых культур на всей Европейской территории [17, с. 42]. До настоящего времени единичной находкой вида *F. langsethiae* за пределами Европы являлся штамм из Тюменской области, выделенный из овса в 2010 г. [18, с. 183]. Исходные семена овса для посева были получены из Краснодарского края, где *F. langsethiae* распространен. Этот гриб – новый заносной представитель микобиоты зерна в Уральском регионе, который, по всей видимости, распространился на новую территорию с семенами зерновых культур. Из-за фенотипических особенностей *F. langsethiae*, а также бессимптомности инфекционного процесса его выявление микологическим методом затруднено, и применение кПЦР является наиболее адекватным методом установления истинной зараженности зерна *F. langsethiae* [19, с. 174], [20, с. 129].

Филогенетически близкородственный к *F. sporotrichioides* и *F. langsethiae* вид *F. poae* является типичным представителем микобиоты зерна и основным продуцентом ДАС и НИВ. Содержание этих трихотеценовых микотоксинов в зерне не регламентируются, а свойства данных метаболитов находятся в стадии изучения [21, с. 251], [22, с. 8581–8582]. Высокая зараженность *F. poae* может приводить к содержанию в зерне значительных количеств НИВ, который предположительно играет важную роль в патогенезе *F. poae* [23, с. 749]. Результаты нашего исследования демонстрируют, что связь между количествами ДНК *F. poae* и НИВ в зерне была высокой и достоверной ($r = +0,75$). ДАС редко выявляют в зерне, в нашем исследовании он был выявлен единично, на пределе уровня детекции (5,1 мкг/кг) – в образце пшеницы с максимальной

зараженностью зерна *F. poae* (19 %) и высоким количеством ДНК этого гриба (680,9 пг/нг).

Особого внимания заслуживает *F. graminearum* – один из самых агрессивных патогенов зерновых культур. Ранее сообщалось о единичном присутствии *F. graminearum* на территории Уральского региона [6, с. 940], но в то же время микотоксинов ДОН и ЗЕН, образуемых этим патогеном, в зерне не находили [4, с. 83]. Анализ образцов пшеницы из Челябинской области показал отсутствие в их зерне ДНК *F. graminearum* [3, с. 3]. Однако результаты нашего исследования свидетельствуют о массовом присутствии *F. graminearum* не только в Челябинской области, но и в других областях Зауралья. Между зараженностью зерна этим патогеном и его ДНК выявлена высокая положительная связь ($r = +0,86$). Установлена контаминация 25 % образцов ДОН и единично ЗЕН. Обнаружена взаимосвязь количества ДНК *F. graminearum* в зерне и содержания ДОН ($r = +0,90$), а также ЗЕН ($r = +0,99$), которая соответствует аналогичным показателям, выявленным в других регионах РФ на естественном инфекционном фоне патогена [24, с. 29].

Видам грибов *Fusarium*, продуцирующим не трихотеценовые микотоксины, как правило, уделяют меньше внимания, несмотря на их широкое распространение и зачастую доминирующее положение. Морфолого-культуральный анализ грибов, относящихся к *F. avenaceum sensu lato*, показал их существенное внутривидовое разнообразие. На наш взгляд, 20–22 % штаммов *F. avenaceum sensu lato* относились к группе близкородственных видов *F. anguioides* Sherb., *F. arthrosporioides* Sherb., *F. diversisporum* Sherb. и других. Отмечена приуроченность *F. avenaceum* и близкородственных видов к зерну ячменя [9, с. 84], [25, с. 39], [26, с. 40]. В нашей работе выявлена достоверно более высокая зараженность грибами *F. avenaceum sensu lato* зерна ячменя по сравнению с зерном других культур. Показано, что зараженность зерна *F. avenaceum* приводит к уменьшению длины проростка [27, с. 6], кроме того, этот гриб и близкородственные ему *F. arthrosporioides* и *F. tricinctum* оказывают влияние на кормовое и пищевое качество зерна, поскольку образуют микотоксины МОН и БОВ [28, с. 4–5]. Анализ содержания МОН в более 600 образцов различных кормов выявил, что из зерновых культур, выращенных в России, наиболее контаминированными были кукуруза (93 % образцов, максимальное выявленное количество МОН – 1431,2 мкг/кг) и ячмень (69 % образцов, 638,7 мкг/кг) [29, с. 66]. Основными неблагоприятными воздействиями МОН на здоровье потребителя являются кардиотоксичность и гематотоксичность [30, с. 5]. Полученные нами результаты установили присутствие МОН в 13 % образцов в количествах 6,9–112,5 мкг/кг. Основным продуцентом МОН в анализированных образцах является *F. avenaceum sensu lato*, между количествами его ДНК и МОН обнаружена достоверная связь ($r = +0,66$). В то же время выявленные количества БОВ были достоверно связаны с зараженностью зерна *F. tricinctum* ($r = +0,60$) и *F. poae* ($r = +0,82$), который также является одним из продуцентов этого микотоксина [23, с. 748], [31, с. 622]. В нашей работе БОВ обнаружен в 34 % образцов в количествах 3,5–49,3 мкг/кг. Выявленная степень загрязненности

зерна этим микотоксином согласуется с информацией о встречаемости БОВ в зерне в странах Скандинавии – от 12 % до 100 % образцов, в основном в количествах ниже 100 мкг/кг [28, с. 2].

Фактические данные о загрязнении зерна микотоксином грибов рода *Fusarium* отражают массовое распространение их продуцентов – *F. avenaceum sensu lato*, *F. poae* и *F. sporotrichioides*, на что также указывают достоверные связи между выявляемыми в зерне количествами ДНК этих грибов и образуемых ими микотоксинов. Впервые с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС в зерне из Уральского региона определены 13 микотоксинов и их сочетаний, среди которых, как и прежде, особое значение имеют Т-2 и НТ-2 токсины. Совместная встречаемость этих микотоксинов выявлена в 59 % образцов с максимальным суммарным

содержанием 3132,8 мкг/кг, которое превышает ПДК для Т-2 токсина в более чем 31 раз. Кроме того, на территории Свердловской области установлено распространение другого продуцента Т-2 и НТ-2 токсинов – *F. langsethiae*, что указывает на расширение ареала этого токсинопродуцирующего вида. Выявление во всех областях Зауралья еще одного нетипичного для региона представителя грибов *Fusarium* в микобиоте зерна – *F. graminearum*, а также образуемых им микотоксинов ДОН и ЗЕН свидетельствует о необходимости ежегодного микотоксикологического мониторинга качества получаемого урожая.

Благодарности (Acknowledgments)

Авторы благодарят сотрудников компании ООО «Сингента» и АО «Байер» за предоставленные образцы зерна. Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (проект № 19-76-30005).

Библиографический список

1. Саркисов А. Х. Перезимовавшие под снегом зерновые культуры. М.: Изд-во Министерства сельского хозяйства СССР, 1948. 108 с.
2. Schuhmacher-Wolz U., Heine K., Schneider K. Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins // EFSA Supporting Publications. 2010. Т. 7. No. 7. EN-65. DOI: 10.2903/sp.efsa.2010.EN-65.
3. Gagkaeva T., Gavrilova O., Orina A. [et al.] Analysis of toxigenic *Fusarium* species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia // Toxins. 2019. Т. 11. No. 5. P. 252. DOI: 10.3390/toxins11050252.
4. Кононенко Г. П., Буркин А. А. О контаминации фузариотоксинами зерна злаков, используемых на кормовые цели // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 4. С. 81–88.
5. Малиновская Л. С., Пирязева Е. А., Кислякова О. С. Выявление доминантных видов рода *Fusarium* в зерне из различных регионов РФ // Успехи медицинской микологии: материалы Второго всероссийского конгресса по медицинской микологии. Москва, 2004. С. 278–280.
6. Пирязева Е. А., Кононенко Г. П., Буркин А. А. Пораженность грубых кормов токсинообразующими грибами рода *Fusarium* // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 6. С. 937–945. DOI: 10.15389/agrobiol.2016.6.937rus.
7. Казакова О. А., Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г. Таксономический состав микромицетов на семенах ячменя в Западной Сибири и Зауралье // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи: материалы VII Всероссийской научно-практической заочной конференции молодых ученых. Лесниково, 2015. С. 36–40.
8. Торопова Е. Ю., Воробьева И. Г., Мустафина М. А. [и др.] Грибы рода *Fusarium* на зерне пшеницы в Западной Сибири // Защита и карантин растений. 2019. № 1. С. 21–23.
9. Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Parikka P. [et al.] Genetic variation, real-time PCR, metabolites and mycotoxins of *Fusarium avenaceum* and related species // Mycotoxin Research. 2006. Т. 22. Pp. 79–86. DOI: 10.1007/BF02956768.
10. Stakheev A. A., Ryazantsev D. Y., Zavriev S. K. [et al.] PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxins // Food Control. 2011. Т. 22. No. 3–4. Pp. 462–468. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.09.028.
11. Орина А. С., Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю. [и др.] Симбиотические взаимоотношения грибов *Fusarium* и *Alternaria*, колонизирующих зерно овса // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 5. С. 986–994. DOI: 10.15389/agrobiol.2017.5.986rus.
12. Каракотов С. Д., Аршава Н. В., Башкатова М. Б. Мониторинг и контроль заболеваний пшеницы в Южном Зауралье // Защита и карантин растений. 2019. № 7. С. 18–25.
13. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П., Левитин М. М. [и др.] Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. 2011. № 5. С. 69–120.
14. Донник И. М., Безбородова Н. А. Мониторинговые исследования микотоксинов в кормах и комбикормовом сырье в Уральском регионе // Аграрный вестник Урала. 2009. № 8. С. 87–89.
15. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П., Орина А. С. Первое обнаружение гриба *Fusarium globosum* в микобиоте зерновых культур на территории Урала и Сибири // Вестник защиты растений. 2019. № 1. С. 10–18. DOI: 10.31993/2308-6459-2019-1(99)-10-18.
16. Pettersson H. Toxicity and risks with T-2 and HT-2 toxins in cereals // Plant Breeding and Seed Science. 2011. Т. 64. Pp. 65–74. DOI: 10.2478/v10129-011-0029-7.
17. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П., Левитин М. М. Биоразнообразие и ареалы основных токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium* // Биосфера. 2014. Т. 6. № 1. С. 36–45.
18. 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 // Journal of Plant Pathology. 2015. Т. 97. No. 1. Pp. 183–187. DOI: 10.4454/JPP.V97I1.017.

19. Edwards S. G., Imathiu S. M., Ray R. V. [et al.] Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats // *International Journal of Food Microbiology*. 2012. Т. 156. No. 2. Pp. 168–175. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.020.
20. Schöneberg T., Jenny E., Wettstein F. E. [et al.] Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Swiss oats – impact of cropping factors // *European Journal of Agronomy*. 2018. Т. 92. Pp. 123–132. DOI: 10.1016/j.eja.2017.09.004.
21. Pasquali M., Giraud F., Brochot C. [et al.] Genetic *Fusarium* chemotyping as a useful tool for predicting nivalenol contamination in winter wheat // *International Journal of Food Microbiology*. 2010. Т. 137. No. 2–3. Pp. 246–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.009.
22. Yang S., De Boevre M., Zhang H. [et al.] Unraveling the *in vitro* and *in vivo* metabolism of diacetoxyscirpenol in various animal species and human using ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight hybrid mass spectrometry // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. Т. 407. Pp. 8571–8583. DOI: 10.1007/s00216-015-9016-4.
23. Vogelgsang S., Sulyok M., Bänziger I. [et al.] Effect of fungal strain and cereal substrate on *in vitro* mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* // *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2008. Т. 25 (6). Pp. 745–757. DOI: 10.1080/02652030701768461.
24. Шишилова Н. П., Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю. Влияние зараженности грибами рода *Fusarium* на качественные характеристики зерна озимой пшеницы // *Вестник защиты растений*. 2014. № 4. С. 27–31.
25. Beccari G., Caproni L., Tini F. [et al.] Presence of *Fusarium* species and other toxigenic fungi in malting barley and multi-mycotoxin analysis by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016. Т. 64. No. 21. Pp. 4390–4399. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00702.
26. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П. Фузариозная инфекция и контаминация микотоксинами зерна сортов ярового ячменя // *Вестник защиты растений*. 2017. № 3. С. 39–43.
27. Yli-Mattila T., Hussien T., Gavrilova O. [et al.] Morphological and molecular variation between *Fusarium avenaceum*, *Fusarium arthrosporioides* and *Fusarium anguoides* strains // *Pathogens*. 2018. Т. 7. No. 4. P. 94. DOI: 10.3390/pathogens7040094.
28. Fraeyman S., Croubels S., Devreese M. [et al.] Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics // *Toxins*. 2017. Т. 9. No. 7. 228. DOI: 10.3390/toxins9070228.
29. Гогина Н. Н., Круглова Л. М., Кожаринова Ю. С. Микотоксин монилиформин в кормах: лабораторные методы обнаружения, обзор полученных результатов // *Птицеводство*. 2019. № 6. С. 65–68. DOI: 10.33845/0033-3239-2019-68-6-65-68.
30. Knutsen H. K., Alexander J. [et al.] Risks to human and animal health related to the presence of moniliformin in food and feed // *EFSA Journal*. 2018. Т. 16. No. 3. e05082. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5082.
31. Covarelli L., Beccari G., Prodi A. [et al.] Biosynthesis of beauvericin and enniatins *in vitro* by wheat *Fusarium* species and natural grain contamination in an area of central Italy // *Food Microbiology*. 2015. Т. 46. Pp. 618–626. DOI: 10.1016/j.fm.2014.09.009.

Об авторах:

Ольга Павловна Гаврилова¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ORCID 0000-0002-5350-3221, AuthorID 601371; +7 (812) 333-37-64, olgavrilova1@yandex.ru

Александра Станиславовна Орина¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник, ORCID 0000-0002-7657-6618, AuthorID 624434; orina-alex@yandex.ru

Надежда Николаевна Гогина², старший научный сотрудник, ORCID 0000-0003-1937-286X, AuthorID 795571; n.n.gogina@mail.ru

Татьяна Юрьевна Гагкаева¹, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, ORCID 0000-0002-3276-561X, AuthorID 107488; t.gagkaeva@mail.ru

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

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

The problem of *Fusarium* head blight in the Trans-Urals region: the history and current situation

O. P. Gavrilova¹, A. S. Orina¹, N. N. Gogina², T. Yu. Gagkaeva^{1✉}

¹ All-Russian Research Institute of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia

² All-Russian Research and Technological Institute of Poultry, Sergiev Posad, Russia

✉ E-mail: t.gagkaeva@mail.ru

Abstract. The aim of study was to detect the fungal and mycotoxins contamination of grain samples of oat, wheat and barley grown in four regions of Ural region (Kurgan, Sverdlovsk, Tyumen, Chelyabinsk) in 2017–2018. **Methods.** The infection of

grain with fungi was analyzed using traditional mycological methods; the content of fungal DNA was determined by quantitative PCR; the presence and amounts of toxic secondary metabolites of fungi in the grain was detected by high performance liquid chromatography with mass spectrometry. **Results.** In the analyzed grain samples at least 10 species of *Fusarium* fungi were identified, among which *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum sensu lato* and *F. poae* were found to be prevailing. The areas of *Fusarium* species that are atypical for the territory of Ural region were specified. *F. graminearum* was found in 14 % of the analyzed grain samples, and *F. langsethiae* was detected in three grain samples from the Sverdlovsk region. The DNA of *F. poae* was found in 48 % of grain samples, *F. avenaceum* DNA – in 39 %, *F. sporotrichioides* DNA – in 30 %, and *F. graminearum* DNA – in 29 % of analyzed grain samples. The content of mycotoxins in the grain samples ranged significantly depending on the crop and the geographical origin of the samples. One to seven mycotoxins were present in each contaminated grain sample. T-2 and HT-2 toxins were most common and were detected in 59 % of samples. Following to them beauvericin and deoxynivalenol were found in 34 % and 25 % of the grain samples, respectively. The excess of the maximum permissible level of T-2 toxin in 26 times was detected in grain of barley from the Chelyabinsk region **Scientific novelty.** For the first time, the information about the occurrence and the amounts of moniliformin and beauvericin, which are rarely analyzed in the grain, is provided. The significant connection between the content of DNA of dominant *Fusarium* species and the amount of the main mycotoxins produced by them in the grain were revealed.

Keywords: cereals, *Fusarium*, infection, DNA, quantitative PCR, mycotoxins, HPLC-MS/MS.

For citation: Gavrilova O. P., Orina A. S., Gogina N. N., Gagkaeva T. Yu. Problema fuzarioza zerna v Zaural'e: retrospektiva issledovaniy i sovremennaya situatsiya [The problem of Fusarium head blight in the Trans-Urals region: the history and current situation] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2020. No. 07 (198). Pp. 29–40. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-198-7-29-40. (In Russian.)

Paper submitted: 11.05.2020.

References

1. Sarkisov A. Kh. Perezimovavshie pod snegom zernovye kul'tury [Cereals wintered under the snow]. Moscow: Izd-vo Ministerstva sel'skogo khozyaystva SSSR, 1948. 108 p. (In Russian.)
2. Schuhmacher-Wolz U., Heine K., Schneider K. Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins // EFSA Supporting Publications. 2010. T. 7. No. 7. EN-65. DOI: 10.2903/sp.efsa.2010.EN-65.
3. Gagkaeva T., Gavrilova O., Orina A. [et al.] Analysis of toxigenic *Fusarium* species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia // Toxins. 2019. T. 11. No. 5. P. 252. DOI: 10.3390/toxins11050252.
4. Kononenko G. P., Burkin A. A. O kontaminatsii fuzariotoksinami zerna zlakov, ispol'zuemykh na kormovye tseli [About fusariotoxins contamination of cereals used for fodder] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2009. No. 4. Pp. 81–88. (In Russian.)
5. Malinovskaya L. S., Piryazeva E. A., Kislyakova O. S. Vyyavlenie dominantnykh vidov roda *Fusarium* v zerne iz razlichnykh regionov RF [Detection of dominant *Fusarium* species in grain from various regions of the Russian Federation] // Uspekhi meditsinskoy mikologii: materialy Vtorogo vsrossiyskogo kongressa po meditsinskoy mikologii. Moscow, 2004. Pp. 278–280. (In Russian.)
6. Piryazeva E. A., Kononenko G. P., Burkin A. A. Porazhennost' grubyykh kormov toksinoobrazuyushchimi gribami roda *Fusarium* [Affection of coarse fodders by toxigenic *Fusarium* fungi] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2016. T. 51. No 6. Pp. 937–945. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.6.937rus. (In Russian.)
7. Kazakova O. A., Toropova E. Yu., Vorob'eva I. G. Taksonomicheskiy sostav mikromitsetov na semenakh yachmenya v Zapadnoy Sibiri i Zaural'e [The taxonomic composition of fungi in barley seeds in Western Siberia and the Trans-Urals] // Razvitie nauchnoy, tvorcheskoy i innovatsionnoy deyatel'nosti molodezhi: materialy VII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy zaochnoy konferentsii molodykh uchenykh, 2015. Pp. 36–40.
8. Toropova E. Yu., Vorob'eva I. G., Mustafina M. A. [et al.] Griby roda *Fusarium* na zerne pshenitsy v Zapadnoy Sibiri [Fungi of *Fusarium* genus on wheat grains in Western Siberia] // Zashchita i karantin rasteniy. 2019. No 1. Pp. 21–23. (In Russian.)
9. Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Parikka P. [et al.] Genetic variation, real-time PCR, metabolites and mycotoxins of *Fusarium avenaceum* and related species // Mycotoxin Research. 2006. T. 22. Pp. 79–86. DOI:10.1007/BF02956768.
10. Stakheev A. A., Ryazantsev D. Y., Zavriev S. K. [et al.] PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxins // Food Control. 2011. T. 22. No. 3–4. Pp. 462–468. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.09.028.
11. Orina A. S., Gavrilova O. P., Gagkaeva T. Yu. [et al.] Simbioticheskie vzaimootnosheniya gribov *Fusarium* i *Alternaria*, koloniziruyushchikh zerno ovsa [Symbiotic relationships between aggressive *Fusarium* and *Alternaria* fungi colonizing oat grain] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2017. T. 52. No. 5. Pp. 986–994. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.5.986rus. (In Russian.)
12. Karakotov S. D., Arshava N. V., Bashkatova M. B. Monitoring i kontrol' zabolevaniy pshenitsy v Yuzhnom Zaural'e [Monitoring and control of wheat diseases in the Southern Trans-Urals] // Zashchita i karantin rasteniy. 2019. No. 7. Pp. 18–25. (In Russian.)
13. Gagkaeva T. Yu., Gavrilova O. P., Levitin M. M. [et al.] Fuzarioz zernovykh kul'tur [Fusarium head blight] // Zashchita i karantin rasteniy. 2011. No. 5. C. 69–120. (In Russian.)
14. Donnik I. M., Bezborodova N. A. Monitoringovye issledovaniya mikotoksinov v kormakh i kombikormovom syr'e v Ural'skom regione [Monitoring researches mikotoxin in forages and mixed fodder raw materials in uralsk region] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2009. No. 8. Pp. 87–89. (In Russian.)

15. Gagkaeva T. Yu., Gavrilova O. P., Orina A. S. Pervoe obnaruzhenie griba *Fusarium globosum* v mikrobiote zernovykh kul'tur na territorii Urala i Sibiri [First detection of *Fusarium globosum* in small grain cereals on Ural and Siberian territory] // Plant Protection News. 2019. No. 1. Pp. 10–18. DOI: 10.31993/2308-6459-2019-1(99)-10-18. (In Russian.)
16. Pettersson H. Toxicity and risks with T-2 and HT-2 toxins in cereals // Plant Breeding and Seed Science. 2011. T. 64. Pp. 65–74. DOI: 10.2478/v10129-011-0029-7.
17. Gagkaeva T. Yu., Gavrilova O. P., Levitin M. M. Bioraznoobrazie i arealy osnovnykh toksinoproduktivnykh gribov roda *Fusarium* [Biodiversity and distribution of the main toxigenic *Fusarium* fungi] // Biosfera. 2014. T. 6. No. 1. Pp. 36–45. (In Russian.)
18. 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 // Journal of Plant Pathology. 2015. T. 97. No. 1. Pp. 183–187. DOI: 10.4454/JPP.V97I1.017.
19. Edwards S. G., Imathi S. M., Ray R. V. [et al.] Molecular studies to identify the *Fusarium* species responsible for HT-2 and T-2 mycotoxins in UK oats // International Journal of Food Microbiology. 2012. T. 156. No. 2. Pp. 168–175. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.020.
20. Schöneberg T., Jenny E., Wettstein F. E. [et al.] Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Swiss oats – impact of cropping factors // European Journal of Agronomy. 2018. T. 92. Pp. 123–132. DOI: 10.1016/j.eja.2017.09.004
21. Pasquali M., Giraud F., Brochot C. [et al.] Genetic *Fusarium* chemotyping as a useful tool for predicting nivalenol contamination in winter wheat // International Journal of Food Microbiology. 2010. T. 137. No. 2–3. Pp. 246–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.009.
22. Yang S., De Boevre M., Zhang H. [et al.] Unraveling the *in vitro* and *in vivo* metabolism of diacetoxyscirpenol in various animal species and human using ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight hybrid mass spectrometry // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2015. T. 407. Pp. 8571–8583. DOI: 10.1007/s00216-015-9016-4.
23. Vogelgsang S., Sulyok M., Bänziger I. [et al.] Effect of fungal strain and cereal substrate on *in vitro* mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum* // Food Additives & Contaminants: Part A. 2008. T. 25 (6). Pp. 745–757. DOI: 10.1080/02652030701768461.
24. Shipilova N. P., Gavrilova O. P., Gagkaeva T. Yu. Vliyanie zarazhennosti gribami roda *Fusarium* na kachestvennye kharakteristiki zerna ozimoy pshenitsy [Quality of winter wheat grain infected by *Fusarium* fungi] // Plant Protection News. 2014. No. 4. Pp. 27–31. (In Russian.)
25. Beccari G., Caproni L., Tini F. [et al.] Presence of *Fusarium* species and other toxigenic fungi in malting barley and multi-mycotoxin analysis by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2016. T. 64. No. 21. Pp. 4390–4399. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00702.
26. Gagkaeva T. Yu., Gavrilova O. P. Fuzarioznaya infektsiya i kontaminatsiya mikotoksinami zerna sortov yarovogo yachmenya [Fusarium infection and mycotoxins contamination in grain of spring barley cultivars] // Plant Protection News. 2017. No. 3. Pp. 39–43. (In Russian.)
27. Yli-Mattila T., Hussien T., Gavrilova O. [et al.] Morphological and molecular variation between *Fusarium avenaceum*, *Fusarium arthrosporioides* and *Fusarium anguoides* strains // Pathogens. 2018. T. 7. No. 4. P. 94. DOI: 10.3390/pathogens7040094.
28. Fraeyman S., Croubels S., Devreese M. [et al.] Emerging *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics // Toxins. 2017. T. 9. No. 7. P. 228. DOI: 10.3390/toxins9070228.
29. Gogina N. N., Kruglova L. M., Kozharinova Yu. S. Mikotoksin moniliformin v kormakh: laboratornye metody obnaruzheniya, obzor poluchennykh rezul'tatov [Mycotoxin moniliformin in feedstuffs: Laboratory detection methods, review of the results] // Ptitsevodstvo. 2019. No. 6. Pp. 65–68. DOI: 10.33845/0033-3239-2019-68-6-65-68. (In Russian.)
30. Knutsen H. K., Alexander J. [et al.] Risks to human and animal health related to the presence of moniliformin in food and feed // EFSA Journal. 2018. T. 16. No. 3. e05082. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5082.
31. Covarelli L., Beccari G., Prodi A. [et al.] Biosynthesis of beauvericin and enniatins *in vitro* by wheat *Fusarium* species and natural grain contamination in an area of central Italy // Food Microbiology. 2015. T. 46. Pp. 618–626. DOI: 10.1016/j.fm.2014.09.009.

Authors' information:

Olga P. Gavrilova¹, candidate of biological sciences, senior researcher, ORCID 0000-0002-5350-3221, AuthorID 601371; +7 (812) 333-37-64, olgavrilova1@yandex.ru

Aleksandra S. Orina¹, candidate of biological sciences, researcher, ORCID 0000-0002-7657-6618, AuthorID 624434; orina-alex@yandex.ru

Nadezhda N. Gogina², senior researcher, ORCID 0000-0003-1937-286X, AuthorID 795571; n.n.gogina@mail.ru

Tatiana Yu. Gagkaeva¹, candidate of biological sciences, leading researcher, ORCID 0000-0002-3276-561X, AuthorID 107488; t.gagkaeva@mail.ru

¹All-Russian Research Institute of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia

²All-Russian Research and Technological Institute of Poultry, Sergiev Posad, Russia