

## МИКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 579.64:632.4:577.21:582.282:632.911.2

doi: 10.17072/1994-9952-2023-1-65-75.

### Анализ видового разнообразия возбудителей фузариозов на озимой тритикале (*×Triticosecale* Wittm. ex A. Camus) с использованием молекулярно-генетических методов

А. А. Шварцев<sup>1,2✉</sup>, М. Л. Королева<sup>1</sup>, С. А. Блинова<sup>1</sup>, В. С. Рубец<sup>2</sup>, В. В. Пыльнев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> «Синтол», Москва, Россия

<sup>2</sup> РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Алексей Анатольевич Шварцев, alexey.sva@yandex.ru

**Аннотация.** Определялись доминирующие виды рода *Fusarium* и степень заражения фузариозами изучаемой коллекции. Цель исследования – проведение апробации разработанных нами праймеров на коллекционных штаммах грибов и на сортообразцах озимой тритикале. В работе были изучены 24 культуры грибов, полученных из разных коллекций, а также проведен скрининговый анализ 50 образцов озимой тритикале из коллекции РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. Были подобраны и протестированы праймеры и зонды для определения принадлежности к роду *Fusarium* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), а также олигонуклеотиды для видовой дифференциации исследуемых грибов. Данные по аналитической специфичности показывают отсутствие ложноположительного результата при анализе образцов ДНК близкородственных и сопутствующих организмов. Аналитическая чувствительность составила не менее 15 копий плазмиды с целевым для ПЦР-РВ тест-системы участком ДНК в реакции. Воспроизводимость полученных результатов экспериментов показала возможность использования системы праймеров и зондов на самых распространенных приборах для проведения ПЦР в реальном времени. Проводился скрининг образцов тритикале на следующие виды грибов: *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*. Проведенное исследование позволило определить наиболее пораженные фузариозами сорта, такие как: ПРАГ522, ПРАГ507, ПРАГ 519, ОГМ-1. Доминирующим видом рода *Fusarium* при анализе коллекции образцов тритикале являлся *F. poae*. Результаты исследования применимы для проведения скрининговых диагностических исследований, как при родовой, так и видовой дифференциации.

**Ключевые слова:** *Fusarium*, фузариозы, диагностика, ПЦР в реальном времени, набор реагентов, озимая тритикале, видовая диагностика, специфичность

**Для цитирования:** Анализ видового разнообразия возбудителей фузариозов на озимой тритикале (*×Triticosecale* Wittm. ex A. Camus) с использованием молекулярно-генетических методов / Шварцев А. А., Королева М. Л., Блинова С. А., Рубец В. С., Пыльнев В. В. // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2023. Вып. 1. С. 65–75. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-1-65-75>.

## MYCOLOGY

Original article

### Molecular genetic analysis for *Fusarium* species diversity in the winter triticale (*×Triticosecale* Wittm. ex A. Camus)

А. А. Shvartsev<sup>1,2✉</sup>, М. L. Koroleva<sup>1</sup>, S. A. Blinova<sup>1</sup>, V. S. Rubets<sup>2</sup>, V. V. Pylnev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> LLC Syntol, Moscow, Russia

<sup>2</sup> RSAU – MTAА named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia

Corresponding author: Alexey A. Shvartsev, alexey.sva@yandex.ru

**Abstract.** *Fusarium* is a large genus of fungi and is of interest primarily because numerous species are important plant pathogens. *Fusarium* can infect about 200 species of cultivated crops and lead to significant yield losses. In this regard, it is necessary to diagnose plants to detect fungi of the *Fusarium* genus and determine the phytopathogenic load in crops in order to identify a latent infection. The aim of this study is to test developed primers on fungi DNA collection and winter triticale. In this research, the developed primers were tested on 24 samples of fungi, obtained from different collections and on 50 samples of winter triticale from RSAU-MTAА

named after K.A. Timiryazev. Primers and probes were selected and tested to determine belonging to the genus *Fusarium* by real-time polymerase chain reaction (qPCR). There were no false-positive results in the analysis of other types of fungi and related microorganisms. Analytical sensitivity of the developed oligonucleotides isn't less than 15 copies of plasmid with the target DNA region per qPCR reaction. Diagnostic kit was tested using various Real-Time PCR systems. The triticale samples were tested for the presence of *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*. The greatest defeat by *Fusarium* was in varieties: PRAG522, PRAG507, PRAG 519, OGM-1. The results of the study could be used for screening diagnostic tests.

**Keywords:** *Fusarium*, fusarium infection, diagnostics, Real-Time PCR, reagents kit, winter triticale, species diagnostics, sensitivity

**For citation:** Shvartsev A. A., Koroleva M. L., Blinova S. A., Rubets V. S., Pylnev V. V. [Molecular genetic analysis for *Fusarium* species diversity in the winter triticale (*×Triticosecale* Wittm. ex A. Camus)]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 1 (2023): pp. 65-75. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2023-1-65-75>.

## Введение

В 1809 г. немецкий ученый H.F. Link впервые объединил множество разнообразных видов грибов в род *Fusarium* [Гагкаева, 2011]. На первых этапах классификация данного рода проводилась только на основе поверхностных наблюдений, при этом практически не учитывались культуральные особенности изучаемых образцов. На основе только таких наблюдений, было классифицировано более 1 000 видов, разновидностей и форм фузариума [Leslie, Summerell, Bullock, 2006]. В настоящее время чаще всего используют таксономические системы W. Gerlach и H. Nirenberg (1982 г., включает 73 вида грибов), А.И. Райлло (1950 г., 55 видов) и В.И. Билай (1955, 1977 гг., 31 вид) [Гагкаева и др., 2011]. В связи с отсутствием стабильной таксономии до сих пор происходит соединение и разделение разных таксономических групп [Moretti, 2009]. На официальном сайте Европейской организации по карантину и защите растений (EPPO Global Database) представлено более 130 наименований представителей рода *Fusarium*. Некоторые виды являются карантинными и требуют особого внимания и регулирования [Bubicic et al., 2019].

Большинство видов из рода *Fusarium* в основном являются растительными патогенами, которые вызывают увядание, развиваясь в проводящей системе растений; повреждение колоса, плодов и семян; гниль вегетативных и генеративных частей растений; корневую гниль [Chekali et al., 2011; Okungbowa, Shittu, 2012]. Фузариумы повреждают различные значимые сельскохозяйственные культуры: злаковые (в особенности пшеницу, ячмень, кукурузу), плодовые, овощные, декоративные и другие [Burgess, 2012; Zhao, 2014].

Инфицирование грибами из рода *Fusarium* может происходить на всех стадиях развития растений, от прорастания семян до зрелых вегетативных тканей, в зависимости от растения-хозяина и видов фузариумов. Есть данные о том, что споры грибов рода *Fusarium* сохраняют свою жизнеспособность более 12 лет, находясь в почве. Последние десятилетия отмечается широкое распространение возбудителей фузариоза в основных зерносеющих районах России, а также на юге страны на плодовых культурах [Хасанов, 2017; Якуба, Мищенко, 2019].

Фитопатогенные грибы распространены во многих климатических зонах, некоторые их виды являются эндемиками [Nelson, Dignani, Anaissie, 1994; Гагкаева, Гаврилова, Орина, 2019]. Информация о биоэкологии фузариумов постоянно пополняется и обновляется [Abdel-Azeem et al., 2019]. Почва является основной экологической нишей фузариумов, но есть данные о том, что они могут сохраняться на растительных и животных остатках и переноситься с помощью ветра, воды и насекомых на дальние расстояния [Гагкаева, Гаврилова, Левитин, 2014; Дубровская, 2020]. Помимо растений, грибы рода *Fusarium* могут наносить непоправимый вред здоровью человека [Nelson, Dignani, Anaissie, 1994; Bernal-Martínez, et al., 2012].

Представители данного рода находятся в центре внимания исследователей во всем мире, в основном из-за их микотоксигенных свойств и последующего внедрения вредных метаболитов в пищевую цепь [Suproniene et al., 2010; Islam et al, 2021]. Грибы из рода *Fusarium* способны вырабатывать более 190 микотоксинов, из которых наиболее изученные и опасные являются трихотецены (диацетоксисцирпенол, дезоксиниваленол, Т-2 и др.), фумонизины (В1, В2 и др.), зеараленон [Ji, 2019].

В настоящее время существуют противоречивые взгляды на общие таксономические границы и определения критериев вида, что влияет на законодательство о диагностике заболеваний, управлении и биобезопасности [Summerell, 2019].

Таким образом, необходимо создать универсальную таксономическую систему рода *Fusarium* с четкими родовыми и видовыми характеристиками, которая позволит идентифицировать эти грибы [Gräfenhan et al., 2011]. Разработка праймерных систем позволяет не только проводить диагностику заболеваемости представителями рода *Fusarium*, но уточнить таксономию данного рода [Стахеев и др., 2016].

Начиная с 2011 г., в Центральном регионе России самыми распространёнными видами были *Fusarium avenaceum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. culmorum* [Гагкаева, 2011]. Так, для ярового ячменя централь-

ной части России в период с 2015 по 2017 гг. наиболее распространёнными оказались четыре вида: *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. heterosporum* и *F. sporotrichioides* [Глинушкин, 2018]. Однако на данный момент нет достаточных сведений о распространении фузариумов на озимой тритикале, несмотря на ее огромную значимость в сельском хозяйстве. По данным FEBSTAT, объемы посевов тритикале в Российской Федерации сравнимы с посевами риса и сорго.

Цель данного исследования – разработка праймерных систем и скрининг коллекции озимой тритикале РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева для своевременной диагностики фитопатогенных грибов из рода *Fusarium* и предотвращение их распространения на территории Российской Федерации.

## Материалы и методы

В работе были использованы культуры грибов рода *Fusarium*, полученные из коллекций РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, ФГБУ «ВНИИКР», ООО «Синтол», НБФМ РАН ВКМ и ЦБН ВКПМ. Образцы зерновок озимой тритикале, выращенные в полевых условиях в 2020 г., предоставлены кафедрой генетики, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева.

Исследование проводилось на базе ООО «Синтол» и центра коллективного пользования «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИСБ.

Для выделения нуклеиновых кислот из чистых культур использовали набор реагентов ДНК-Экстран-3 (EX-513, ООО «Синтол», Россия), основанный на методе тотального осаждения НК спиртами. Образцы зерновок тритикале предварительно измельчали при помощи мельницы Tube Mill 100 control («IKA», Германия), дальнейшее выделение проводили с помощью набора реагентов Фитоскрин-Экспресс (PH-524, ООО «Синтол», Россия). Экстракцию данным набором осуществляли с использованием станции автоматизированного выделения KingFisher Flex System («Thermo Scientific», США).

Для идентификации грибов рода *Fusarium* использовали участки генов *28S-18S rRNA*, РНК полимеразы II (*poly II*) и фрагмент кластера генов биосинтеза трихотеценов (*tri*). Для видовой диагностики были выбраны гены, кодирующие calmodulin (*CaM*), *5.8S rRNA* и *28S rRNA*.

При выполнении классической ПЦР и ПЦР в режиме реального времени использовали набор реагентов для проведения ПЦР-РВ (R-412, ООО «Синтол», Россия), в состав которого входит 10-кратный реакционный буфер, дезоксинуклеозидтрифосфаты и SynTaq ДНК-полимераза с ингибирующей активностью фермента антигеламы. Финальные концентрации компонентов в реакционной смеси: 3мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,25мМ dNTP и 3 е.а. ДНК-полимеры. При разработке олигонуклеотидов учитывались температура отжига для праймеров 58–64°C и на 2–5°C выше для зондов; для увеличения специфичности и чувствительности наличие на 3'-конце G или C нуклеотида («GC-зажим»). Наличие и отсутствие вторичных структур (шпилек, димеров или других конформаций) проверяли с помощью онлайн-сервисов ThermoFisher Multiple Primer Analyzer и Олиго Кальк: Программа для расчёта свойств олигонуклеотидов (праймеров). Для расчета температуры отжига олигонуклеотидов использовали онлайн-приложение Promega Biomath Calculators, где указывали следующие характеристики: Step 3 (Enter Values), концентрация MgCl<sub>2</sub> — 3мМ и концентрация ионов натрия/калия – 50мМ. Для флуоресцентно-меченных зондов использовали краситель FAM (карбоксихлорофлуоресцеин) присоединённый к 5'-концу. В качестве гасителя флуоресценции применяли RTQ1, присоединённый к 3'-концу зонда. Для зонда у внутреннего положительного контроля в качестве красителя использовали R6G присоединённый к 5'-концу, в качестве гасителя — BHQ2 присоединённый к 3'-концу. Концентрация праймеров в реакционной смеси была 450 нМ, а зондов – 200 нМ.

Воспроизводимость и повторяемость результатов была подтверждена на четырех приборах для ПЦР в реальном времени: CFX-96 («Bio-Rad», США), АНК-32 («ИАП РАН», Россия), Rotor-Gene 6000 («QiaGen», США), DTprime 5 («ДНК-Технология», Россия). В качестве матрицы был использован образец F 143 *F. oxysporum*.

Аналитические характеристики оценивали с помощью прибора для ПЦР-РВ CFX-96, по следующей программе амплификации: первичная денатурация 95°C – 5 мин.; 95°C – 15 сек., 60°C – 40 сек. (на данном этапе включено считывание сигнала флуоресценции – 49 циклов). Анализ результатов осуществляли регрессионным методом. За положительный результат принимали образцы, уровень сигнала флуоресценции которых превышал 10% от разницы модулей самого высокого и самого низкого сигнала.

Для установления аналитической чувствительности была использована плаزمида pUC57 («Thermo Scientific», США) в качестве основы векторной конструкции с целевой вставкой искомым нуклеотидной последовательности нескольких видов грибов рода *Fusarium*, длиной 112 п.н. Очистка продуктов амплификации выполнялась с помощью набора для выделения ДНК из реакционных смесей «ColGen» (ООО «Синтол», Россия). Реакцию лигирования проводили при температуре 4°C в течение 12 ч. с использованием фермента T4 ДНК лигазы («ThermoFisher Scientific», США), с последующей трансформацией высокоэффективных химически компетентных клеток *E. coli* (NEBExpress Competent) согласно рекомендациям производителя. Наличие векторной вставки проверяли с помощью универсальных праймеров на плазмидную ДНК M13 с последующей визуализацией в 1.5% агарозном геле. Для определения аналити-

ческой чувствительности проводили серию последовательных 10-кратных разведений искомой плазмиды с известной концентрацией.

Аналитическую специфичность ПЦР-РВ проверяли на ДНК 35 близкородственных и сопутствующих организмов: F 4705 *Eutypa sp*; F 985 *Phytophthora cactorum*; F 3333 *P. cinnamomi*; F 3619 *Cylindrocarpon destructans* (*Ilyonectria destructans*); F 3622 *C. destructans* (*I. destructans*); F 4588 *C. destructans* (*I. destructans*); F 4589 *C. destructans* (*I. destructans*); F 3623 *C. destructans* (*I. destructans*); F 865 *C. destructans* (*I. destructans*); FW 122 *C. destructans* (*I. destructans*); FW 221 *C. destructans* (*I. destructans*); FW 133 *C. destructans* (*I. destructans*); FW 192 *C. destructans* (*I. destructans*); FW206 *Ilyonectria robusta*; F 942 *Rhizoctonia solani*; F 3334 *Phanerochaete chrysosporium* (Всерос. коллекция микроорганизмов, г. Пушкино, Московская обл.); *Alternaria tenuissima*; *Aspergillus niger*; *Drechslera avenae*; *Monilinia fructigena*; *Microdochium nivale*; *Bipolaris sorokiniana*; *Cercospora beticola*; *P. infestans*; *Cladosporium*; *Gibellina cerealis*; *Helminthosporium sativum* (*Bipolaris sorokiniana*); *Phoma betae* (*Neocamarosporium betae*); *Botrytis cinerea*; *Rhizoctonia solani*; *Colletotrichum acutatum*; *Cercospora kikuchii* (ООО «Синтол», Россия); *Tilletia laevis*; *T. caries*; *T. controversa* (ФГБУ ВНИИКР, Россия).

Для подтверждения принадлежности образцов к роду *Fusarium* было проведено секвенирование по Сэнгеру на анализаторе Нанофор 05 (ИАП РАН, Россия) с праймерами на *18S rRNA*, для определения родовой принадлежности. При проведении классической ПЦР для секвенирования и видовой идентификации использовали следующую программу амплификации: первичная денатурация 95°C – 5 мин.; 95°C – 15 сек., 60°C – 15 сек., 72°C – 35 сек. (36 циклов); финальная элонгация 72°C – 5 мин. Визуализацию проводили в 1.5%-ном агарозном геле. В качестве интеркалятора применяли бромистый этидий.

Биоинформатический анализ и обработку полученных результатов осуществляли с помощью программного обеспечения UGENE («Унипро», Россия). Для создания множественного выравнивания использовали программу MAFFT v.7.490, с программой визуализации AliView (NBIS, Department of Cell and Molecular Biology, Uppsala University, Швеция).

## Результаты и их обсуждение

Нами были проанализированы 24 культуры грибов, полученных из разных коллекций микроорганизмов. У всех образцов была подтверждена принадлежность роду *Fusarium* методом секвенирования по Сэнгеру. Помимо чистых культур нами были изучены зерновки 50 образцов озимой тритикале на наличие возбудителей фузариозов. Все изучаемые образцы тритикале выращены в полевых условиях в РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева 2020 г.

В таблице 1 представлены разработанные олигонуклеотиды, позволяющие проводить диагностику образцов на наличие грибов рода *Fusarium* методом ПЦР-РВ. Исследование проводилось в формате мультиплексной ПЦР-РВ с использованием одновременно всех олигонуклеотидов, указанных в табл. 1.

Таблица 1

Последовательность праймеров и зондов для идентификации грибов рода *Fusarium*  
[The sequence of primers and probes for the identification of *Fusarium* fungi]

Название	Ми-шень	Последовательность	Референсные последовательности, NCBI
Fus_Spp	<i>tri</i>	F 5'- АТТАТАТТГТААСАТСТГТТТААС -3'	LT222054.1
		Pb 5'-(FAM) TTGTATGCCAАССААСААТ(RTQ1)-3'	
		R 5'- ТАСАТСААСAGGCTCGTC-3'	
Fus_Dop_2	<i>28S-18S rRNA</i>	F 5'-АТТАССGAGTTTACAАСТСС-3'	OK617252
		F2 5'-АТТТАССGAAGTTTACAАСТТ-3'	
		Pb1 5'-(FAM) TTATGTTGCCTCGGCGGATCA(RTQ1)-3'	
		Pb2 5'-(FAM) TGTTGCCTCGGCGGATCA(RTQ1)-3'	
		R1 5'-AGAGTTTAGGGTTTCCTGC-3'	
		R2 5'-AGAGTTTAGGGTTCCTCT-3'	
Fus_Dop_3	<i>RNA polyII</i>	F 5'-TGGTTACGTCGTAGATGAC-3'	MZ921799
		Pb 5'-(FAM)ACAGGAGATTGAAGACCAAGACGA(RTQ1)-3'	
		R 5'-АССААТGCCAAGAATCATACTG-3'	

Примечание. F — прямой праймер, R — обратный праймер, Pb — зонд.

Аналитическая специфичность была определена на выборке из 35 близкородственных организмов. Ложноположительных результатов при внесении нуклеиновых кислот других грибов обнаружено не было. Специфичность праймеров и зондов, для проведения ПЦР-РВ, в анализируемой выборке составила 100%, что позволяет рекомендовать и использовать их для обнаружения возбудителей фузариозов.

В таблице 2 приведены результаты апробации разработанной системы праймеров и зондов на четырех приборах для проведения ПЦР в режиме реального времени.

Таблица 2

**Воспроизводимость полученных результатов исследований с использованием приборов для ПЦР-РВ различных производителей**  
**[The Reproducibility of the results obtained of different qPCR detection systems from different manufacturers]**

Образец	Пороговый цикл, ct			
	CFX 96	Rotor-Gene 6000	DTprime	ANK 32
Разведение в 10 раз	19.87	18.43	19.4	20.05
Разведение в 10 раз	19.82	18.35	19.5	20.19
Разведение в 100 раз	23.41	21.97	23.2	23.69
Разведение в 100 раз	23.41	22.01	23.1	23.67
Разведение в 1000 раз	26.86	25.31	26.8	27.15
Разведение в 1000 раз	26.71	25.50	26.6	27.25
Разведение в 10000 раз	29.98	28.98	30.0	30.49
Разведение в 10000 раз	29.88	28.98	30.2	30.27
Отрицательный контрольный образец	N/A	N/A	N/A	N/A
Значение эффективности ПЦР-РВ, E	98,2	92	91	96

Примечание. N/A — отсутствие сигнала флуоресценции; ct — значение порогового цикла ПЦР-РВ, отражающее количество копий ПЦР-мишени в исходном образце.

По полученным данным разница в пороговых значениях между приборами была  $\pm 1.5$  цикла, значение эффективности E в диапазоне 91–98.2%, наклон кинетической кривой от  $-3.658$  до  $-3.365$ , коэффициент корреляции  $R^2$  от 0.998 до 0.999. Данные различия в значениях связаны с конструктивными особенностями оптических систем данных приборов.

Аналитическую чувствительность тестируемых олигонуклеотидов определяли путем разведения ДНК плазмиды с целевой вставкой некоторых видов грибов рода *Fusarium*. Исходная концентрация плазмиды была 25.4нг/мкл, что соответствует  $7.5 \times 10^9$  копий/мкл. Для более достоверного результата каждую реакцию проводили в двух повторениях. Ввиду высокой концентрации исходной плазмиды все последующие исследования проводили с ДНК, разведенной в 1000 раз. Аналитическая чувствительность составила не менее 15 копий в реакции. Результаты аналитической чувствительности приведены на рис. 1.

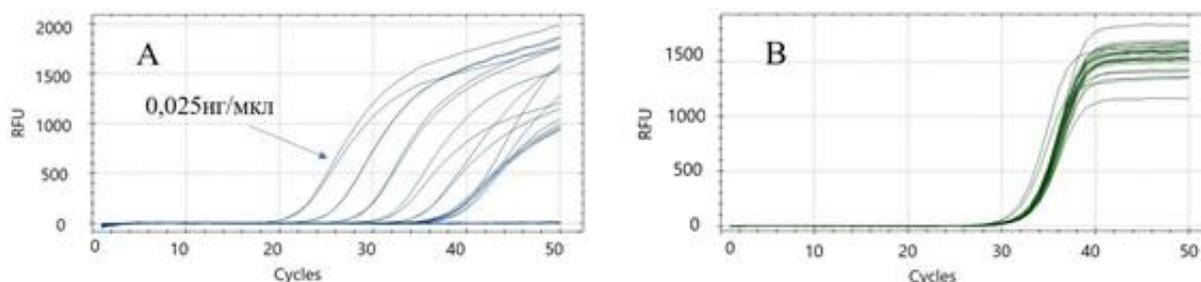


Рис. 1. Результаты проведения серии 10-кратных разведений ДНК плазмиды с известной концентрацией по каналам флуоресценции FAM и HEX (А и В); интерфейс Bio-Rad CFX Manager. На оси абсцисс указан пороговый цикл (cycles), на оси ординат – относительные единицы флуоресценции (RFU)

[The results of a series of 10-fold dilutions of plasmid DNA with a certain concentration, fluorescence signals obtained from channels FAM and HEX (A and B); Bio-Rad CFX Manager interface; the threshold cycle (cycles) is indicated on the abscissa axis, relative fluorescence units (RFU) are indicated on the ordinate axis]

Образцы озимой тритикале и подтвержденные секвенированием по Сэнгеру образцы коллекционных культур рода *Fusarium* были проанализированы с использованием сконструированных олигонуклеотидов методом ПЦР в режиме реального времени. Результаты проведенного исследования показаны на рис. 2 и просуммированы в табл. 3 и 4.

Для исключения ложноотрицательного результата в каждой реакции присутствует внутренний контроль прохождения ПЦР — внутренний положительный контроль (ВПК). Наличие данного контроля позволяет выявлять образцы с высоким содержанием ингибиторов, которые могут приводить к получению ложноотрицательного результата. Детекция реакции ВПК происходит по каналу флуоресценции HEX(R6G) (рис. 2, В и D).

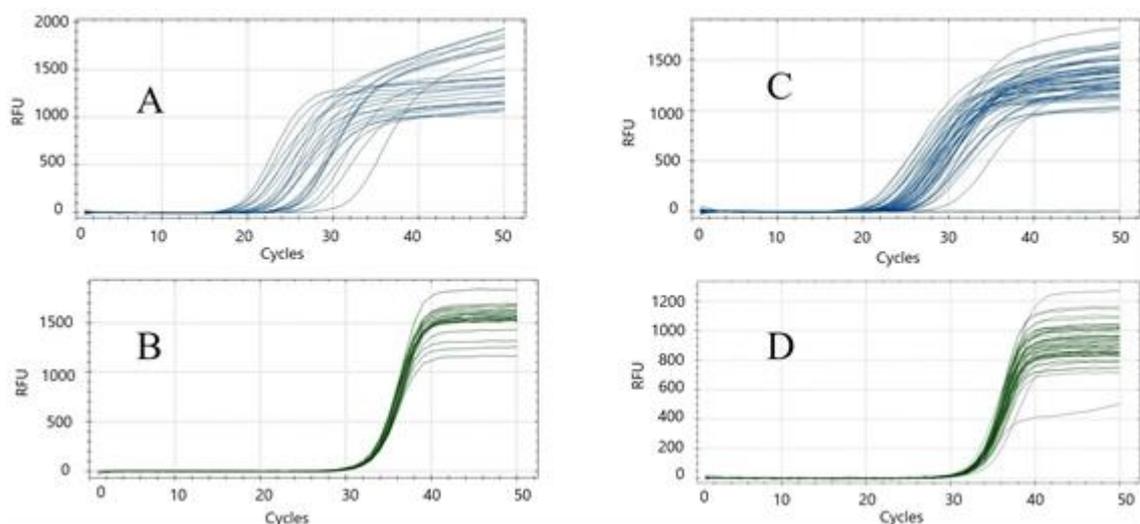


Рис. 2. Результаты анализа методом ПЦР-РВ по каналу флуоресценции FAM и HEX 24 образцов грибов рода *Fusarium* (А и В) и 50 образцов озимой тритикале (С и D) на наличие НК грибов рода *Fusarium*; интерфейс Bio-Rad CFX Manager

Ось абсцисс — пороговый цикл (cycles), ось ординат — относительные единицы флуоресценции (RFU)

[Results of real-time PCR analysis (FAM and HEX fluorescence channels) of 24 samples of *Fusarium* fungi (A and B) and 50 samples of winter triticale (C and D) for the presence of *Fusarium* fungi; Bio-Rad CFX Manager interface; the threshold cycle (cycles) is indicated on the abscissa axis, relative fluorescence units (RFU) are indicated on the ordinate axis]

Таблица 3

**Пороговые циклы ПЦР-РВ по каналу флуоресценции FAM у образцов грибов**  
**[Threshold cycles of real-time PCR of fungal samples, FAM fluorescence channel]**

Коллекция микроорганизмов	Номер штамма/внутренний номер	Наименование заявленного таксона	Цикл, ct
Коллекция НБЦ ВКПМ	F-139	<i>Fusarium sambucinum</i> var. <i>Sambucinum</i> 52434 Fuckel, 1863	19.50
	F-43	<i>Fusarium verticillioides</i> 384 (Saccardo) Nirenberg, 1976	26.94
	F-623	<i>Fusarium avenaceum</i> J18Trgē1064 (Fries) Saccardo, 1886	18.95
	F-902	<i>Fusarium sporotrichioides</i> T11 Sherbakoff, 1915	22.55
	F-877	<i>Fusarium graminearum</i> PH-1 Schwabe, 1839	20.01
Коллекция ИБФМ РАН ВКМ	F 143	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtendal, 1824	22.28
	F 840	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtendal, 1824	22.94
	F 3960	<i>Fusarium solani</i> (Martius) Saccardo, 1881	19.14
	F 1667	<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherbakoff, 1915	21.80
Коллекция ООО «Синтол»	A1	<i>Fusarium poae</i> (Peck) Wollenweber, 1914	29.53
	A3	<i>Fusarium tricinctum</i> (Corda) Saccardo, 1886	29.98
	A4	<i>Fusarium sambucinum</i> Fuckel, 1863	21.63
	A5	<i>Fusarium culmorum</i> (Wm.G. Smith) Saccardo, 1895	26.45
	A6	<i>Fusarium sibiricum</i> Gagkaeva, Burkin, Kononenko, Gavrilova, O'Donnell, T. Aoki, Yli-Mattila, 2011	26.21
	A7	<i>Fusarium ussurianum</i> T. Aoki, Gagkaeva, Yli-Mattila, Kistler, O'Donnell, 2009	26.50
	A8	<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg, 1976	23.05
	AG1	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtendal, 1824	20.65
	AG2	<i>Fusarium graminearum</i> -1 Schwabe, 1839	20.51
	AG3	<i>Fusarium graminearum</i> -2 Schwabe, 1839	22.06
Коллекция ФГБУ «ВНИИКР»	B1	<i>Fusarium verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg, 1976	21.33
	B2	<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis, Everhart, 1895	20.79
	B3	<i>Fusarium equiseti</i> (Corda) Saccardo, 1886	22.75
Коллекция РГАУ-МСХА	P1	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtendal, 1824	22.02
	P2	<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe, 1839	27.93

Примечание. Ct — значение порогового цикла ПЦР-РВ, отражающее количество копий ПЦР-мишени в исходном образце.

Таблица 4

**Пороговые циклы ПЦР-РВ по каналу флуоресценции FAM образцов озимой тритикале**  
**[Threshold cycles of real-time PCR of winter triticale samples, FAM fluorescence channel]**

№	Наименование образца	Цикл, ст	№	Наименование образца	Цикл, ст
1	СИРС 57	22.15	26	К-1-19№23 К-3849 Partout (Германия)	30.37
2	Александр	23.22	27	К-1-19№24 К-3845 Варвара (Самарская обл.)	23.07
3	Линия 114h	23.95	28	К-1-19№25 К-3844 Krakowiak (Польша)	27.98
4	К-1-19№1 К-3866 (Marko, Польша)	23.35	29	К-1-19№26 К-3841 ПРАГ518 (Дагестан)	25.23
5	К-1-19№2 К-3862 (НИИСХ Сев-Зап)	22.03	30	К-1-19№27 К-3839 Бард (ДЗНИИСХ)	22.24
6	К-1-19№3 К-3861 Немчиновский 5b (МосНИИСХ "Немчиновка")	23.61	31	К-1-19№28 К-3831 ПРАГ522	23.81
7	К-1-19№4 К-3857 ПРАГ 520 (Дагестан)	25.79	32	К-1-19№29 К-3828 ПРАГ504	24.27
8	К-1-19№5 К-3865 Prado(Польша)	24.76	33	К-1-19№30 К-3750 Timlo (Франция)	24.05
9	К-1-19№6 К-3864 SW Algalo(Швеция)	26.64	34	К-1-19№31 К-3739 ОГМ-1 (Омская обл.)	21.50
10	К-1-19№7 К-3855 ПРАГ 510 (Дагестан)	24.91	35	К-1-19№32 К-3753 Bellac (Франция)	26.46
11	К-1-19№8 К-3860 Легион (ДЗНИИСХ)	23.24	36	К-1-19№33 К-3751 Magnat (Польша)	26.77
12	К-1-19№9 К-3858 Докучаевский 5 (НИИСХ)	24.29	37	К-1-19№34 К-3738 ЛОГ8 (Омская обл.)	24.37
13	К-1-19№10 К-3852 ПРАГ 506 (Дагестан)	27.79	38	К-1-19№35 К-3754 Lamberto (Франция)	23.26
14	К-1-19№11 К-3854 ПРАГ 508 (Дагестан)	24.98	39	К-1-19№36 К-3741 ПРАГ	24.69
15	К-1-19№12 К-3850 ПРАГ205-3 (Дагестан)	26.00	40	К-1-19№37 К3747 Bievenu (Франция)	26.07
16	К-1-19№13 К-3853 ПРАГ507 (Дагестан)	20.67	41	К-1-19№38 К-3740 ПРАГ505	24.13
17	К-1-19№14 К-3851 ПРАГ502 (Дагестан)	25.69	42	К-1-19№39 К-3748 Lupus (Германия)	25.71
18	К-1-19№15 К3848 Osorno (Германия)	22.19	43	К-1-19№40 К-3757 Кастусь (Беларусь)	25.15
19	К-1-19№16 К-3846 Устинья (Самара)	22.21	44	К-1-19№41 К-3755 Алесь (Беларусь)	25.87
20	К-1-19№17 К-3843 Witon (Польша)	23.25	45	К-1-19№42 К3727 СНТ-5/92 (Омская обл.)	25.82
21	К-1-19№18 К-3842 ПРАГ 519	21.26	46	К-1-19№43К-3730 СНТ-7/94 (Омская обл.)	25.11
22	К-1-19№19 К-3840 Presto 401 (Польша)	26.65	47	К-1-19№44 К-3728 СНТ-11/92 (Омская обл.)	27.53
23	К-1-19№20 К-3832 ПРАГ-0-523 (Дагестан)	25.26	48	К-1-19№45 К-3729 СНТ-4/94 (Омская обл.)	25.77
24	К-1-19№21 К-3829 ПРАГ505 (Дагестан)	23.99	49	К-1-19№46 К-3732 СНТ-16/94 (Омская обл.)	27.10
25	К-1-19№22 К-3827 ПРАГ503 (Дагестан)	23.60	50	Немчиновский 56	27.06

Примечание. ст — значение порогового цикла ПЦР-РВ, отражающее количество копий ПЦР-мишени в исходном образце.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что разработанные нами олигонуклеотиды детектируют все имеющиеся у нас виды фузариума и позволяют качественно определить наличие нуклеиновых кислот данных патогенов в образцах озимой тритикале. Ложноотрицательных результатов и ингибирований реакций при проведении анализов не выявлено.

Определение видового состава грибов рода *Fusarium* в образцах тритикале методом секвенирования было затруднено их заражением несколькими видами данного патогена. Для определения видового разнообразия были апробированы разработанные нами олигонуклеотиды для видовой диагностики методом классической ПЦР. Результаты видового анализа показаны в табл. 5. Положительным результатом считали образцы, у которых размер полученного продукта амплификации совпадал с ожидаемым, а также отсутствовали вторичные продукты реакции.

В результате проведенного анализа видового разнообразия грибов рода *Fusarium* во всех исследуемых образцах озимой тритикале выявлен вид *F. poae*.

Следует отметить, что только у образца К-1-19№28 К-3831 сорт ПРАГ522 выявлено совместное заражение всеми исследуемыми видами фузариумов: *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. culmorum* и *F. oxysporum*. В образцах тритикале сортов ПРАГ507, Osorno, Устинья, ПРАГ 519, ОГМ-1 и СНТ-4/94 присутствуют три исследуемых вида в различной комбинации. Наличие сразу нескольких видов грибов рода *Fusarium* в растении-хозяине — характерное явление для исследуемого патогена. Это подтверждают работы, посвященные изучению видов данного рода (Глинушкин, 2018).

Результаты видовой диагностики рода *Fusarium* на образцах озимой тритикале  
 [The results of *Fusarium* species diagnostics on samples of winter triticale]

Образец, номер	Наименование	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. poae</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. oxysporum</i>
1	СИРС 57	+	+	-	-
2	Александр	+	+	-	-
3	Линия 114h	-	+	-	-
4	К-1-19№1 К-3866 (Marko, Польша)	-	+	+	-
5	К-1-19№2 К-3862 (НИИСХ Сев-Зап)	+	+	-	-
6	К-1-19№3 К-3861 Немчиновский 5b (МосНИИСХ "Немчиновка")	-	+	-	-
7	К-1-19№4 К-3857 ПРАГ 520 (Дагестан)	-	+	-	-
8	К-1-19№5 К-3865 Prado (Польша)	-	+	-	-
9	К-1-19№6 К-3864 SW Algalo (Швеция)	-	+	-	-
10	К-1-19№7 К-3855 ПРАГ 510 (Дагестан)	-	+	+	-
11	К-1-19№8 К-3860 Легион (ДЗНИИСХ)	-	+	+	-
12	К-1-19№9 К-3858 Докучаевский 5 (НИИСХ)	-	+	+	-
13	К-1-19№10 К-3852 ПРАГ 506 (Дагестан)	-	+	-	+
14	К-1-19№11 К-3854 ПРАГ 508 (Дагестан)	-	+	+	-
15	К-1-19№12 К-3850 ПРАГ205-3 (Дагестан)	-	+	-	-
16	К-1-19№13 К-3853 ПРАГ507 (Дагестан)	+	+	+	-
17	К-1-19№14 К-3851 ПРАГ502 (Дагестан)	-	+	-	-
18	К-1-19№15 К3848 Osorno (Германия)	+	+	+	-
19	К-1-19№16 К-3846 Устинья (Самара)	+	+	+	-
20	К-1-19№17 К-3843 Witon (Польша)	+	+	-	-
21	К-1-19№18 К-3842 ПРАГ 519	+	+	-	+
22	К-1-19№19 К-3840 Presto 401 (Польша)	-	+	+	-
23	К-1-19№20 К-3832 ПРАГ-0-523 (Дагестан)	-	+	-	+
24	К-1-19№21 К-3829 ПРАГ505 (Дагестан)	+	+	-	-
25	К-1-19№22 К-3827 ПРАГ503 (Дагестан)	-	+	-	-
26	К-1-19№23 К-3849 Partout (Германия)	-	+	+	-
27	К-1-19№24 К-3845 Варвара (Самарская обл.)	-	+	-	-
28	К-1-19№25 К-3844 Krakowiak (Польша)	-	+	-	-
29	К-1-19№26 К-3841 ПРАГ518 (Дагестан)	+	+	-	-
30	К-1-19№27 К-3839 Бард (ДЗНИИСХ)	+	+	-	-
31	К-1-19№28 К-3831 ПРАГ522	+	+	+	+
32	К-1-19№29 К-3828 ПРАГ504	+	+	-	-
33	К-1-19№30 К-3750 Timlo (Франция)	-	+	-	-
34	К-1-19№31 К-3739 ОГМ-1 (Омская оюл.)	+	+	+	-
35	К-1-19№32 К-3753 Bellac (Франция)	-	+	-	-
36	К-1-19№33 К-3751 Magnat (Польша)	-	+	-	-
37	К-1-19№34 К-3738 ЛОГ8 (Омская обл.)	-	+	-	-
38	К-1-19№35 К-3754 Lamberto (Франция)	+	+	-	-
39	К-1-19№36 К-3741 ПРАГ	-	+	+	-
40	К-1-19№37 К3747 Bievenu (Франция)	-	+	-	-
41	К-1-19№38 К-3740 ПРАГ505	-	+	-	-
42	К-1-19№39 К-3748 Lurus (Германия)	-	+	+	-
43	К-1-19№40 К-3757 Кастусь (Беларусь)	-	+	-	-
44	К-1-19№41 К-3755 Алесь (Беларусь)	-	+	-	-
45	К-1-19№42 К3727 СНТ-5/92 (Омская обл.)	-	+	-	-
46	К-1-19№43К-3730 СНТ-7/94 (Омская обл.)	+	+	-	-
47	К-1-19№44 К-3728 СНТ-11/92 (Омская обл.)	-	+	-	-
48	К-1-19№45 К-3729 СНТ-4/94 (Омская обл.)	+	+	+	-
49	К-1-19№46 К-3732 СНТ-16/94 (Омская обл.)	-	+	-	-
50	Немчиновский 56	-	+	-	-

В анализируемой выборке образцов рассматривалась тритикале урожая 2020 г., однако для более точного изучения видового разнообразия и определения доминирующих видов на территории центрального региона России необходимо исследовать урожай ряда лет выращивания. Такой скрининг позволит сопоставить полученные данные по тритикале с другими злаковыми культурами, что может помочь прогнозированию и предотвращению распространения фузариума по территории РФ. Увеличение посевных площадей, урожайности и выведения новых сортов злаков, в том числе озимой тритикале, а также полифагность грибов *Fusarium* делает исследования по распространению и разнообразию представителей этого рода все актуальнее с каждым годом.

## Заключение

Разработанная нами система праймеров и зондов позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью проводить исследование растительного материала на наличие ДНК грибов рода *Fusarium* и может быть рекомендована для проведения скрининговых и диагностических анализов.

Данные видовой диагностики показывают наличие в образцах сразу нескольких возбудителей фузариозов. Преобладающим при этом является *F. poae*. Совместное применение системы для идентификации рода *Fusarium* и идентификации вида позволяет более точно и быстро проводить лабораторные исследования в области диагностики патогенов растений.

## Список источников

1. Гагкаева Т.Ю. Классификация грибов рода *Fusarium* – дискуссия длительностью в двести лет // Микология сегодня. 2011. Т. 2. С. 14–39.
2. 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.
3. 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. Т. 1, № 99. С. 10–18.
4. Гагкаева Т.Ю. и др. Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. 2011. № 5. С. 69–120.
5. Глинушкин А.П., Овсянкина А.В., Кисилева М.И. Видовой состав грибов из рода *Fusarium* на посевах ярового ячменя в центральной части России в 2015–2017 гг. // Российская сельскохозяйственная наука. 2018. № 5. С. 41–46.
6. Дубровская Н.Н. Эффективность фунгицидов в отношении возбудителя фузариозных заболеваний зерновых культур-гриба *Fusarium proliferatum* // The Scientific Heritage. 2020. Т. 50, № 1. С. 3–4.
7. Стахеев А.А. и др. Молекулярно-генетические методы в исследовании таксономии и специфической идентификации токсинпродуцирующих грибов рода *Fusarium*: успехи и проблемы // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51, № 3. С. 275–284.
8. Хасанов Б.А. Фузариозный вилт хлопчатника и современные методы идентификации грибов рода *Fusarium*. Ташкент, 2017. 135 с.
9. Якуба Г.В., Мищенко И.Г. Распространение грибов рода *Fusarium* на плодовых культурах юга России // Плодоводство и ягодоводство России. 2019. Т. 58, № 1. С. 206–211.
10. Abdel-Azeem A. et al. *Fusarium*: Biodiversity, Ecological Significances, and Industrial Applications // Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi. 2019. P. 201–261.
11. Bernal-Martínez L. et al. Detection of invasive infection caused by *Fusarium solani* and non-*Fusarium solani* species using a duplex quantitative PCR-based assay in a murine model of fusariosis // Med. Mycol. 2012. Vol. 50, № 3. P. 270–275.
12. Bubici G. et al. Biological Control Agents Against *Fusarium* Wilt of Banana // Front Microbiol. 2019. Vol. 10.
13. Burgess L.W., Bryden W.L. *Fusarium*: a ubiquitous fungus of global significance // Microbiology Australia. 2012. Vol. 33, № 1. P. 22.
14. Chekali S. et al. Effects of *Fusarium culmorum* and water stress on durum wheat in Tunisia // Crop Protection. 2011. Vol. 30, № 6. P. 718–725.
15. Gräfenhan T. et al. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella* // Stud. Mycol. 2011. Vol. 68. P. 79–113.
16. Islam M.N. et al. Naturally Occurring *Fusarium* Species and Mycotoxins in Oat Grains from Manitoba, Canada // Toxins. 2021. Vol. 13, № 9. P. 670.
17. Ji F. et al. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: A review // Food Production, Processing and Nutrition. 2019. Vol. 1, № 1. P. 1–14.
18. Leslie J., Summerell B., Bullock S. The *Fusarium* Laboratory Manual. Hoboken: John Wiley & Sons, 2006.

19. Moretti A. Taxonomy of *Fusarium* genus: A continuous fight between lumpers and splitters // Zbornik Matice srpske za prirodne nauke. 2009. № 117. P. 7–13.
20. Nelson P., Dignani M., Anaissie E. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species // Clin. Microbiol. Rev. 1994. Vol. 7, № 4. P. 479–504.
21. Okungbowa F.I., Shittu H.O. *Fusarium* wilts: An overview // Environmental Research Journal. 2012. Vol. 6, № 2. P. 83–102.
22. Summerell B. Resolving *Fusarium*: Current Status of the Genus // Annu Rev. Phytopathol. 2019. Vol. 57, № 1. P. 323–339.
23. Suproniene S. et al. Distribution of trichothecene and zearalenone producing *Fusarium* species in grain of different cereal species and cultivars grown under organic farming conditions in Lithuania // Ann. Agric. Environ. Med. 2010. Vol. 17, № 1. P. 79–86.
24. Zhao B. et al. Phylogeny and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from greenhouse melon soil in Liaoning Province // Saudi Journal of Biological Sciences. 2014. Vol. 21, № 4. P. 374–379.

## References

1. Gagkaeva T.Ju. [Classification of fungi of the genus *Fusarium*– a discussion lasting two hundred years]. *Mikologija segodnja*. V. 2 (2011): pp. 14-39. (In Russ.).
2. Gagkaeva T.Ju., Gavrilova O.P., Levitin M.M. [Biodiversity and ranges of the main toxin-producing fungi of the genus *Fusarium*]. *Biosfera*. V. 6, No. 1 (2014): pp. 36-45. (In Russ.). doi: 10.24855/biosfera.v6i1.202.
3. Gagkaeva T.Ju., Gavrilova O.P., Orina A.S. [First detection of *Fusarium globosum* in small grain cereals on Ural and Siberian territory]. *Vestnik zaščity rastenij*. V. 1, No. 99 (2019): pp. 10-18. (In Russ.). doi: 10.31993/2308-6459-2019-1(99)-10-18.
4. Gagkaeva T.Ju., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozhilov K.V. [*Fusarium* of grain crops]. *Zaščita i karantin rastenij*. V. 5 (2011): pp. 69-120. (In Russ.).
5. Glinushkin A.P., Ovsyankina A.V., Kiseleva M.I. [Species composition of fungi of the genus *Fusarium* on crops of spring barley in the central part of Russia in the years 2015–2017]. *Rossijskaja sel'skochozjajstvennaja nauka*. No. 5 (2018): pp. 41–46. (In Russ.). doi: 10.31857/S250026270000630-8.
6. Dubrovskaya N.N. [Effectiveness of fungicides against the causative agent of *Fusarium* diseases of cereals–the fungus *Fusarium proliferatum*]. *The Scientific Heritage*. V. 50, No. 1 (2020): pp. 3–4. (In Russ.).
7. Stakheyev A.A., Samokhvalova L.V., Ryazantsev D.Yu., Zavriyev S.K. [Molecular genetic approaches for investigation of taxonomy and specific identification of toxin-producing *Fusarium* species: achievements and problems]. *Sel'skochozjajstvennaja biologija*. V. 51, No. 3 (2016): pp. 275–284. (In Russ.). doi: 10.15389/agrobiology.2016.3.275rus.
8. Khasanov B.A. *Fuzarioznyj vilt chlopčatnika i sovremennye metody identifikacii gribov roda Fusarium* [Cotton Wilt and Methods of Identification of *Fusarium* Species]. Tashkent, 2017. 135 p. (In Russ.).
9. Yakuba G.V., Mishchenko I.G. [Spread of *Fusarium* genus fungi on fruit crops of south Russia]. *Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii*. V. 58, No. 1 (2019): pp. 206–211. (In Russ.). doi: 10.31676/2073-4948-2019-58-206-211.
10. Abdel-Azeem A., Abdel-Azeem M., Darwish A., Nafady N., Ibrahim N. *Fusarium*: Biodiversity, Ecological Significances, and Industrial Applications. *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*. (2019): pp. 201–261. doi: 10.1007/978-3-030-10480-1\_6.
11. Bernal-Martínez L., Buitrago M., Castelli M., Rodríguez-Tudela J., Cuenca-Estrella M. Detection of invasive infection caused by *Fusarium solani* and non-*Fusarium solani* species using a duplex quantitative PCR-based assay in a murine model of fusariosis. *Med Mycol*. V. 50, No. 3 (2012): pp. 270–275. doi: 10.3109/13693786.2011.604047.
12. Bubici G., Kaushal M., Prigigallo M., Gómez-Lama Cabanás C., Mercado-Blanco J. Biological Control Agents Against *Fusarium* Wilt of Banana. *Front Microbiol*. V. 10, March (2019). doi: 10.3389/fmicb.2019.00616.
13. Burgess L.W., Bryden W.L. *Fusarium*: a ubiquitous fungus of global significance. *Microbiology Australia*. V. 33, No. 1 (2012): p. 22. doi: 10.1071/MA12022.
14. Chekali S., Gargouri S., Paulitz T., Nicol J., Rezgui M., Nasraoui B. Effects of *Fusarium culmorum* and water stress on durum wheat in Tunisia. *Crop Protection*. V. 30, No. 6 (2011): pp. 718–725. doi: 10.1016/j.cropro.2011.01.007.
15. Gräfenhan T., Schroers H., Nirenberg H., Seifert K. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Stud. Mycol*. V. 68 (2011): pp. 79–113. doi: 10.3114/sim.2011.68.04.
16. Islam M.N., Tabassum M., Banik M., Daayf F., Fernando W.G.D., Harris L.J., Sura S., Wang X. Naturally Occurring *Fusarium* Species and Mycotoxins in Oat Grains from Manitoba, Canada. *Toxins*. V. 13, No. 9 (2021): p. 670. <https://doi.org/10.3390/toxins13090670>.

17. Ji F., He D., Olaniran A.O., Mokoena M.P., Xu J., Shi J. Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: A review. *Food Production, Processing and Nutrition*. V. 1, No. 1 (2019): pp. 1-14.
18. Leslie J., Summerell B., Bullock S. The *Fusarium* Laboratory Manual. Hoboken, John Wiley & Sons, 2006. doi.org/10.1002/9780470278376.
19. Moretti A. Taxonomy of *Fusarium* genus: A continuous fight between lumpers and splitters. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. No. 117 (2009): pp. 7-13. doi: 10.2298/zmspn0917007m.
20. Nelson P., Dignani M., Anaissie E. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clin. Microbiol. Rev.* V. 7, No. 4 (1994): pp. 479-504. doi: 10.1128/cmr.7.4.479.
21. Okungbowa F.I., Shittu H.O. *Fusarium* wilts: An overview. *Environmental Research Journal*. V. 6, No. 2 (2012): pp. 83-102.
22. Summerell B. Resolving *Fusarium*: Current Status of the Genus. *Annu Rev. Phytopathol.* V. 57, No. 1 (2019): pp. 323-339. doi: 10.1146/annurev-phyto-082718-100204
23. Suproniene S., Justesen A., Nicolaisen M., Mankeviciene A., Dabkevicius Z., Semaskiene R., Leistrumaitė A. Distribution of trichothecene and zearalenone producing *Fusarium* species in grain of different cereal species and cultivars grown under organic farming conditions in Lithuania. *Ann. Agric. Environ. Med.* V. 17, No. 1 (2010): pp. 79-86. PMID: 20684484.
24. Zhao B., Yan J., Zhang S., Liu X., Gao Z. Phylogeny and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from greenhouse melon soil in Liaoning Province. *Saudi Journal of Biological Sciences*. V. 21, No. 4 (2014): pp. 374-379. doi: 10.1016/j.sjbs.2013.10.004.

Статья поступила в редакцию 18.01.2023; одобрена после рецензирования 23.01.2023; принята к публикации 22.02.2023.

The article was submitted 18.01.2023; approved after reviewing 23.01.2023; accepted for publication 22.02.2023.

#### Информация об авторах

Алексей Анатольевич Шварцев — alexey.sva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2786-9860>, аспирант;  
 Мария Леонидовна Королева — mariakorolewa@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8746-6249>, научный сотрудник;  
 София Алексеевна Блинова — sofya.blinova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6782-8353>; научный сотрудник;  
 Валентина Сергеевна Рубец — rubez@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1233-8837>; д-р биол. наук, профессор;  
 Владимир Валентинович Пыльнев — pyl8@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0400-0609>; д-р биол. наук, профессор.

#### Information about the authors

Alexey A. Shvartsev — alexey.sva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2786-9860>, postgraduate student;  
 Maria L. Koroleva — mariakorolewa@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8746-6249>, Researcher;  
 Sofia A. Blinova — sofya.blinova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6782-8353>; Researcher;  
 Valentina S. Rubets — rubez@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1233-8837>; PhD, Dr. biol. sci., professor;  
 Vladimir V. Pylnev — pyl8@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0400-0609>; PhD, Dr. biol. sci., professor.

#### Вклад авторов:

Шварцев А. А. — концепция исследования; анализ литературы; обработка результатов; написание исходного текста.  
 Королева М. Л. — выполнение исследования; доработка текста; итоговые выводы.  
 Блинова С. А. — научный консультант; выполнение исследования; развитие методологии; доработка текста; итоговые выводы.  
 Рубец В. С. — развитие методологии; концепция исследования; доработка текста; итоговые выводы.  
 Пыльнев В. В. — научное руководство; концепция исследования; развитие методологии; доработка текста; итоговые выводы.

#### Contribution of the authors:

Shvartsev A. A. — research concep; literature analysis; processing results; writing source code.  
 Koroleva M. L. — implementation of the study; text revision; final conclusions.  
 Blinova S. A. — scientific consultant; performing research; development of methodology; text revision; final conclusions.  
 Rubets V. S. — development of methodology; research concept; text revision; final conclusions.  
 Pylnev V. V. — scientific management; research concept; development of methodology; text revision; final conclusions.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.