



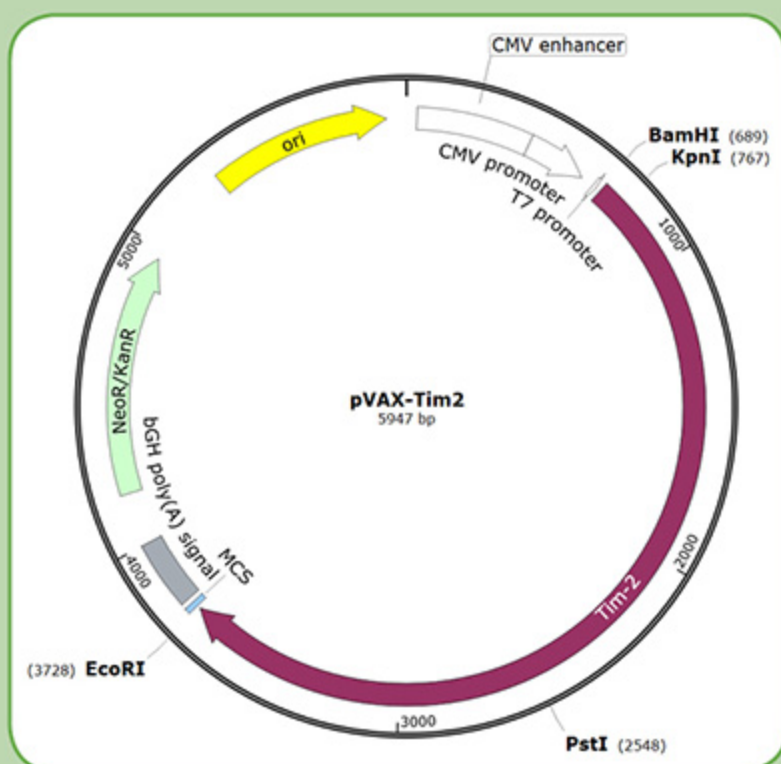
ISSN 1727-1320 (Print),  
ISSN 2308-6459 (Online)

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

---

## PLANT PROTECTION NEWS

2024 TOM VOLUME 107 ВЫПУСК ISSUE 3



Санкт-Петербург  
St. Petersburg, Russia

## МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗЕРНА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ УРОЖАЯ 2023 ГОДА ИЗ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Е.П. Арабина<sup>1,2</sup>, А.С. Орина<sup>1\*</sup>, О.П. Гаврилова<sup>1</sup>, Н.Н. Гогина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства, Сергиев Посад

\* ответственный за переписку, e-mail: [orina-alex@yandex.ru](mailto:orina-alex@yandex.ru)

С помощью количественной ПЦР (кПЦР) и высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) выявлено повсеместное присутствие грибов *Fusarium* и *Alternaria* и продуцируемых ими микотоксинов в зерне озимой пшеницы, выращенной в Краснодарском крае в 2023 году. Во всех образцах обнаружена ДНК грибов *Fusarium*, продуцирующих трихотеценовые микотоксины (Tгi-*Fusarium*) в диапазоне количеств 244–23537 пг/мкг. Доля образцов, в которых выявлена ДНК грибов *Fusarium*, продуцирующих фумонизины (Fum-*Fusarium*), в количестве от 27 до 923 пг/мкг, составила 35%. В зерне всех образцов выявлена ДНК грибов *Alternaria*: содержание ДНК *Alternaria* секции *Alternaria* в среднем оказалось 3630±144 пг/мкг, а ДНК *Alternaria* секции *Infectoriae* – 6814±214 пг/мкг. Из анализированных 36 микотоксинов в зерне обнаружены 17, в каждом образце от 3 до 11 соединений. Среди микотоксинов грибов *Fusarium* чаще других в зерне встречались дезоксиниваленол (ДОН) (в 79% образцов), дезоксиниваленол-3-глюкозид (в 50%), НТ-2 токсин (в 47%) и боверицин (в 70%). В двух образцах зерна (6% от общего числа) обнаружено превышение предельно допустимой концентрации ДОН в 2 и 3 раза. Установлена достоверная положительная связь между количествами ДНК Tгi-*Fusarium* и ДОН, а также зеараленоном, что указывает на доминирование гриба *F. graminearum* среди возбудителей фузариоза зерна в этом регионе. Продемонстрирована высокая встречаемость в зерне микотоксинов грибов *Alternaria* – альтернариола (82% загрязнённых образцов), тентоксина (ТЕН) (100%) и тенаузоновой кислоты (79%). Установлены достоверные связи между содержанием ДНК *Alternaria* секции *Alternaria* и двух микотоксинов – метиловым эфиром альтернариола и ТЕН. Выявлены достоверные различия между образцами из разных районов Краснодарского края по контаминации зерна грибами *Fusarium* и *Alternaria*, а также их микотоксинами.

**Ключевые слова:** грибы, ДНК, *Alternaria*, *Fusarium*, количественная ПЦР, микотоксины, ВЭЖХ-МС/МС

Поступила в редакцию: 05.09.2024

Принята к печати: 18.10.2024

### Введение

В России лидером по площади выращивания озимой пшеницы является Южный федеральный округ (ФО), в котором расположены 43.7% посевов этой культуры (15688 тыс. га) в 2023 г., преимущественно сосредоточенных в Краснодарском крае (Федеральная служба государственной статистики, 2024).

Одним из наиболее экономически значимых заболеваний озимых и яровых зерновых культур в Краснодарском крае является фузариоз, вызываемый различными видами грибов рода *Fusarium*. Кроме прямой потери урожая, ухудшения семенных качеств зерна, вредоносность фузариоза также заключается в загрязнении получаемой продукции микотоксинами – токсичными вторичными метаболитами грибов *Fusarium*. К наиболее опасным из них относятся трихотеценовые микотоксины, включающие дезоксиниваленол (ДОН), Т-2 токсин, ниваленол (НИВ) и др., а также фумонизины (ФУМ). В продовольственном зерне пшеницы и продуктах его переработки нормируется содержание трёх микотоксинов, образуемых грибами рода *Fusarium*: количество Т-2 токсина не должно превышать 100 мкг/кг, ДОН – 700 мкг/кг и зеараленона (ЗЕН) – 1000 мкг/кг (ТР ТС 021/2011; ТР ТС 015/2011).

Из всего разнообразия грибов рода *Fusarium*, колонизирующих зерно, в Южном ФО превалирует агрессивный патоген *F. graminearum*, продуцирующий ДОН и ЗЕН, однако также могут встречаться другие виды этого рода с разнообразными жизненными стратегиями и взаимодействующими с растением как эндофиты, сапротрофы или патогены (Жалиева, 2010; Гагкаева и др., 2012; Гагкаева, Гаврилова, 2014; Шипилова и др., 2014; Горьковенко и др., 2017; Мустафина, Таракановский, 2018; Жемчужина и др., 2020).

Начиная с 2010 г. в образцах зерна из Краснодарского края стали массово выявлять грибы *F. sporotrichioides* и *F. langsethiae*, которые активно синтезируют Т-2 и НТ-2 токсины, что приводит к накоплению этих микотоксинов в зерне (Гагкаева и др., 2012; Гаврилова, Гагкаева, 2020). В то же время отмечена низкая (не более 3%) заражённость зерна пшеницы *F. proliferatum* и *F. verticillioides* – представителями комплекса видов *Fusarium fujikuroi* (FFSC), – продуцентами ФУМ (Гагкаева и др., 2012). Однако ранее сообщалось о загрязнённости ФУМ 50% образцов пшеницы, выращенной в 2011–2014 гг. на юге России (Дробин и др., 2015), а также об обнаружении этих микотоксинов в

двух образцах пшеницы из Краснодарского края урожая 2017 г. в количестве 410 и 1990 мкг/кг (Kononenko et al., 2020).

Чаще грибов рода *Fusarium*, в образцах зерна из Южного ФО встречаются грибы рода *Alternaria* (до 100% образцов), преимущественно представители секций *Alternaria* и *Infectoriae*, частота обнаружения которых в разные годы может значительно варьировать (Ганнибал, 2018). Эти грибы повсеместно распространены в микобиоте зерновых культур и, по всей видимости, обитают в зерне как эндофиты (Sun et al., 2023; Sharon et al., 2024), при этом не оказывая существенного влияния на показатели качества зерна (Kosiak et al., 2004; Орина и др., 2020). Однако, грибы *Alternaria* продуцируют разнообразные микотоксины, среди которых наиболее часто в зерне обнаруживают альтернариол (АОЛ), монометилловый эфир альтернариола (АМЭ), тентоксин (ТЕН) и тенуазоновую кислоту (ТК) (Tralamazza et al., 2018; Masiello et al., 2022). В России содержание этих и других альтернариотоксинов в зерне не регламентируется, несмотря на их негативное действие на организм потребителей зернопродукции (Chen et al., 2021; Аксёнов и др., 2023). Ранее неоднократно выявляли критически высокие значения микотоксинов, продуцируемых *Alternaria*, в зерне из разных регионов РФ (Kononenko et al., 2020; Орина и др., 2020, 2021; Седова и др., 2024).

Наличие проблемы заражённости зерновых культур токсинопродуцирующими грибами ведет к необходимости микотоксикологической характеристики получаемого

зерна. Благодаря способности одного вида одновременно продуцировать различные метаболиты, встречаемость в зерне нескольких разных грибов может представлять угрозу его загрязнения спектром микотоксинов.

За последние годы количественная ПЦР (кПЦР) зарекомендовала себя как объективный аналитический метод количественного выявления биомассы грибов, выраженного через содержание их ДНК, в растительном материале, и успешность его применения для оценки заражённости зерна разными таксономическими группами продемонстрирована неоднократно (Гагкаева и др., 2017; Gagkaeva et al., 2019; Orina et al., 2018, 2020, 2021; Каракотов и др., 2019). Определяемое этим методом содержание ДНК целевого объекта (токсинопродуцирующего гриба или группы близкородственных видов) во многих случаях позволяет уверенно прогнозировать содержание продуцируемых им/ими микотоксинов вследствие высокой достоверной положительной связи между этими количественными показателями (Gagkaeva et al., 2018, 2019; Orina et al., 2021; Лебедин и др., 2021). Другими преимуществами использования кПЦР являются её высокая специфичность, объективность и быстрота получения результатов, что может являться решающим фактором при принятии решения о целевом назначении той или иной партии зерна.

**Цель работы** – охарактеризовать образцы озимой пшеницы, выращенной в Краснодарском крае в 2023 г., по заражённости грибами *Alternaria* и *Fusarium* и контаминации микотоксинами.

### Материалы и методы

#### Образцы зерна

Проанализировано 34 образца озимой пшеницы, выращенной в 19 хозяйствах из восьми районов Краснодарского края (Белоглинский, Динской, Калининский, Каневской, Кореновский, Красноармейский, Тбилисский и Успенский) в 2023 г. Из них 26 были отобраны из партий зерна товарного, а остальные – из партий семенного назначения (табл. 1). Лабораторные анализы выполнены в период апрель – май 2024 г.

Из каждого среднего образца отбирали навески по 20 г зерна, которые затем размалывали с помощью лабораторной мельницы Stegler ЛЗМ-1-02 (Stegler, Китай) при 22000 об/мин в течение 1 мин. Полученные размолы хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Экстракция ДНК и измерение её концентрации

Экстракцию общей ДНК из 200 мг муки каждого образца проводили по адаптированному ранее протоколу (Orina et al., 2018). Из мицелия коллекционных штаммов грибов *Fusarium* и *Alternaria* выделяли ДНК согласно общепринятой методике с помощью 2% раствора цетилтриметиламмоний бромида и хлороформа. Все использованные в исследовании референсные штаммы грибов идентифицированы с помощью молекулярно-генетических методов и хранятся в коллекции лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ ВИЗР (табл. 2).

Концентрацию ДНК, выделенной из мицелия грибов, измеряли с использованием набора Quant-iT dsDNA HS Assay Kit (0–100 ng), ДНК из зерновой муки – Quant-iT dsDNA BS Assay Kit (0–1000 ng) на флуорометре Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific, США). ДНК штаммов грибов

разводили деионизированной водой до концентрации 10 нг/мкл и использовали в качестве стандартов для построения калибровочных кривых при проведении кПЦР. Концентрацию ДНК, выделенной из зерновой муки, выравняли до 30–80 нг/мкл в каждом образце.

#### Анализ содержания ДНК грибов

Содержание ДНК видов *Fusarium*, способных продуцировать трихотеченовые микотоксины (*Tri-Fusarium*) и ДНК видов *Fusarium*, продуцирующих фумонизины (*Fum-Fusarium*) оценивали методом кПЦР с пробами TaqMan. Реакции проводили в объеме 20 мкл, содержащем 10 мкл мастер-микса 2×TaqAB (АлкорБио, Россия), по 300 нМ каждого праймера, 100 нМ флуоресцентного зонда (АлкорБио, Россия) и 2 мкл раствора ДНК. Содержание ДНК грибов секций *Alternaria* и *Infectoriae* рода *Alternaria* выявляли методом кПЦР с красителем SYBR Green. Реакцию проводили в объеме 20 мкл, содержащем 4 мкл мастер-микса 5×qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия), по 500 нМ каждого праймера и 2 мкл раствора ДНК. Последовательности праймеров и протоколы амплификации приведены в таблице 3. Реакции проводили на термоциклере CFX96 Real-Time System (BioRad, США) минимум в двух повторностях. Среднее и стандартные ошибки рассчитывали с использованием программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager 1.6. В каждом образце оценивали долю ДНК грибов к общей ДНК (пг/нг). Нижний достоверный предел выявления содержания ДНК грибов в пробе общей ДНК из образца муки установлен на уровне  $5 \times 10^{-4}$  пг/нг.

**Таблица 1.** Образцы зерна озимой пшеницы, выращенной в Краснодарском крае в 2023 г.**Table 1.** Grain samples of winter wheat grown in Krasnodarskiy Krai in 2023

№ п/п	Район	Сорт пшеницы	Назначение партии зерна	##	Disctrict	Wheat variety	Grain batch purpose
1	Белоглинский	Безостая 100	Товарное	1	Beloglinskiy	Bezostaya 100	Food / feed
2		Маркиз	Семенное	2		Seed	
3		Классика	Товарное	3		Food / feed	
4		Стиль	Товарное	4		Food / feed	
5		Гром	Товарное	5		Food / feed	
6		Школа	Товарное	6		Food / feed	
7		Стиль	Товарное	7		Food / feed	
8		Школа	Товарное	8		Food / feed	
9		Стиль	Товарное	9		Food / feed	
10		Степь	Товарное	10		Food / feed	
11		Ахмат	Товарное	11		Akhmat	Food / feed
12		Таня	Товарное	12		Tanya	Food / feed
13		Васса	Семенное	13		Wassa	Seed
14		Гром	Семенное	14		Grom	Seed
15		Стиль	Семенное	15		Stil	Seed
16	Динской	Ахмат	Товарное	16	Dinskoy	Akhmat	Food / feed
17	Калининский	Таня	Товарное	17	Kalininskiy	Tanya	Food / feed
18		Ахмат	Товарное	18		Akhmat	Food / feed
19		неизв.	Товарное	19		unknown	Food / feed
20		неизв.	Товарное	20		unknown	Food / feed
21	Каневской	сортосмесь	Товарное	21	Kanevskoy	variety mix	Food / feed
22		Гром	Товарное	22		Grom	Food / feed
23	Кореновский	Юка	Товарное	23	Korenovskiy	Yuka	Food / feed
24		Ахмат	Товарное	24		Akhmat	Food / feed
25		неизв.	Товарное	25		unknown	Food / feed
26	Красноармейский	Стан	Товарное	26	Krasnoarmeyskiy	Stan	Food / feed
27	Тбилисский	Алексеич	Товарное	27	Tbilisskiy	Alekseich	Food / feed
28		Федор	Семенное	28		Fedor	Seed
29		Классика	Семенное	29		Classika	Seed
30		сортосмесь	Семенное	30		variety mix	Seed
31		Безостая-100	Товарное	31		Bezostaya-100	Food / feed
32		Таня	Товарное	32		Tanya	Food / feed
33		Стиль-18	Товарное	33		Stil-18	Food / feed
34	Успенский	неизв.	Семенное	34	Uspenskiy	unknown	Seed

**Таблица 2.** Штаммы грибов *Alternaria* и *Fusarium*, использованные в исследованиях

Вид	Штамм	Происхождение	Растение-хозяин, субстрат	Год выделения
<i>F. graminearum</i> (Tri- <i>Fusarium</i> *)	MFG 58746	Беларусь	рожь, зерно	2009
<i>F. verticillioides</i> (Fum- <i>Fusarium</i> )	MFG 59009	Грузия	кукуруза, зерно	2016
<i>A. tenuissima</i> (секц. <i>Alternaria</i> )	MFP 556101	Россия, Астраханская обл.	томат, лист	2008
<i>Alternaria</i> sp. (секц. <i>Infectoriae</i> )	MFP 094161	Россия, Ленинградская обл.	пшеница, зерно	2006

\* Tri-*Fusarium* и Fum-*Fusarium* – группы видов грибов *Fusarium*, продуцирующих трихотеценовые микотоксины или фумонизины соответственно.

**Table 2.** *Alternaria* and *Fusarium* strains used in the study

Species	Strain	Origin	Host, substrate	Year
<i>F. graminearum</i> (Tri- <i>Fusarium</i> *)	MFG 58746	Belarus	rye, grain	2009
<i>F. verticillioides</i> (Fum- <i>Fusarium</i> )	MFG 59009	Georgia	corn, grain	2016
<i>A. tenuissima</i> (sect. <i>Alternaria</i> )	MFP 556101	Russia, Astrakhan Oblast	tomato, leaf	2008
<i>Alternaria</i> sp. (sect. <i>Infectoriae</i> )	MFP 094161	Russia, Leningrad Oblast	wheat, grain	2006

\* Tri-*Fusarium* & Fum-*Fusarium* – species groups of the *Fusarium* fungi producing trichothecene mycotoxins and fumosinins, respectively.

Таблица 3. Праймеры, зонды и протоколы количественной ПЦР, использованные в работе

Целевой объект*	Праймеры и зонды	Нуклеотидные последовательности (5' → 3')	Схема ПЦР	Литературный источник
Tri- <i>Fusarium</i>	TMTri,f TMTri,r TMTri,p	CAGCAGMTRCTCAAGGTAGACCC AACTGTAYACRACCATGCCAAC Cy5-AGCTTGGTGTGGGATCTGTCCTTACCG-BHQ2	95° - 3 мин; [95° - 15 с; 60° - 60 с]×40	Halstensen et al., 2006
Fum- <i>Fusarium</i>	fum1_fw fum1_rev fum1_probe	ATGCAAGAGGCGAGGCAA GGCTCTCAGAGCTTGGCAT Cy5-CAATGCCATCTTCTTCAAACCT-BHQ2	95° - 3 мин; [95° - 15 с; 58° - 45 с]×40	Preiser et al., 2015
<i>Alternaria</i> секц. <i>Alternaria</i>	AAF2 AAR3	TGCAATCAGCGTCAGTAACAAA ATGGATGCTAGACCTTTGCTGAT	50° - 2 мин; 95° - 10 мин; [95° - 15 с; 67° - 60 с; 72° - 5 с]×40	Konstantinova et al., 2002, Orina et al., 2021
<i>Alternaria</i> секц. <i>Infectoriae</i>	AinfF3 AinfR4	CTCGATGTCCGCCTCAGTAG GAGGATAGCACGGCTGGTAG	50° - 2 мин; 95° - 10 мин; [95° - 15 с; 67° - 60 с; 72° - 3 с]×40	Gannibal et al., 2007; Orina et al., 2021

\* см. примечание к таблице 2.

Table 3. Primers, probes and PCR protocols used in the study

Target*	Primers and probes	Nucleotide sequences (5' → 3')	PCR protocol	Reference
Tri- <i>Fusarium</i>	TMTri,f TMTri,r TMTri,p	CAGCAGMTRCTCAAGGTAGACCC AACTGTAYACRACCATGCCAAC Cy5-AGCTTGGTGTGGGATCTGTCCTTACCG-BHQ2	95° - 3 min; [95° - 15 sec; 60° - 60 sec]×40	Halstensen et al., 2006
Fum- <i>Fusarium</i>	fum1_fw fum1_rev fum1_probe	ATGCAAGAGGCGAGGCAA GGCTCTCAGAGCTTGGCAT Cy5-CAATGCCATCTTCTTCAAACCT-BHQ2	95° - 3 min; [95° - 15 sec; 58° - 45 sec]×40	Preiser et al., 2015
<i>Alternaria</i> sect. <i>Alternaria</i>	AAF2 AAR3	TGCAATCAGCGTCAGTAACAAA ATGGATGCTAGACCTTTGCTGAT	50° - 2 min; 95° - 10 min; [95° - 15 sec; 67° - 60 sec; 72° - 5 sec]×40	Konstantinova et al., 2002, Orina et al., 2021
<i>Alternaria</i> sect. <i>Infectoriae</i>	AinfF3 AinfR4	CTCGATGTCCGCCTCAGTAG GAGGATAGCACGGCTGGTAG	50° - 2 min; 95° - 10 min; [95° - 15 sec; 67° - 60 sec; 72° - 3 sec]×40	Gannibal et al., 2007; Orina et al., 2021

\* see the Table 2 footnote.

*Анализ содержания микотоксинов*

Экстракцию проводили из 5 г зерновой муки путем добавления 20 мл экстракционного растворителя (ацетонитрил/вода/уксусная кислота, 79:20:1, об/об/об) и перемешивания на ротационной шейкере ПСУ-20 (Biosan, Латвия) за 90 мин. Затем экстракты центрифугировали 2 мин при 3000 об/мин (Polysom CLn-16, Россия). По 500 мкл каждого экстракта без какой-либо очистки переносили в стеклянные флаконы и добавляли 500 мкл раствора ацетонитрил: вода: уксусная кислота 20:79:1. Затем флаконы герметично закрывали и встряхивали в течение 30 с на Vortex Genius3 (ИКА, Германия). Для анализа отбирали по 5 мкл каждого раствора экстракта автосамплером Agilent (Agilent Technologies, Германия). Детекцию и количественное определение микотоксинов проводили на системе AB SCIEX Triple Quad™ 5500MS/MS (Applied Biosystems, США), оснащенной источником электрораспылительной ионизации TurboV и системой ВЭЖХ серии 1290 (Agilent Technologies, Германия). Хроматографическое разделение проводили при 25 °С на колонке Gemini C18, 150×4.6 мм (Phenomenex, США). В экстрактах анализировали содержание 36 микотоксинов: дезоксиниваленол (ДОН), 3-ацетил-дезоксиниваленол (3-АцДОН), 15-ацетил-дезоксиниваленол (15-АцДОН), дезоксиниваленол-3-глюкозид (ДОН-3-гл), ниваленол (НИВ), фузаренон-Х, зеараленон (ЗЕН), α-зеараленол, β-зеараленол, Т-2 токсин, НТ-2 токсин, Т-2 триол, диацетоксисцирпенол (ДАС),

неосоланиол (НЕО), монилиформин (МОН), фумонизин В1, фумонизин В2, фумонизин В3, боверицин (БОВ), альтернариол (АОЛ), альтернариола метиловый эфир (АМЭ), тентоксин (ТЕН), тенуазоновая кислота (ТК), афлатоксин В1, афлатоксин В2, афлатоксин G1, афлатоксин G2, охра-токсин А, охра-токсин В, стеригматоцистин (СТЕ), мико-феноловая кислота, цитринин, пенициллиновая кислота, рокфортин С, патулин, циклопиазоновая кислота.

Валидацию методики для изучения восстановления аналитов при анализе зерна пшеницы и количественный анализ содержания микотоксинов проводили согласно общепринятым руководствам (Malachová et al., 2014; ГОСТ 34140-2017). Для количественного определения микотоксинов в зерне применялись методы калибровки, соответствующие матрице, с использованием стандартных растворов микотоксинов (Romer Labs, Австрия). Предел обнаружения (LOD) для анализируемых микотоксинов устанавливался путем 20 измерений каждой чистой матрицы и расчета среднего значения. Предел количественного определения (LOQ) для анализируемых микотоксинов определялся путем добавления каждого анализируемого микотоксина к чистой матрице. Когда значение S/N (сигнал-шум) 20 параллельных измерений было выше пяти, а воспроизводимость была выше 80%, устанавливался LOQ для каждой матрицы. Показатели LOD и LOQ для выявленных микотоксинов представлены в таблице 4.

**Таблица 4.** Восстановление аналита, предел обнаружения (LOD) и предел количественного определения (LOQ) для выявленных микотоксинов в зерне озимой пшеницы

Аналит	Восстановление аналита, %	LOD, мкг/кг	LOQ, мкг/кг
Дезоксиниваленол	110	5.00	5.67
3-ацетил-дезоксиниваленол	90	9.56	11.45
15-ацетил-дезоксиниваленол	86	26.00	33.80
Дезоксиниваленол-3-глюкозид	80	5.20	5.67
Ниваленол	85	5.20	5.67
Зеараленон	89	0.56	1.08
T-2 токсин	76	2.52	3.50
HT-2 токсин	80	3.00	3.50
T-2 триол	80	4.95	5.30
Неосоланиол	80	4.50	5.67
Монилиформин	92	5.00	5.78
Боверицин	90	0.30	0.34
Альтернариол	85	0.79	0.98
Метиловый эфир альтернариола	85	0.69	0.98
Тентоксин	86	0.79	0.98
Тенуазоновая кислота	79	6.30	11.31
Стеригматоцистин	91	0.38	0.57

#### Статистический анализ

В программе Microsoft Excel 2010 рассчитывали средние значения и доверительные интервалы. В программе STATISTICA 10.0 оценивали связи между количественными

**Table 4.** Analyte recovery, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for detected mycotoxins in winter wheat grain

Analyte	Analyte recovery, %	LOD, µg/kg	LOQ, µg/kg
Deoxynivalenol	110	5.00	5.67
3-acetyl-deoxynivalenol	90	9.56	11.45
15-acetyl-deoxynivalenol	86	26.00	33.80
Deoxynivalenol-3-glucoside	80	5.20	5.67
Nivalenol	85	5.20	5.67
Zearalenone	89	0.56	1.08
T-2 toxin	76	2.52	3.50
HT-2 toxin	80	3.00	3.50
T-2 triol	80	4.95	5.30
Neosolaniol	80	4.50	5.67
Moniliformin	92	5.00	5.78
Beauvericin	90	0.30	0.34
Alternariol	85	0.79	0.98
Alternariol monomethyl ether	85	0.69	0.98
Tentoxin	86	0.79	0.98
Tenuazonic acid	79	6.30	11.31
Sterigmatocystin	91	0.38	0.57

признаками с использованием линейного коэффициента корреляции Пирсона (r), а также оценивали влияние конкретного фактора на анализированные показатели с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

#### Результаты

#### Количество ДНК грибов *Fusarium* и *Alternaria* в зерне

Методом кПЦР выявлено присутствие ДНК Tri-*Fusarium* в зерне 100% анализированных образцов в количестве  $(28008 \pm 7228) \times 10^{-4}$  пг/нг в среднем. В образцах зерна из Динского, Калининского и Тбилисского районов

выявлены наиболее высокие значения количества ДНК этой группы грибов, тогда как в зерне образцов из Белоглинского района количество ДНК Tri-*Fusarium* было в среднем в 2.0–8.5 раз достоверно ниже, чем в образцах из других районов (табл. 5).

**Таблица 5.** Содержание ДНК грибов *Fusarium* и *Alternaria* в зерне озимой пшеницы

Район (число образцов)	Количество ДНК грибов $\times 10^{-4}$ в среднем* (мин – макс), пг/нг			
	Tri- <i>Fusarium</i>	Fum- <i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i> секц. <i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> секц. <i>Infectariae</i>
Белоглинский (15)	10566±2172 (2439–30287)	1436±493 (0–5538)	11851±1062 (6368–19608)	33071±3311 (18190–68137)
Динской (1)	90152	0	13384	13763
Калининский (4)	34205±20325 (3368–95431)	2308±2262 (0–9232)	16468± 6897 (5723–36296)	18953±4221 (9661–30515)
Каневской (2)	13725; 31229	0; 0	26204; 27560	32507; 48208
Кореновский (3)	21389±7981 (11774–37583)	354±347 (0–1063)	18091± 8267 (5487–34106)	13991±2797 (8291–17125)
Красноармейский (1)	23299	0	32398	39541
Тбилисский (7)	55856±30179 (6163–235372)	39±39 (0–275)	16879± 2856 (9091–31356)	30097±3383 (21185–46328)
Успенский (1)	43407	273	10806	18498

\*в таблице приведены средние значения с доверительным интервалом при уровне значимости 95%.

**Table 5.** The content of *Fusarium* and *Alternaria* DNA in the grain samples of winter wheat

District (number of samples)	Amount of fungal DNA $\times 10^{-4}$ on average* (min – max), pg/ng			
	Tri- <i>Fusarium</i>	Fum- <i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i> sect. <i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> sect. <i>Infectariae</i>
Beloglinskiy (15)	10566±2172 (2439–30287)	1436±493 (0–5538)	11851±1062 (6368–19608)	33071±3311 (18190–68137)
Dinskoy (1)	90152	0	13384	13763
Kalininskiy (4)	34205±20325 (3368–95431)	2308±2262 (0–9232)	16468± 6897 (5723–36296)	18953±4221 (9661–30515)
Kanevskoy (2)	13725; 31229	0; 0	26204; 27560	32507; 48208
Korenovskiy (3)	21389±7981 (11774–37583)	354±347 (0–1063)	18091± 8267 (5487–34106)	13991±2797 (8291–17125)
Krasnoarmeyskiy (1)	23299	0	32398	39541
Tbilisskiy (7)	55856±30179 (6163–235372)	39±39 (0–275)	16879± 2856 (9091–31356)	30097±3383 (21185–46328)
Uspenskiy (1)	43407	273	10806	18498

\*average values are accompanied with confidence interval at 95% significance level.

Доля образцов, заражённых *Fum-Fusarium*, была значительно ниже – 35%, а количество ДНК этих грибов в зерне в среднем составило  $(2698 \pm 778) \times 10^{-4}$  пг/нг, что оказалось в 10 раз меньше, чем ДНК *Tri-Fusarium*. В образцах зерна из Динского, Каневского и Красноармейского районов ДНК *Fum-Fusarium* не обнаружена.

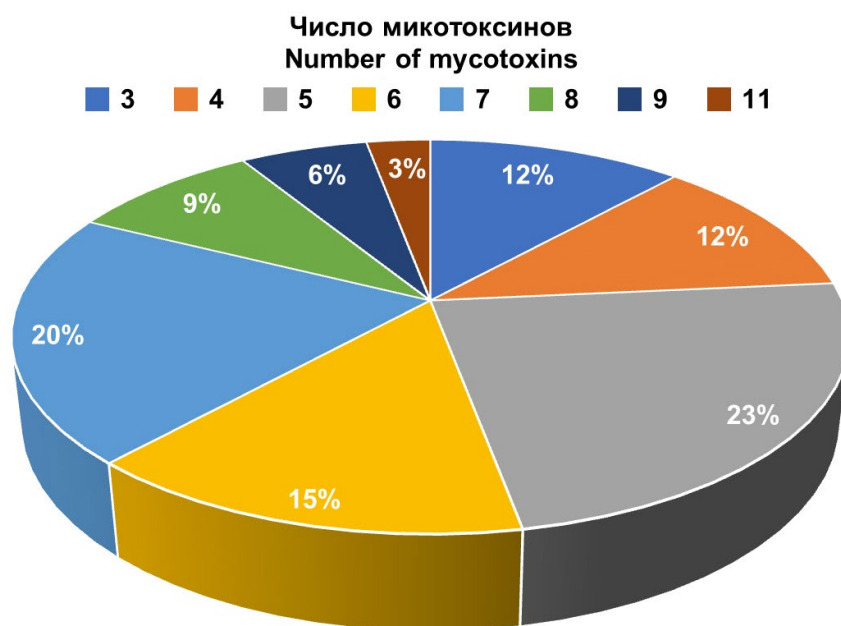
Также в зерне всех образцов выявлена ДНК грибов *Alternaria*: содержание ДНК *Alternaria* секц. *Alternaria* в среднем составило  $(36296 \pm 1443) \times 10^{-4}$  пг/нг, а ДНК *Alternaria* секц. *Infectoriae* –  $(68137 \pm 2137) \times 10^{-4}$  пг/нг. Выявлено достоверное влияние фактора «район отбора образцов» ( $p=0.0013$ ) на количество ДНК *Alternaria* секц. *Infectoriae*: в образцах зерна из Белоглинского, Тбилисского и Успенского районов среднее количество ДНК грибов

из этой секции оказалось в 1.7–2.8 раз выше, чем количество ДНК *Alternaria* секц. *Alternaria*.

Группы образцов семенного и товарного назначения в среднем не различались по количеству ДНК грибов *Fusarium* и *Alternaria*.

*Количество микотоксинов в зерне*

В зерне всех проанализированных образцов выявлены микотоксины грибов *Fusarium* и *Alternaria*, однако их число и количество значительно варьировали (рис. 1, табл. 6). Каждый из образцов был загрязнён не менее чем тремя вторичными метаболитами грибов. Большинство образцов (58%) содержали в зерне 5–7 микотоксинов, а их максимальное разнообразие (11) выявлено в образце пшеницы с Юка из Кореновского района.



**Рисунок 1.** Распределение образцов озимой пшеницы по числу микотоксинов, обнаруженных в зерне

**Figure. 1.** Distribution of grain samples of winter wheat by the number of detected mycotoxins

**Таблица 6.** Содержание микотоксинов в зерне озимой пшеницы

Микотоксин	Доля загрязнённых образцов, %	Выявленное количество (мин – макс), мкг/кг
Дезоксиниваленол	79%	5.0–2038.6
3-ацетил-дезоксиниваленол	3%	50.9
15-ацетил-дезоксиниваленол	6%	28.5; 49.5
Дезоксиниваленол-3-глюкозид	50%	20.1–267.5
Ниваленол	12%	7.2–47.8
Зеараленон	9%	3.7–4.9
T-2 токсин	6%	5.4; 16.0
HT-2 токсин	47%	8.3–288.5
T-2 триол	3%	8.5
Неосоланиол	18%	3.7–7.3
Монилиформин	6%	9.5; 15.7
Боверицин	79%	0.4–4.1
Альтернариол	82%	1.3–55.4
Метиловый эфир альтернариола	29%	1.1–3.9
Тентоксин	100%	1.8–44.8
Тенуазоновая кислота	74%	22.8–490.6
Стеригматоцистин	3%	9.4

**Table 6.** The content of mycotoxins in the grain of winter wheat

Mycotoxin	Quote of contaminated samples, %	Revealed amount (min – max), µg/kg
Deoxynivalenol	79%	5.0–2038.6
3-acetyl-deoxynivalenol	3%	50.9
15-acetyl-deoxynivalenol	6%	28.5; 49.5
Deoxynivalenol-3-glucoside	50%	20.1–267.5
Nivalenol	12%	7.2–47.8
Zearalenone	9%	3.7–4.9
T-2 toxin	6%	5.4; 16.0
HT-2 toxin	47%	8.3–288.5
T-2 triol	3%	8.5
Neosolaniol	18%	3.7–7.3
Moniliformin	6%	9.5; 15.7
Beauvericin	79%	0.4–4.1
Alternariol	82%	1.3–55.4
Alternariol monomethyl ether	29%	1.1–3.9
Tentoxin	100%	1.8–44.8
Tenuazonic acid	74%	22.8–490.6
Sterigmatocystin	3%	9.4

Из проанализированных 36 вторичных метаболитов в зерне обнаружены 17 (табл. 6). Микотоксины 3-АцДОН, 15-АцДОН, ЗЕН, Т-2 токсин, Т-2 триол, МОН и СТЕ встречались единично или редко (в одном-трёх образцах), тогда как частота встречаемости остальных доходила до 100%.

Анализ микотоксинов, продуцируемых грибами рода *Fusarium*, выявил, кроме трёх нормируемых, ещё 9 токсичных вторичных метаболитов. Чаще других в зерне встречались ДОН, ДОН-3гл, НТ-2 токсин и БОВ. В двух образцах – с. Ахмат из Динского района и с. Безостая-100 из Тбилисского района обнаружено превышение ПДК ДОН в зерне в 2 и 3 раза. Образцы зерна, полученные из Белоглинского района, можно охарактеризовать как относительно благополучные с точки зрения контаминации зерна ДОН и ДОН-3гл, по сравнению с образцами из других шести районов (табл. 7).

Превышения ПДК ЗЕН и Т-2 токсина не выявлено. Однако в двух образцах зерна с. Маркиз из Белоглинского района и с. Юка из Кореновского района суммарное содержание химически сходных соединений – Т-2 и НТ-2 токсинов составило 112 мкг/кг и 305 мкг/кг, соответственно.

Анализ микотоксинов, продуцируемых грибами рода *Alternaria*, показал не только их высокую встречаемость в зерне, но и значительные количества этих метаболитов. В 21% образцов АОЛ выявлен в количествах

10.7–55.4 мкг/кг, а в зерне с. Маркиз из Белоглинского района содержание ТК составило 490 мкг/кг.

В одном из образцов, кроме микотоксинов, продуцируемых *Fusarium* и *Alternaria*, обнаружен СТЕ – биосинтетический предшественник афлатоксинов, продуцентами которого являются грибы рода *Aspergillus* (Rank et al., 2011; Кононенко и др., 2017). Ранее сообщалось о выявлении СТЕ в 3 пробах пшеницы из Северо-Кавказского ФО урожая 2023 г. в количестве от 1 до 53 мкг/кг (Седова и др., 2024).

*Выявленные взаимосвязи между анализированными показателями*

Результаты корреляционного анализа показали, что существует высокая достоверная положительная связь между количеством ДНК Tri-*Fusarium* и количеством ДОН, его ацетильных производных и ДОН-3гл в сумме ( $r=0.81$ ,  $p<0.0001$ ), а также с количеством ЗЕН ( $r=0.52$ ,  $p=0.002$ ). Связи между количеством ДНК этой группы грибов и другими трихотеценовыми микотоксинами не выявлены. Также установлена высокая достоверная связь между количеством ДНК Fum-*Fusarium* и БОВ ( $r=0.67$ ,  $p<0.0001$ ).

Между содержанием ДНК грибов *Alternaria* и продуцируемыми ими вторичными метаболитами выявлены достоверные положительные связи между количеством ДНК *Alternaria* секц. *Alternaria* и двух альтернариотоксинов – АМЭ ( $r=0.40$ ,  $p=0.018$ ), а также ТЕН ( $r=0.62$ ,  $p<0.0001$ ).

**Таблица 7.** Загрязнённость основными микотоксинами грибов *Fusarium* и *Alternaria* зерна озимой пшеницы

Район (число образцов)	Количество микотоксинов*, мкг/кг							
	Дезоксинаваленол	Дезоксинаваленол-3-глюкозид	НТ-2 токсин	Боверидин	Альтернариол	Метиловый эфир альтернариола	Тентоксин	Тенуазоновая кислота
Белоглинский (15)	33.8±15.0	3.0±2.0	12.8±7.1	0.9±0.2	4.3±1.0	0.3±0.2	7.5±1.7	98.1±34.2
Динской (1)	2038.6	196.7	0	0.4	1.8	0	4.9	99.3
Калининский (4)	136.8±59.1	29.5±11.7	8.9±5.1	1.8±0.9	7.9±3.9	1.2±0.7	7.5±2.0	151.0±78.0
Каневской (2)	0; 62.9	0; 32.2	28.8; 0	0; 1.0	1.9; 55.4	0; 3.9	11.7; 3.5	307.6; 84.9
Кореновский (3)	155.9±104.2	34.0±17.3	124.7±81.0	0.6±0.4	2.4±1.4	1.0±0.9	21.6±11.4	99.0±27.3
Красноармейский (1)	63.0	59.2	0	0.9	3.0	0	21.0	85.7
Тбилисский (7)	402.4±192.4	78.8±32.3	15.8±5.7	0.7±0.2	6.0±2.5	0.4±0.2	15.1±3.7	38.4±19.1
Успенский (1)	459.1	122.5	58.2	0.5	0	0	16.0	0

\*в таблице приведены средние значения с доверительным интервалом при уровне значимости 95%.

**Table 7.** The contamination of grain samples of winter wheat with main mycotoxins produced by *Fusarium* and *Alternaria* fungi

District (number of samples)	The amount of mycotoxins*, µg/kg							
	Deoxynivalenol	Deoxynivalenol-3-glucoside	HT-2 toxin	Beauvericin	Alternariol	Alternariol monomethyl ether	Tentoxin	Tenuazonic acid
Beloglinskiy (15)	33.8±15.0	3.0±2.0	12.8±7.1	0.9±0.2	4.3±1.0	0.3±0.2	7.5±1.7	98.1±34.2
Dinskoy (1)	2038.6	196.7	0	0.4	1.8	0	4.9	99.3
Kalininskiy (4)	136.8±59.1	29.5±11.7	8.9±5.1	1.8±0.9	7.9±3.9	1.2±0.7	7.5±2.0	151.0±78.0
Kanevskoy (2)	0; 62.9	0; 32.2	28.8; 0	0; 1.0	1.9; 55.4	0; 3.9	11.7; 3.5	307.6; 84.9
Korenovskiy (3)	155.9±104.2	34.0±17.3	124.7±81.0	0.6±0.4	2.4±1.4	1.0±0.9	21.6±11.4	99.0±27.3
Krasnoarmeyskiy (1)	63.0	59.2	0	0.9	3.0	0	21.0	85.7
Tbilisskiy (7)	402.4±192.4	78.8±32.3	15.8±5.7	0.7±0.2	6.0±2.5	0.4±0.2	15.1±3.7	38.4±19.1
Uspenskiy (1)	459.1	122.5	58.2	0.5	0	0	16.0	0

\*average values are accompanied with confidence interval at 95% significance level.



### Обсуждение

К основным токсинопродуцирующим видам грибов *Fusarium*, часто встречающимся на зерновых культурах, относятся как агрессивные патогены *F. graminearum* и *F. avenaceum*, так и виды, характеризующиеся как слабые патогены, сапрофиты и эндофиты: *F. cerealis*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum* и др. Поэтому, как ранее было отмечено, из-за участия в инфекционном процессе множества видов грибов *Fusarium*, характеризующихся различной патогенностью и профилем образуемых вторичных метаболитов, установить порог вредоносности фузариоза зерна достаточно сложно (Гагкаева, Гаврилова, 2014).

В нашем исследовании заражённость зерна грибами *Fusarium* оценивали на основании содержания в зерне ДНК не отдельных видов грибов, а групп с общим признаком – способностью продуцировать трихотеценовые микотоксины (Tri-*Fusarium*) или фумонизины (Fum-*Fusarium*). Преимуществом такого подхода является одновременный учёт вклада в инфицированность зерна разных видов грибов, включающих не только высоко агрессивные патогены, но и те, которые не оказывают заметного вреда растению, но при этом синтезируют опасные микотоксины. Связь между количеством ДНК Tri-*Fusarium* и риском загрязнения зерна трихотеценовыми микотоксинами, включающими не только ДОН и Т-2 токсин, была показана ранее (Gagkaeva et al. 2019; Лебедин и др., 2021).

В данном исследовании установлена ожидаемо высокая достоверная связь между количеством ДНК Tri-*Fusarium* и количеством ДОН и его производных (3-АцДОН, 15-АцДОН, ДОН-3гл), что указывает на превалирование *F. graminearum* в комплексе Tri-*Fusarium* по сравнению с другими видами. Проведённый ранее мониторинг заражённости грибами зерна, полученного из Южного ФО, выявлял доминирование *F. graminearum* на всей территории Краснодарского края, однако чаще этот патоген обнаруживали на юго-востоке региона, а также в Каневском районе (Гагкаева, Гаврилова, 2014). Регулярный анализ содержания микотоксинов в зерне пшеницы как продовольственного, так и фуражного назначения, показал, что основная доля образцов из этого региона РФ, как правило, контаминирована ДОН, и его количество в ряде случаев оказалось выше установленной ПДК (Kononenko et al., 2020; Киселева и др., 2021; Седова и др., 2024). В данном исследовании превышение ПДК ДОН выявлено в образцах зерна, полученных из Динского и Тбилисского районов центральной части Краснодарского края, которые в среднем также содержали наибольшие количества ДНК Tri-*Fusarium*.

Кроме ДОН, в образцах зерна с редкой частотой выявлены два других регламентируемых микотоксина – ЗЕН и Т-2 токсин в количествах 5–16 мкг/кг, что значительно ниже установленных ПДК. Однако, если учитывать присутствие Т-2 токсина вместе с часто встречающимся в зерне НТ-2 токсином, обладающим сходной высокой токсичностью, то в двух образцах зерна суммарное содержание этих микотоксинов превышало ПДК Т-2 токсина в 1.1–3.1 раз.

На основании ранее проведённых нами модельных экспериментов был предложен нижний критический предел (КП) обнаружения ДНК Tri-*Fusarium* в зерне

–  $3955 \times 10^{-4}$  пг/нг, превышение которого сигнализирует о необходимости в последующей токсикологической экспертизе образца, поскольку высока вероятность обнаружения трихотеценовых микотоксинов (Лебедин и др., 2021). В нашем исследовании 5 образцов содержали ДНК Tri-*Fusarium* в количествах, ниже рекомендованного КП, и содержание микотоксинов в них было незначительным. Среди остальных образцов, содержащих ДНК Tri-*Fusarium* выше КП, доля образцов с превышением ПДК ДОН или суммой Т-2 и НТ-2 токсинов выше 100 мкг/кг составила 14%.

Несмотря на то, что в 35% анализированных образцов обнаружена ДНК грибов, способных продуцировать ФУМ, эти микотоксины в зерне не выявлены. Группа Fum-*Fusarium* включает в себя морфологически-сходные виды комплекса FFSC, из которых на зерне пшеницы в Краснодарском крае ранее были выявлены *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides* (Гагкаева и др., 2012; Горьковенко и др., 2017), *F. fujikuroi* (Жемчужина и др., 2020). Количество продуцируемых ФУМ может значительно различаться у изолятов *F. verticillioides* и *F. proliferatum* (Tancic et al., 2012; Zhou et al., 2018; Qiu et al., 2020) и во многом зависит от условий среды (Cendoya et al., 2017; Peter Mshelia et al., 2020; Deepthi et al., 2022; Dong et al., 2023). В настоящее время в РФ, выявление ФУМ в зерне пшеницы является примером нетипичной контаминации микотоксинами этой зерновой культуры, в отличие от кукурузы, в зерне которой содержание ФУМ часто достигает значений, превышающих установленную ПДК (Седова и др., 2018; Кононенко и др., 2019). Тем не менее число сообщений из разных стран об обнаружении ФУМ при проведении микотоксикологического анализа пшеницы растёт (Cendoya et al., 2018; Gagkaeva et al., 2018; Kononenko et al., 2020; Senatore et al., 2023). Кроме того показано, что между количествами ДНК *F. proliferatum* и ФУМ в зерне существует достоверная связь (Senatore et al., 2023).

Кроме ФУМ, грибы комплекса видов *F. fujikuroi* способны продуцировать ряд других микотоксинов, например, МОН и БОВ (Stepień, 2014). Среди проанализированных образцов зерна доля загрязнённых БОВ составила 79%, тогда как МОН выявлен только в двух. Выявлена достоверная положительная связь между количеством ДНК Fum-*Fusarium* и количеством БОВ в зерне. В настоящее время БОВ относят к группе остроактуальных микотоксинов, а его функции и токсический эффект находятся на стадии активного изучения (Wu et al., 2018; Hasuda, Bracarense, 2024).

Выявление заражённости образцов зерна грибами *Alternaria* также проводили на основании содержания в зерне ДНК не отдельных видов грибов, а групп, включающих представителей двух секций – *Alternaria* и *Infectoriae*. Эти грибы наиболее обильно представлены в микобиоте семян культурных и диких злаков (Ганнибал 2018; Poursafar et al., 2018; Somma et al., 2019; Sun et al., 2023), тогда как виды других секций – *Chalastospora*, *Panax*, *Pseudoalternaria* и *Ulocladioides*, – которые могут присутствовать в том же субстрате, встречаются спорадически и менее представлены (Poursafar et al., 2018; Masiello et al., 2022; Gannibal et al., 2022). Ранее показано, что в зерне из Краснодарского края встречаются виды *A. tenuissima*,

реже *A. alternata* и *A. arborescens*, относящиеся к секц. *Alternaria*, и представители секц. *Infectoriae* (Гагкаева и др., 2012; Ганнибал, 2018).

В одном из недавних исследований было установлено, что пшеница из Южного ФО контаминирована микотоксинами *Alternaria* в меньшей степени, чем образцы из других ФО: в образцах зерна из Краснодарского края урожая 2018 г. выявлен только ТЕН (в 13 % образцов), а АОЛ, АМЭ и ТК не обнаружены (Киселёва и др., 2021). Результаты нашего исследования показывают не только повсеместную встречаемость грибов *Alternaria* секций *Alternaria* и *Infectoriae* в зерне озимой пшеницы, выращенной на территории края, но и высокую частоту загрязнения образцов всеми четырьмя анализированными микотоксинами АОЛ, АМЭ, ТЕН и ТК, продуцируемыми этими грибами. Выявленное количество ДНК грибов *Alternaria* секц. *Alternaria* было в среднем в 1.9 раз ниже, чем ДНК грибов *Alternaria* секц. *Infectoriae*, что контрастирует с ситуацией в Уральском регионе и Западной Сибири, где доминировали представители секц. *Alternaria* (Орина и др., 2020, 2021).

Выявлена высокая достоверная положительная связь между содержанием ДНК грибов *Alternaria* секц. *Alternaria* и двух микотоксинов – АМЭ и ТЕН. Ранее нами уже были продемонстрированы связи между количеством ДНК *Alternaria* секц. *Infectoriae* и количеством ТЕН (Орина и др., 2020), а также ДНК *Alternaria* секц. *Alternaria* и ТК (Орина и др., 2021). Известно, что представители

разных видов из обеих секций *Alternaria* способны продуцировать анализированные вторичные метаболиты (Oviedo et al., 2013; Tralamazza et al., 2018; Masiello et al., 2020; Gannibal et al., 2022). Между тем, в ряде исследованиях показано, что в условиях чистой культуры представители секц. *Infectoriae* в среднем продуцируют в 8–95 раз меньше АОЛ, чем грибы из секц. *Alternaria* (Kahl et al., 2015; Gannibal et al., 2022), однако токсинопродуцирующая способность индивидуальных штаммов может значительно варьировать и существенно зависит от факторов среды (Tralamazza et al., 2018; Masiello et al., 2020; Gannibal et al., 2022).

Несмотря на отсутствие регламентации допустимого содержания микотоксинов грибов *Alternaria* в сельскохозяйственной продукции на территории РФ, на территории Европейского Союза существует проект рекомендаций, устанавливающий безопасные уровни содержания АОЛ, АМЭ и ТК в пищевых продуктах для детей на основе злаков – не выше 5, 5 и 500 мкг/кг, соответственно (Food Chemistry Institute, 2020). Низкие уровни допустимого содержания АОЛ и АМЭ обусловлены генотоксичностью и тератогенной активностью этих соединений (EFSA, 2016; Chen et al., 2021). По нашим данным, 29% образцов зерна из Краснодарского края урожая 2023 г. содержали АОЛ в количествах, превышающих рекомендованный уровень в 1.3–11 раз.

### Заключение

В зерне пшеницы, выращенной в Краснодарском крае в 2023 г., с помощью высокоточных аналитических методов – кПЦР и ВЭЖХ-МС/МС, выявлено повсеместное присутствие грибов *Fusarium* и *Alternaria* и продуцируемых ими микотоксинов.

Установлена достоверная положительная связь между количествами ДНК *Tri-Fusarium* и ДОН, а также ЗЕН, что указывает на доминирование *F. graminearum* среди возбудителей фузариоза зерна в этом регионе. В 6% образцов выявлено превышение ПДК ДОН. В наиболее представительной в исследовании выборке образцов зерна из Белоглинского района, содержание ДНК *Tri-Fusarium* и ДОН было ниже, по сравнению с образцами из других семи районов Краснодарского края.

### Благодарности

Авторы благодарят специалиста региональной группы маркетинга по Северному Кавказу и ЮФО фирмы «Август»

Клепцову Е.В. за предоставленные для исследований образцы зерна и к.б.н. Гагкаеву Т.Ю. (ВИЗР) за ценные замечания при подготовке рукописи.

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 19-76-30005).

### Библиографический список (References)

- Аксенов ИВ, Седова ИБ, Чалый ЗА, Тутьельян ВА (2023) Альтернативные токсины как фактор риска для здоровья населения. *Анализ риска здоровью* (4):146–157. <http://doi.org/10.21668/health.risk/2023.4.14>
- Гаврилова ОП, Гагкаева ТЮ (2020) Новые сведения о распространении на территории России гриба *Fusarium langsethiae*, продуцирующего Т-2 и НТ-2 токсины. *Вестник защиты растений* 103(3):201–206. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13282>
- Гагкаева ТЮ, Гаврилова ОП (2014) Зараженность зерна грибами *Fusarium* в Краснодарском и Ставропольском краях. *Защита и карантин растений* (3):30–33
- Гагкаева ТЮ, Гаврилова ОП, Орина АС, Казарцев ИА и др (2017) Сравнение методов выявления в зерне токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium*. *Микология и фитопатология* 51(5):292–298
- Гагкаева ТЮ, Ганнибал ФБ, Гаврилова ОП (2012) Зараженность зерна пшеницы грибами *Fusarium* и *Alternaria*

- на юге России в 2010 году. *Защита и карантин растений* (1):37–41
- Ганнибал ФБ (2018) Изучение факторов, влияющих на развитие альтернариоза зерна у злаков, возделываемых в европейской части России. *Сельскохозяйственная биология* 53(3):605–615. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.3.605rus>
- Горьковенко ВС, Бондаренко ИИ, Соловьева АЮ (2017) Фузариозная инфекция в зернотравянопропашном севообороте в Краснодарском крае. Агротехнический метод защиты растений от вредных организмов. Материалы VIII международной научно-практической конференции, посвящается 95-летию Кубанского государственного аграрного университета. 110–114
- ГОСТ 34140-2017. Продукты пищевые, корма, продовольственное сырьё. Метод определения микотоксинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (2017) М.: Стандартинформ
- Дробин ЮД, Солдатенко НА, Сухих ЕА, Коваленко АВ (2015) Итоги мониторинга контаминации фуражного зерна пшеницы, ячменя и кукурузы на юге России. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии* 4(16):27–30
- Жалиева ЛД (2010) Грибы рода *Fusarium* в агроценозе озимой пшеницы в условиях Краснодарского края. *Иммунопатология, аллергология, инфектология* (1):101
- Жемчужина НС, Киселева МИ, Александрова АВ, Коломиец ТМ (2020) Микромицеты на озимой пшенице в Краснодарском крае и Ростовской области. *Защита и карантин растений* (6):22–26
- Каракотов СД, Аршава НВ, Башкатова МБ (2019) Мониторинг и контроль заболеваний пшеницы в Южном Зауралье. *Защита и карантин растений* (7):18–25
- Киселева МГ, Седова ИБ, Чалый ЗА, Захарова ЛП и др. (2021) Анализ продовольственного зерна в Российской Федерации на загрязненность широким спектром микотоксинов (на примере урожая 2018 года). *Сельскохозяйственная биология* 56(3):559–577. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.3.559rus>
- Конonenко ГП, Пирязева ЕА, Зотова ЕВ, Буркин АА (2017) Видовой состав и токсикологическая характеристика грибов рода *Aspergillus*, выделенных из грубых кормов. *Сельскохозяйственная биология* 52(6):1279–1286. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1279rus>
- Конonenко ГП, Буркин АА, Зотова ЕВ, Смирнов АМ (2019) Микотоксикологическое исследование кормового зерна кукурузы (1998–2018 гг.). *Российская сельскохозяйственная наука* (3):28–31. <http://doi.org/10.31857/S2500-26272019328-31>
- Лебедин ЮС, Орина АС, Гаврилова ОП, Гагкаева ТЮ и др. (2021) Применение аналитических методов для выявления критических пределов инфицирования зерна грибами рода *Fusarium*. *Аграрная наука* 344(1):52–60. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-344-1-52-60>
- Мустафина МА, Таракановский АН (2018) Защита от фузариоза колоса – определяющий фактор качества зерна. *Защита и карантин растений* (5):14–16
- Орина АС, Гаврилова ОП, Гагкаева ТЮ, Ганнибал ФБ (2020) Микромицеты *Alternaria* spp. и *Vipolaris sorokiniana* и микотоксины в зерне, выращенном в Уральском федеральном округе. *Микология и фитопатология* 54(5):365–377. <http://doi.org/10.31857/S0026364820050086>
- Орина АС, Гаврилова ОП, Гагкаева ТЮ, Гогина НН (2021) Контаминация зерна из Западной Сибири грибами *Alternaria* и их микотоксинами. *Вестник защиты растений* 104(3):153–162. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-3-15019>
- Седова ИБ, Захарова ЛП, Киселева МГ, Чалый ЗА и др. (2021) Дезоксиниваленол как фактор риска загрязнения продовольственного зерна: мониторинг урожаев 1989–2018 гг. в Российской Федерации. *Анализ риска здоровью* (3):85–98. <http://doi.org/10.21668/health.risk/2021.3.08>
- Седова ИБ, Захарова ЛП, Киселева МГ, Чалый ЗА и др. (2018) Фузариотоксины и афлатоксин В1 в продовольственном зерне кукурузы в Российской Федерации. *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия* 21:129–137
- Седова ИБ, Чалый ЗА, Спиридонова АЛ, Иванова УВ и др. (2024) Микотоксины в продовольственном зерне отечественного производства урожая 2023 г. Анализ риска здоровью – 2024. Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. В 2-х томах. Пермь. 359–363
- 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
- Федеральная служба государственной статистики. 2024 (электронные версии). <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13277> (04.09.2024)
- Шипилова НП, Гаврилова ОП, Гагкаева ТЮ (2014) Влияние зараженности грибами *Fusarium* рода на качественные характеристики зерна озимой пшеницы. *Вестник защиты растений* (4):27–31
- Cendoya E, Pinson-Gadais L, Farnochi MC, Ramirez ML et al (2017) Abiotic conditions leading to FUM gene expression and fumonisin accumulation by *Fusarium proliferatum* strains grown on a wheat-based substrate. *Int J Food Microbiol* 253:12–19. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.04.017>
- Cendoya E, Chiotta ML, Zchetti V, Chulze SN et al (2018) Fumonisin and fumonisin-producing *Fusarium* occurrence in wheat and wheat by-products. A review. *J Cereal Sci* 80:158–166. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.02.010>
- Chen A, Mao X, Sun Q, Wei Z et al (2021) *Alternaria* mycotoxins: an overview of toxicity, metabolism, and analysis in food. *J Agric Food Chem* 69(28):7817–7830. <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03007>
- Deepthi BV, Deepa N, Vanitha PR, Sreenivasa MY (2022) Stress responses on the growth and mycotoxin biosynthesis of *Fusarium proliferatum* associated with stored poultry feeds. *AFS* 2:100091. <http://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100091>
- Dong T, Qiao S, Xu J, Shi J et al (2023) Effect of abiotic conditions on growth, mycotoxin production, and gene expression by *Fusarium fujikuroi* species complex strains from maize. *Toxins* 15(4):260. <http://doi.org/10.3390/toxins15040260>

- EFSA (2016) Dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population. *EFSA J* 14: e04654
- Food Chemistry Institute of the Association of the German Confectionery Industry (2020) *Alternaria* toxins: occurrence, toxicity, analytical methods, maximum levels. *Sweet Vision* 67(1):6–7
- Gagkaeva T, Gavrilova O, Orina A, Lebedin Y et al (2019) Analysis of toxigenic *Fusarium* species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia. *Toxins* 11(5):252. <https://doi.org/10.3390/toxins11050252>
- Gagkaeva TYu, Orina AS, Gavrilova OP, Ablova IB et al (2018) Characterization of resistance of winter wheat varieties to Fusarium head blight. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 22(6):685–692. <http://doi.org/10.18699/VJ18.411>
- Gannibal PB, Orina AS, Kononenko GP, Burkin AA (2022) Distinction of *Alternaria* sect. *Pseudoalternaria* strains among other *Alternaria* fungi from cereals. *J Fungi* 8(5):423. <http://doi.org/10.3390/jof8050423>
- Gannibal PhB, Yli-Mattila T (2007) Morphological and UP-PCR analyses and design of a PCR assay for differentiation of *Alternaria infectoria* species-group. *Mikol Fitopatol* 41:313–322
- Halstensen AS, Nordby KC, Eduard W., Klemsdal SS (2006) Real time PCR detection of toxigenic *Fusarium* in airborne and settled grain dust and associations with trichothecene mycotoxins. *J Environ Monit* 8:1235–1241. <http://doi.org/10.1039/b609840a>
- Hasuda AL., Bracarense APFRL (2024) Toxicity of the emerging mycotoxins beauvericin and enniatins. A mini-review. *Toxicon* 239:107534. <http://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107534>
- Kahl SM, Ulrich A., Kirichenko AA, Müller ME (2015) Phenotypic and phylogenetic segregation of *Alternaria infectoria* from small-spored *Alternaria* species isolated from wheat in Germany and Russia. *J Appl Microbiol* 119:1637–1650
- Konstantinova P, Bonants PJM, van Gent-Pelzer MPE, van der Zouwen P et al (2002) Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. *Mycol Res* 106:23–33. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005160>
- Kononenko GP, Burkin AA, Zotova YeV (2020) Mycotoxilogical monitoring. Part 2. Wheat, barley, oat and maize grain. *Veterinary Science Today* 2:139–145. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145>
- Kosiak B, Torp M, Skjerve E, Andersen B (2004) *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality — a matched pair sample study. *Int J Food Microbiol* 93(1):51–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.006>
- Masiello M, El Ghorayeb R, Somma S, Saab C et al (2022) *Alternaria* species and related mycotoxin detection in Lebanese durum wheat grain. *Phytopathol Mediter* 61(2):383–393. <https://doi.org/10.36253/phyto-13396>
- Masiello M, Somma S, Susca A, Ghionna V et al (2020) molecular identification and mycotoxin production by *Alternaria* species occurring on durum wheat, showing black point symptoms. *Toxins* 12:275. <https://doi.org/10.3390/toxins12040275>
- Orina AS, Gavrilova OP, Gagkaeva TYu (2018) Adaptation of the quantitative PCR method for the detection of the main representatives of cereal grain mycobiota. *MIR J* 5(1):78–83. <https://doi.org/10.18527/2500-2236-2018-5-1-78-83>
- Orina AS, Gavrilova OP, Gogina NN, Gannibal PB et al (2021) Natural occurrence of *Alternaria* fungi and associated mycotoxins in small-grain cereals from the Urals and West Siberia regions of Russia. *Toxins* 13(10):681. <https://doi.org/10.3390/toxins13100681>
- Oviedo MS, Sturm ME, Reynoso MM, Chulze SN et al (2013) Toxigenic profile and AFLP variability of *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria* occurring on wheat. *Brazilian J Microbiol* 44: 447–455
- Mshelia P, Selamat J, Iskandar Putra Samsudin N, Rafii MY et al (2020) Effect of temperature, water activity and carbon dioxide on fungal growth and mycotoxin production of acclimatised isolates of *Fusarium verticillioides* and *F. graminearum*. *Toxins* 12(8):478. <https://doi.org/10.3390/toxins12080478>
- Poursafar A, Ghosta Y, Orina AS, Gannibal PB et al (2018) Taxonomic study on *Alternaria* sections *Infectoriae* and *Pseudoalternaria* associated with black (sooty) head mold of wheat and barley in Iran. *Mycol Prog* 17:343–356
- Preiser V, Goetsch D, Sulyok M, Krska R et al (2015) The development of a multiplex real-time PCR to quantify *Fusarium* DNA of trichothecene and fumonisin-producing strains in maize. *Anal Methods* 7:1358–1365
- Qiu J, Lu Y, He D, Lee YW et al (2020) *Fusarium fujikuroi* species complex associated with rice, maize, and soybean from Jiangsu Province, China: phylogenetic, pathogenic, and toxigenic analysis. *Plant Dis* 104(8):2193–2201. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-19-1909-RE>
- Rank C, Nielsen KF, Larsen TO, Varga J et al (2011) Distribution of sterigmatocystin in filamentous fungi. *Fungal Biol* 115(4–5):406–420. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.02.013>
- Senatore MT, Prodi A, Tini F, Balmas V et al (2023) Different diagnostic approaches for the characterization of the fungal community and *Fusarium* species complex composition of Italian durum wheat grain and correlation with secondary metabolite accumulation. *J Sci Food Agric* 103(9): 4503–4521 <https://doi.org/10.1002/jsfa.12526>
- Sharon O, Kagan-Trushina N, Sharon A (2023) Wheat fungal endophyte communities are inseparable from the host and influence plant development. *mBio* 15:e02533-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.02533-23>
- Somma S, Amatulli MT, Masiello M, Moretti A, Logrieco AF (2019) *Alternaria* species associated with wheat black point identified through a multilocus sequence approach. *Int J Food Microbiol* 293:34–43. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.008>
- Stępień L (2014) The use of *Fusarium* secondary metabolite biosynthetic genes in chemotypic and phylogenetic studies. *Crit Rev Microbiol* 40(2):176–185. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.770387>
- Sun X, Sharon O, Sharon A (2023) Distinct features based on partitioning of the endophytic fungi of cereals and other grasses. *Microbiol Spectr* 11:e0061123. <https://doi.org/10.1128/spectrum.0061123>
- Tancic S, Stankovic S, Levic J, Krnjaja V, Vukojević J (2012) Diversity of the *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum*

- isolates according to their fumonisin B1 production potential and origin. *Genetika* 44(1):163–176. <https://doi.org/10.2298/GENSR1201163T>
- Tralamazza SM, Piacentini KC, Iwase CHT, de Oliveira Rocha L (2018) Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide. *Cur Opin Food Sci* 23:57. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.002>
- Wu Q, Patocka J, Nepovimova E, Kuca K (2018) A review on the synthesis and bioactivity aspects of beauvericin, a *Fusarium* mycotoxin. *Front Pharmacol* 9:1338. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01338>
- Zhou D, Wang X, Chen G, Sun S et al (2018) The major *Fusarium* species causing maize ear and kernel rot and their toxigenicity in Chongqing, China. *Toxins* 10(2):90. <https://doi.org/10.3390/toxins10020090>

#### Translation of Russian References

- Aksenov IV, Sedova IB, Chalyy ZA, Tutelyan VA (2023) [*Alternaria* toxins as a risk factor for public health] *Analiz riska zdorovyu* (4):146–157 (in Russian) <http://doi.org/10.21668/health.risk/2023.4.14>
- Gavrilova OP, Gagkaeva TYu (2020) [New information on the distribution of the fungus *Fusarium langsethiae* in Russia, which produces T-2 and HT-2 toxins] *Vestnik zashchity rasteniy* 103(3):201–206 (in Russian) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13282>
- Gagkaeva TYu, Gavrilova OP (2014) [The contamination of grain by *Fusarium* fungi in the Krasnodar and Stavropol regions] *Zashchita i karantin rasteniy* (3):30–33 (in Russian)
- Gagkayeva TYu, Gavrilova OP, Orina AS, Kazartsev IA (2017) [Comparison of methods for identification of toxin-producing *Fusarium* fungi in the cereal grain] *Mikologiya i Fitopatologiya* 51(5):292–298 (in Russian)
- Gagkaeva TYu, Gannibal FB, Gavrilova OP (2012) [The contamination of wheat grain with *Fusarium* and *Alternaria* fungi in southern Russia in 2010] *Zashchita i karantin rasteniy* (1):37–41 (in Russian)
- Gannibal FB (2018) [Study of the factors influencing the development of *Alternaria* disease in grains cultivated in the European part of Russia.] *Sel'skohozyajstvennaya biologiya* 53(3):605–615 (in Russian) <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.3.605rus>
- Gorkovenko VS, Bondarenko II, Soloveva AYu (2017) [*Fusarium* infection in grain forage crop rotation in the Krasnodar region] [The agrotechnical method of protecting plants from harmful organisms. Materials from the VIII International Scientific and Practical Conference dedicated to the 95th anniversary of the Kuban State Agrarian University] 110–114 (in Russian)
- GOST 34140-2017. Food products, animal feed, food raw materials. Method for determining mycotoxins using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection (2017) M.: Standartinform (in Russian)
- Drobin YuD, Soldatenko NA, Suhii EA, Kovalenko AV (2015) [The results of the monitoring of contamination in feed grains such as wheat, barley, and corn in southern Russia] *Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii* 4(16):27–30 (in Russian)
- Zhalieva LD (2010) [The fungi of the genus *Fusarium* in the agrocenosis of winter wheat in the Krasnodar region] *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya* (1):101 (in Russian)
- Zhemchuzhina NS, Kiseleva MI, Aleksandrova AV, Kolomiets TM (2020) [Micromycetes on winter wheat in the Krasnodar region and Rostov region] *Zashchita i karantin rasteniy* (6):22–26 (in Russian)
- Karakotov SD, Arshava NV, Bashkatova MB (2019) [Monitoring and Control of Wheat Diseases in South Ural] *Zashchita i karantin rasteniy* (7):18–25 (in Russian)
- Kiseleva MG, Sedova IB, Chalyy ZA, Zaharova LP (2021) [Analysis of food grain in the Russian Federation for contamination with a broad spectrum of mycotoxins (based on the 2018 harvest).] *Sel'skohozyajstvennaya biologiya* 56(3):559–577 (in Russian) <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.3.559rus>
- Kononenko GP, Piryazeva EA, Zotova EV, Burkin AA (2017) [The species composition and toxicological characteristics of *Aspergillus* fungi isolated from rough animal feeds] *Sel'skohozyajstvennaya biologiya* 52(6):1279–1286 (in Russian) <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1279rus>
- Lebedin YuS, Orina AS, Gavrilova OP, Gagkaeva TYu (2021) [The application of analytical methods to identify critical thresholds for grain infection by *Fusarium* fungi] *Agrarnaya nauka* 344(1):52–60 (in Russian) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-344-1-52-60>
- Mustafina MA, Tarakanovskiy AN (2018) [The protection against ear fusariosis is a determining factor in grain quality] *Zashchita i karantin rasteniy* (5):14–16 (in Russian)
- Orina AS, Gavrilova OP, Gagkayeva TYu, Gannibal PhB (2020) [Micromycetes *Alternaria* spp. and *Bipolaris sorokiniana* and mycotoxins in the grain from the Ural region] *Mikologiya i Fitopatologiya* 54(5):365–377 (in Russian) <http://doi.org/10.31857/S0026364820050086>
- Orina AS, Gavrilova OP, Gagkaeva TYu, Gogina NN (2021) [Contamination of grain from Western Siberia by *Alternaria* fungi and their mycotoxins] *Vestnik zashchity rasteniy* 104(3):153–162 (in Russian) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-3-15019>
- Sedova IB, Zaharova LP, Kiseleva MG, Chalyy ZA (2021) [Deoxynivalenol as a risk factor for contamination of food grains: monitoring harvests from 1989 to 2018 in the Russian Federation] *Analiz riska zdorovyyu* (3):85–98 (in Russian) <http://doi.org/10.21668/health.risk/2021.3.08>
- Sedova IB, Zaharova LP, Kiseleva MG, Chalyy ZA (2018) [Fusariotoxins and aflatoxin B1 in food corn grain in the Russian Federation] [Scientific works of the North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, and Winemaking] 21:129–137 (in Russian)
- Sedova IB, Chalyy ZA, Spiridonova AL, Ivanova UV (2024) [Mycotoxins in domestically produced food grain of the 2023 harvest] [Health risk assessment – 2024. Proceedings of the XIV All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation] 359–363 (in Russian)
- The Technical Regulation of the Customs Union CU 015/2011 “On Grain Safety,” with amendments as of September 15, 2017, is included in Appendix № 2 (in Russian)

The Technical Regulation of the Customs Union CU 021/2011 “On Food Safety,” with amendments dated August 8, 2019, is included in Appendix № 3 (in Russian) Federal State Statistics Service. 2024 (electronic versions). <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13277> (04.09.2024)

Shipilova NP, Gavrilova OP, Gagkaeva TYu (2014) [The influence of *Fusarium* species infection on the quality characteristics of winter wheat grain] *Vestnik zashchity rasteniy* (4):27–31 (in Russian)

Plant Protection News, 2024, 107(3), p. 108–120

OECD+WoS: 1.06+RQ (Mycology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2024-107-3-16677>

**Full-text article**

## ANALYSIS OF FUNGAL AND MYCOTOXIN CONTAMINATION OF WINTER WHEAT GRAIN GROWN IN KRASNODARSKIY KRAI IN 2023

E.P. Arabina<sup>1,2</sup>, A.S. Orina<sup>1\*</sup>, O.P. Gavrilova<sup>1</sup>, N.N. Gogina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Information Technologies, Mechanics and Optics University, St. Petersburg, Russia

<sup>3</sup>All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Poultry, Sergiev Posad, Russia

\*corresponding author, e-mail: [orina-alex@yandex.ru](mailto:orina-alex@yandex.ru)

Using quantitative PCR (qPCR) and high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) ubiquitous presence of *Fusarium* and *Alternaria* fungi and their mycotoxins was detected in winter wheat grain grown in Krasnodarskiy Krai in 2023. All samples contained DNA of *Fusarium* producing trichothecene mycotoxins (Tri-*Fusarium*) in the range of 244–23537 pg/μg. DNA of *Fusarium* producing fumonisins was detected in 35% of grain samples at 27–923 pg/μg. All samples contained *Alternaria* sect. *Alternaria* and sect. *Infectoriae* DNA at average levels of 3630±144 and 6814±214 pg/μg, respectively. Of the 36 analyzed mycotoxins, 17 metabolites were found in the grain samples: from 3 to 11 mycotoxins in each sample. Among *Fusarium* mycotoxins, most common were deoxynivalenol (DON) (in 79% of samples), deoxynivalenol-3-glucoside (50%), HT-2 toxin (47%), and beauvericin (70%). In two samples (6% of the total), the maximum permissible DON concentration was exceeded by 2–3 times. A significant positive correlation between Tri-*Fusarium* DNA and DON content, as well as zearalenone, was found, indicating *F. graminearum* prevalence among the pathogens causing Fusarium head blight in this region. A high occurrence of mycotoxins produced by *Alternaria* fungi alternariol (82% of contaminated samples), tentoxin (TEN) (100%), and tenuazonic acid (79%) in the grain was revealed. A significant correlation between the content of *Alternaria* sect. *Alternaria* DNA and two mycotoxins alternariol monomethyl ether and TEN was found. Significant distinctions were found between different Krasnodarskiy Krai locations in grain contamination levels with *Fusarium*, *Alternaria* fungi and mycotoxins.

**Keywords:** fungi, DNA, *Alternaria*, *Fusarium*, quantitative PCR, mycotoxins, HPLC-MS/MS

Submitted: 05.09.2024

Accepted: 18.10.2024