

УДК 58.071: 632.937

T.Yu. Gagkaeva, O.P. Gavrilova, I.N. Nikonov, G.Yu. Laptev

ВОЗМОЖНОСТИ БИОДЕГРАДАЦИИ МИКОТОКСИНОВ, ОБРАЗУЕМЫХ ГРИБАМИ РОДА *FUSARIUM*

Аннотация: Грибы рода *Fusarium* распространены повсеместно, встречаются на растениях, в почве, в воздухе. Различные виды этой группы грибов вызывают вредоносное заболевание зерновых культур, приводящее к снижению урожая, уменьшению всхожести семян и загрязнению зерна микотоксинами. Продуцируемые этими грибами микотоксины – трихотецены, зеараленон, фумонизины и др., при попадании в организм человека и животных вызывают нарушения его жизненных функций. В обзоре описаны различные возможности подавления развития грибов рода *Fusarium* и снижения загрязнения микотоксинами зерновых растений и растительных продуктов на их основе. Одним из путей снижения проблемы микотоксинов является использование агентов биологического контроля. Различные виды бактерий, дрожжей, гифальных грибов, с помощью различных механизмов, способны подавлять токсинопродуцирующие *Fusarium* и уменьшать загрязнённость получаемого урожая микотоксинами. Активизация защитных функций самого растения, на первоначальных стадиях инфицирования грибами, также может быть использована в качестве метода биологической защиты. Биодеградация или трансформация микотоксинов возможна в послеуборочный период и в процессе приготовления пищевой продукции и кормов. Представленные в работе современные исследования возможностей использования биологических методов для снижения проблемы фузариоза зерновых культур и загрязнения их микотоксинами, будут способствовать более широкому применению эффективных экологически адаптированных стратегий для получения продукции высоко качества в будущем.

Ключевые слова: грибы рода *Fusarium*, микотоксины, биологический метод контроля, зерновые культуры, качество

T.Yu. Gagkaeva, O.P. Gavrilova, I.N. Nikonov, G.Yu. Laptev

THE POSSIBILITIES OF BIODEGRADATION OF MYCOTOXINS PRODUCED BY *FUSARIUM* FUNGI

Summary: *Fusarium* are filamentous fungi widely distributed everywhere on plants, in the soil and in air. *Fusarium* fungi cause the destructive disease of cereal plants and in most wheat-growing regions around the world. The disease causes yield loss, low seed germination and contamination of grain with mycotoxins. The economically most important mycotoxins produced by *Fusarium* fungi are trichothecenes, zearalenone and fumonisins. This publication provides an overview of the different aspects of the possibilities to avoid a harmful effect of contamination of plants caused by *Fusarium* fungi and their mycotoxins. There are several ways of tackling the problem, one of which consists in using biological control agents able to prevent or reduce disease development in cereal plants. Several bacteria, yeasts and filamentous fungi are able to attack *Fusarium* pathogens, reduce disease damages and mycotoxin contamination. The effective biological agents antagonize pathogens using multiple mechanisms. Targeted activation of host plant defenses before diseases develop may also serve as biological crop protection strategy in *Fusarium* management. Multiple postharvest measures also are available. In this review, we describe the modern status of research and application of biological controls and outline future directions that might lead to the development of more diverse and effective biological controls for getting high quality production.

Keywords: *Fusarium* fungi, mycotoxins, biological control, cereal plants, quality of production

– Откусишь с одной стороны – подрастешь, с другой – уменьшишься...

– С одной стороны чего? И с другой стороны чего?!

– Гриба!

Льюис Кэрролл, "Алиса в Стране Чудес"

Многие фитопатогенные грибы являются целевым объектом для поиска возможностей снижения их вредоносности при помощи биологического метода. В этом ряду токсинопродуцирующие грибы представляют особый интерес, поскольку результат борьбы с ними должен приводить не только к ограничению их численности, но и к уменьшению образующих ими микотоксинов, опасных для здоровья человека и животных.

Грибы рода *Fusarium Link* обладают высокой экологической пластичностью и встречаются в самых разнообразных условиях среды. Многие представители этой группы являются сапротрофами и, способствуя разложению органических остатков, принимают активное участие в почвообразовательном процессе. Большое число видов *Fusarium* являются патогенами растений – вызываемые ими заболевания приводят к значительным потерям урожая и снижению качества получаемой сельскохозяйственной продукции. Одним из самых опасных заболеваний, вызываемых этой группой грибов, является фузариоз зерна. Около 30 видов могут быть связаны с инфицированием зерна, большая часть из которых способны продуцировать микотоксины, различающиеся по химическому строению и по токсичности для теплокровных организмов [1–3].

Наиболее широко распространенная и изученная группа метаболитов, продуцируемых грибами, – трихотеценовые микотоксины, характеризующиеся высокой стабильностью. По химическому строению трихотецены подразделяются на группу А, для которой характерны отличные от кетонов функциональные

группы в положении С8, и группу В, имеющие карбонильную группу в положении С8, [3–5]. Трихотецены группы А включают Т-2 и НТ-2 токсины, диацетоксисцирпенол (ДАС), моноацетоксисцирпенол, неосоланиол, группы В – дезоксиниваленол (ДОН) и его моно(3-ацДОН и 15-ацДОН) и диацетилованные (3,15-ацДОН) производные, ниваленол (НИВ), его ацетилованная производная фузаренона Х (4-ацНИВ) и диацетилованные производные (4,15-ацНИВ). Считается, что трихотецены группы А в основном более токсичны, чем группы В, а Т-2 токсин – один из наиболее остротоксичных среди известных вторичных метаболитов [5].

К основным продуцентам трихотеценовых микотоксинов группы А относятся *F. sporotrichioides* Sherb. и *F. langsethiae* Torp & Nirenberg, микотоксинов группы В – виды *F. graminearum* Schwabe, *F. culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc. и *F. cerealis* (Cooke) Sacc. Известно, что основной токсический эффект трихотеценов придает наличие эпоксидной группы в положении С₁₂/С₁₃, потеря этой группы лишает молекулу токсичности. В основе механизма токсического действия этих метаболитов лежит способность ингибировать синтез белка. Трихотецены являются наиболее широко распространенными микотоксинами на зерновых культурах и подавляющее число исследований связано именно с этой группой метаболитов.

Фумонизины (ФУМ) представлены большой группой соединений – на сегодняшний день идентифицировано 28 аналогов, среди которых наиболее распространены и изучены ФУМ группы В (ФВ1, ФВ2, ФВ3). Одним

из самых известных продуцентов этой группы микотоксинов является *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg [6]. ФУМ разрушают клеточные мембраны, подавляют иммунитет организма, негативно действуют на эмбрионы, вызывают нарушения в печени и почках, оказывают канцерогенное действие.

Зеараленон (ЗЕН) и его производные в основном продуцируют грибы *F. graminearum* и *F. culmorum*, а также реже упоминаемые *F. equiseti* (Corda) Sacc. и *F. semitectum* Berk. & Ravenel [7]. Эта группа метаболитов относится к относительно слаботоксичным микотоксинам, однако характеризуется анаболическим, эстрогенным действием и приводит к нарушениям воспроизводительной функции животных.

Монилиформин образуют различные виды грибов, однако наиболее распространенными продуцентами этого микотоксина являются *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. tricinctum* (Corda) Sacc., *F. oxysporum* Schldl., *F. subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas. Показано, что монилиформин приводит к хромосомным изменениям, иммуносупрессии, гематологическим нарушениям и ингибирует синтез белков [8]. Его часто называют кардиотоксином за вызываемые изменения в мышечной ткани сердца и миокардиальную гипертрофию [9].

Энниатины, включая боверицин, – группа различных циклических гексадепсипептидов, вначале выявленные у некоторых энтомопатогенных грибов рода *Beauveria*, а позже у многих грибов рода *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. langsethiae*, *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. sambucinum* Fuckel, *F. torulosum* (Berk. & M.A. Curtis) Nirenberg, *F. tricinctum* [10]. Эти метаболиты токсичны для насекомых, но, кроме того, характеризуются значительной фитотоксичностью и антибиотической активностью, вызывают апоптоз линий клеток человека и мышей [11].

С целью уменьшения вредоносности фузариоза зерна в поле и снижения риска загряз-

нения сельскохозяйственной продукции микотоксинами проводят комплекс организационно-хозяйственных мероприятий для оптимизации фитосанитарного состояния полей, выращивают относительно устойчивые сорта. Однако способность грибов длительное время сохранять жизнеспособность в неблагоприятных условиях и активизироваться при изменении среды обитания способствует наличию постоянной угрозы получения некачественного загрязненного микотоксинами урожая [12, 13].

При благоприятных для развития фузариевых грибов погодных условиях становится неизбежным применение фунгицидов. Эффективность химических препаратов в отношении фузариоза зерновых культур оценивают по изменению трёх показателей: наличие видимых симптомов заболевания в поле, инфицированность зерна, уровень микотоксинов в получаемом урожае. Однако современные действующие вещества (ДВ), на основе которых созданы химические фунгициды, показывают их низкую эффективность по отношению к грибам *Fusarium* и, зачастую, могут стимулировать биосинтез микотоксинов [14–19].

В последние годы много надежд связано с возможностью ограничения вредоносных патогенов с помощью живых микроорганизмов (грибы, бактерии, вирусы и др.) и их метаболитов. Перспективные биологические агенты, способные ограничивать фузариевые грибы и снижать образование микотоксинов, выявлены из естественной среды обитания. Одним из направлений биологического контроля является использование эндофитных микроорганизмов, обитающих внутри растений и повышающих устойчивость растений к неблагоприятным воздействиям.

Учитывая встречаемость фузариевых грибов в различных местах (почва, ризосфера, растительные ткани, филлосфера, воздушная среда, организмы млекопитающих и др.), использование для снижения их численности

микроорганизмов, сосуществующих с ними в одном биотопе, является более экологически оправданным путём, чем применение химических препаратов. Следует понимать, что используемый метод контроля не может быть нацелен на полное уничтожение опасных патогенов, а должен приводить к пластичному снижению численности их популяций до естественно-безопасного уровня существования. В случае биологического контроля этого можно достичь не только прямым воздействием микроорганизма на патоген, когда при их совместном развитии происходит угнетение жизнедеятельности токсинопродуцирующего организма (микопаразитизм), но и за счёт успешной конкуренции за пространство и питательные вещества субстрата.

В результате таких взаимодействий должны снижаться не только рост и развитие грибов *Fusarium*, но и образование микотоксинов. Возможность биологической трансформации, детоксикации или деградации микотоксинов с помощью микроорганизмов является приоритетным направлением исследований, однако механизмы действия биологических агентов на токсинопродуцирующие грибы ещё недостаточно изучены. Показано, что уменьшение токсичности субстрата может происходить не только за счёт разрушения структуры микотоксинов до нетоксичных метаболитов, но и путем их связывания стенками или компонентами стенок клеток растений, грибов и бактерий [20, 21].

В условиях массовой инфицированности сельскохозяйственных угодий фузариевыми грибами получить урожай, не зараженный грибами и не загрязненный микотоксинами, представляет значительную трудность, особенно если складываются условия благоприятные для фитопатогенов. Можно выделить несколько стратегий применения микроорганизмов для уменьшения загрязненности микотоксинами:

1. обработка растительных остатков и посевного материала, приводящая к снижению

плотности популяций грибов – продуцентов микотоксинов;

2. обработка растений в период вегетации, подавляющая развитие патогенов и активизирующая механизмы самозащиты растений;

3. послеуборочная обработка растительного сырья перед закладкой на хранение и переработку для предотвращения дальнейшего развития грибов;

4. добавление в готовую продукцию (комбикорма) с целью минимизация действия микотоксинов в желудочно-кишечном тракте организма млекопитающего.

Использование биологических методов контроля, безусловно, привлекательно, особенно с точки зрения экологизации сельскохозяйственного производства.

1. Влияние растения-хозяина

Устойчивость зерновых растений к фузариозу является неспецифической, варьирует от высокой устойчивости до восприимчивости, и обусловлена взаимодействием разных по функциям генов патогена и растения. Поскольку устойчивость в значительной мере зависит от условий окружающей среды, то этот признак рассматривается как относительный показатель.

Существуют несколько типов устойчивости зерновых к фузариозу, что часто приводит к несоответствию видимых симптомов заболевания и выявляемым количествам микотоксинов [22–24]. Особенно такие несовпадения проявляются в группе средневосприимчивых и восприимчивых сортов, поэтому прогнозировать уровни накопления микотоксинов, в зависимости от видимых симптомов заболевания, не всегда возможно. Выявлена способность некоторых генотипов деградировать ДОН. Например, через 6 нед после инокуляции, концентрация микотоксинов составила 9,3 мг/кг, а через 9 нед она составила 2,4 мг/кг [25]. Польскими исследователями показано, что в результате инокуляции колосьев суспен-

зией конидий *F. graminearum* и *F. culmorum* количество ДОН 1 мг/кг зерна у восприимчивого сорта Rada было выявлено при 1% инфицированных колосков, а у относительно устойчивого сорта Parada такой уровень контаминации отмечали при 13,1% [26].

Значительный интерес вызывает тип устойчивости растений, который оказывает влияние на содержание микотоксинов в зерне, даже при их значительном поражении грибами-продуцентами. Это может происходить двумя путями – изначально ингибирование биосинтеза микотоксинов в растении или за счёт их химической модификации и деградации [24].

В последние годы серьёзное внимание привлекает проблема модифицированных (скрытых, связанных) микотоксинов (masked, hidden, bound mycotoxins). Подробные обзоры на эту тему опубликованы международными коллективами исследователей [21, 27]. Выявлено, что часто в процессе взаимодействия патогена с растениями или с другими микроорганизмами, идёт образование гликозидов микотоксинов, которые не могут быть обнаружены доступными аналитическими методами, но при гидролизе в пищеварительном тракте человека или животных могут оказывать негативный токсический эффект, сравнимый с действием исходных метаболитов [21].

Причиной образования подобных соединений также могут быть процессы детоксикации микотоксинов, происходящие в растениях, в результате которых растения способны конвертировать некоторые микотоксины в более полярные соединения через конъюгацию с сахарами, аминокислотами или сульфатными группами. Так, к модифицированным микотоксинам относятся гликозидированные формы ЗЕН, ДОН, НИВ, фузаренона X и T-2 токсина [28–30]. Гликозилирование ксенобиотиков по большей части происходит по бета-связям, как в случае зеараленон-4-β-глюкозида [31, 32]. Установлено, что в 40 % анализированных образцов ячменя модифицированные

соединения ДОН составили от 6 до 21% количества выявленного ДОН [33]. Показано, что содержание зеараленон-4-β-глюкозида в образцах пшеницы коррелировало ($r_2 = 0,86$) с содержанием ЗЕН [34].

Марк Лемменс с соавторами [35] показали способность линий пшеницы преобразовывать ДОН в ДОН-3-β-D-глюкопиранозид (ДОН-3Г), связанную с локусом количественных признаков (QTL), *Qfhs.ndsu-3BS*, который объяснял устойчивость к фузариозу. Это исследование впервые показало связь между устойчивостью к заболеванию и способностью растений метаболизировать микотоксины патогена. Высокое соотношение ДОН-3Г/ДОН связано с присутствием низких значений ДОН и характеризует устойчивость растений к фузариозу.

Проблема связанных ФУМ впервые была озвучена в 2003 г. [36]. В результате анализа кукурузных хлопьев было показано, что количество связанных ФУМ в продуктах значительно выше, чем свободных, объясняя вызываемый в ряде случаев токсический эффект [37, 38]. В зависимости от использованного метода только 37–68 % от общего количества ФУМ обычно выявляют в лабораториях [38]. Связанные ФУМ могут быть освобождены при щелочном гидролизе, что приводит к существенному увеличению общего количества выявленных микотоксинов. Показано влияние химического состава различных гибридов кукурузы и важную роль жирных кислот [39]. В гибридах богатых линолевой кислотой отмечено более высокое загрязнение ФУМ, а также более высокое содержание скрытых микотоксинов в зерне при высоком соотношении олеиновой кислоты к линолевой.

Иммунных к фузариозу сортов зерновых культур нет, наблюдаются только различия по степени устойчивости растений к патогенам [22, 40]. Для получения высококачественного зерна, свободного от микотоксинов, необходимо проводить мероприятия, повышающие устойчивость растений в период вегетации.

Одна из современных стратегий биологического контроля основана на активации естественных защитных механизмов растений элиситорными белками при взаимодействии их с фитопатогенами [41, 42]. Белки и пептиды, синтезируемые микроорганизмами, подавляют развитие патогенов и/или индуцируют неспецифическую устойчивость растений.

Микроорганизмы синтезируют различные литические ферменты (хитиназы, глюканазы, протеазы). Эти ферменты гидролизуют хитин, бета-глюканы и белки, что приводит к подавлению роста и развития патогена. В результате воздействия глюконаз и хитиназ из клеточной стенки грибов освобождаются олигосахариды или хитозан, которые функционируют как элиситоры устойчивости, и вызывают в растениях защитные реакции: генерацию активных форм кислорода, синтез фитоалексинов, PR-белков и лигнификацию.

Хорошо известен факт стимулирования иммунитета растений при обработке их ослабленными или авирулентными штаммами фитопатогенов. Однако подобных примеров для борьбы с фузариозом зерновых в настоящее время немного. Показано, что опрыскивание пшеницы мутантными непатогенными штаммами *F. graminearum* приводило к снижению контаминации микотоксинами за счёт экспрессии генов, связанных с иммунным ответом растения [43].

Ирландские исследователи показали снижение развития грибов *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae* и *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett при обработке колосьев в период цветения пшеницы непатогенными штаммами *Phoma betae* A.B. Frank и *Rhizium ultimum* Trow [44]. К сожалению, авторы отметили увеличение количества зерен в результате такого воздействия, но не исследовали количество накапливаемых микотоксинов в урожае.

Проводят попытки использования трансгенных растений для снижения содержания микотоксинов. Получен патент на воз-

можность получения трансгенных растений с клонированным геном Tri101 грибов *F. graminearum* и *F. sporotrichioides*. Такие исследования были осуществлены с растениями пшеницы, ячменя и др., однако положительный эффект клонирования до сих пор не столь явный [45–47]. Также есть данные, что в геном кукурузы был встроен ген внеклеточной карбоксилэстеразы – фермента грамотрицательной бактерии ATCC 55552, способного трансформировать ФВ1 в нетоксичное соединение, и эти трансгенные растения стали устойчивыми к накоплению ФУМ [48].

Интересен факт уменьшения содержания микотоксинов в трансгенных линиях кукурузы, содержащих ген почвенной бактерии *Bacillus thuringiensis*, который кодирует белок, токсичный для чешуекрылых вредителей. Однако снижение загрязненности микотоксинами Вt-кукурузы происходит опосредованно, из-за уменьшения повреждений насекомыми, способствующих заражению растений токсинопродуцирующими грибами [49–51]. Однако возделывание трансгенных растений запрещено во многих странах, в том числе и в России, следовательно, несмотря на перспективность данного направления для снижения микотоксинов, пока возможны только научные исследования [47].

На сегодня, наибольшую популярность и широкое распространение приобретает использование средств снижения вредоносности фузариоза, действующим началом которых служат микроорганизмы и/или продуцируемые ими метаболиты.

2. Бактерии – агенты биологического контроля

Бактерии образуют различные биологически активные метаболиты, которые играют важную роль во взаимодействиях с другими организмами. Способность бактерий образовывать соединения антибиотической природы обуславливает эффективность подавления

ими мицелиальных грибов. Среди таких соединений особое место занимает комплекс литических ферментов, важнейшими из которых являются хитиназы, участвующих в разрушении клеточной стенки. Кроме ферментов, штаммы *Bacillus subtilis* также образуют широкий спектр антимикробных метаболитов, включающий пептиды и непептидные компоненты, в том числе поликетиды, аминоксахара и фосфолипиды [52, 53].

Большинство липопептидов, продуцируемых представителями рода *Bacillus*, в лабораторных и в полевых условиях проявляют резко выраженные антибиотические свойства, в том числе против гриба *F. graminearum* [54–56]. Идентифицированы полипептидные антибиотики, такие как фенгидин и итурин, под действием которых разрушались клеточные стенки патогена. У штамма *Bacillus* sp., демонстрирующего значительный антимикробный эффект, выявлен липопептидный антибиотик сурфактин [57]. Высокую антагонистическую активность этого штамма *Bacillus subtilis* связывают с наличием генов пяти антимикробных белков *bmyB*, *fenD*, *ituC*, *srfAA* и *basA* [58].

В качестве потенциальных агентов подавления грибов рода *Fusarium* рекомендуют штаммы, относящиеся к различным видам *Bacillus*: *B. subtilis*, *B. atrophaeus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. licheniformis* и *B. pumilis* [59–66].

Показан значительный эффект применения штамма *Bacillus subtilis* SG6, выделенного из зерна и пыльников пшеницы, для снижения заболеваний, вызванных *F. graminearum* [58]. Этот штамм существенным образом ингибировал рост гриба, его споруляцию и образование ДОН на 87,9, 95,6 и 100 % соответственно. Предполагают, что эффективность штамма *Bacillus subtilis* SG6 связана с высокой активностью образуемого им фермента – хитиназы.

Из 128 бактерий, выделенных из почвы полей, где наблюдалась фузариозная гниль кукурузы, только один штамм *Bacillus subtilis* D1/2

существенно подавлял рост *F. graminearum* [67]. Изолированные из колоса, стебля и листа растений пшеницы три штамма *Bacillus subtilis* H-08, S-01 и L-01 также вызывали значительное снижение инфицированности растений *F. graminearum* [68].

В лабораторных опытах *Paenibacillus macerans*, *Pseudomonas putida*, *Sporobolomyces roseus*, *Bacillus subtilis* подавляли рост *F. graminearum* на 95–100% [69, 70]. Применение культуральных фильтратов этих штаммов в поле и теплицах приводило к снижению фузариоза колоса на 21–26% [71, 72]. Добавление в среду культуральной жидкости бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* значительно снижало скорость роста гриба *F. sporotrichioides* и приводило к снижению количества Т-2 токсина в среде на 95%, однако эффективные дозы химического фунгицида (ДВ – тебуконазол) были значительно ниже, чем культуральная жидкость [62].

Скрининг 354 бактериальных штаммов, проведенный аргентинскими исследователями, показал, что 22 штамма подавляли рост *F. graminearum*, 9 штаммов уменьшали образование ДОН при обработке колосьев пшеницы в теплице на 32–100%, по сравнению с контролем [73]. В результате были выбраны два штамма *Brevibacillus* sp. BRC263 и *Streptomyces* sp. BRC87B, которые могут быть перспективными для борьбы с фузариозом зерна.

Иранские исследователи показали значительное уменьшение развития фузариоза колоса и повышение урожая пшеницы после обработки штаммом *Streptomyces* sp. на фоне искусственной инокуляции пшеницы грибом *F. graminearum* [74]. Положительные результаты против *F. graminearum* и грибов секции *Sporotrichiella* получены при обработке растений пшеницы перед колошением препаратом алирин (штамм *Bacillus subtilis* В-10 ВИЗР) и метаболитным препаратом хризомал (на основе *Streptomyces chrysomallus*), которые также уменьшали распространенность фузарио-

за колоса [75]. Канадские исследователи выявили два штамма *Paenibacillus polymyxa* W1-14-3 и C1-8-b, обработка которыми снижала развитие *F. graminearum* на колосьях пшеницы в теплице на 58,8 и 62,4%, а образование ДОН до 85–89%, и приводила к повышению веса зерен на 57–67% соответственно [76].

Из хранящегося зерна пшеницы в Северном Тунисе были выделены 54 молочнокислых бактерий, относящиеся к видам *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus coryniformis* и *Weissella cibaria*. Оценка их активности в тест-культуре по отношению к грибам *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *F. graminearum* и *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. выявила, что все бактерии демонстрировали различный по степени антагонистический эффект по отношению к грибам, а наибольшей активностью против всего спектра патогенов характеризовался штамм *Lactobacillus plantarum* [77].

Штамм молочнокислой бактерии *Lactobacillus enzymogenes* С3 в экспериментах уменьшал распространение фузариоза колоса до 10%, по сравнению с 80 % в контроле, по мнению авторов, за счёт литических ферментов, расщепляющих клеточные стенки грибов, а также элиситоров, индуцирующих устойчивость [78]. Когда штамм *Lactobacillus enzymogenes* С3 был подвергнут тепловой обработке (70 °С, 20 мин) и затем использован для опрыскивания колосьев, спустя сутки инокулированных *F. graminearum*, то было выявлено, что эффективность обработки растений была не ниже, чем при обработке живой бактерией, показывая возможность возникновения индуцированной устойчивости растения [79]. У *Lactobacillus enzymogenes* выявлен устойчивый к нагреванию антифунгальный комплекс (HASF), состоящий из дигидромалтофилина (тетрамовая кислота), структурно близкого к макроциклическим лактамам, который обладает подавляющим эффектом [80]. Однако авторами было показано, что эффек-

тивность штамма *Lactobacillus enzymogenes* С3 при обработке растений зависела от генотипа растения-хозяина. Только на 8 из 11 сортов яровой пшеницы штамм был эффективен в борьбе с *F. graminearum*, что объясняется сортовыми различиями в возникновении индуцированной устойчивости растений [79].

Ещё одним перспективным направлением исследований является создание биостимуляторов на основе активных штаммов ассоциативных и эндофитных бактерий, которые стимулируют рост и развитие растений и проявляют фунгицидную активность. Показаны эффективные бактериальные эндофиты изолированные из риса [81] и кукурузы [82]. Штамм *Enterobacter cloacae*, являющийся эндофитом кукурузы, продуцирует антибиотик, подавляющий рост *F. moniliforme* J. Sheld. [83].

В условиях теплицы значительно меньше симптомов фузариоза колоса выявлены на растениях пшеницы, семена которой были обработаны эндофитным штаммом *Paenibacillus lentimorbus* [84]. Инокуляция растений эндофитными бактериями возможна один раз в несколько лет, поскольку они из обработанных семян способны распространяться по тканям растущего растения и естественным путём проникать во вновь образуемые семена [85].

Штаммы *Bacillus megaterium*, выделенный из зерна пшеницы, при обработке колосьев в полевых условиях снижал распространение и развитие фузариоза на 93 и 54 % соответственно, а образование ДОН – на 89,3 % [86].

Выявлено, что обработка перед посевом семян кукурузы штаммами *Bacillus amyloliquefaciens* и *Enterobacter hormaechei* снижала инфицированность получаемого урожая зерна грибом *F. verticillioides* и присутствие в нем ФВ1 [87]. Существует патент США на штамм бактерии *Norocardia glubera*, рекомендуемого для сокращения присутствия боверицина в пищевых продуктах [88]. Авторы показали 50%-ное снижение этого микотоксина под воздействием штамма в зер-

нах пшеницы с первоначальным загрязнением 1000 мг/л.

Несколько крупных обзоров опубликовано на тему биологической детоксикации микотоксинов [33, 47, 89, 90]. Установлено, что микотоксины грибов рода *Fusarium* могут быть подвергнуты биотрансформации, приводящей к получению новых соединений, характеризующихся меньшей токсичностью. Биологическая деградация микотоксина ДОН, осуществляемая бактериями, подразделяется на два типа: 1) окисление ДОН до 3-кето-4-ДОН с его последующей изомеризацией до 3-эпи-ДОН (3-бета-гидрокси-), типичное для аэробных бактерий и 2) потеря у ДОН эпоксидной группы с образованием дезэпоксипроизводного ДОН (3а,7а,15-тригидрокситрихотец-9,12-диен-8-он, названный ДОМ-1), обычная для анаэробных бактерий пищевого тракта животных. Так как эпоксидная группа в эпокситрихотеченовых микотоксинах является одним из главных факторов их токсичности, вероятно, что такая реакция напрямую приводит к детоксикации этих ксенобиотиков.

Как 3-эпи-ДОН, так и ДОМ-1 являлись продуктами детоксикации ДОН бактериальными штаммами *Nocardioides* и *Devosia* [91-93]. Показано, что только одна из 1285 микробиологических культур, изолированных из сельскохозяйственных почв, зерновых культур и других субстратов в аэробных условиях трансформировала ДОН, 3-ацДОН, 15-ацДОН, и фузаренон Х, в основном, в 3-кето-4-ДОН [94].

Джеффри Шима с соавторами [93] установили, что штамм почвенной бактерии E3-39 группы *Agrobacterium-Rhizobium* проявлял способность ацетилировать гидроксил ДОН в положении С-3, приводя к уменьшению токсичности метаболита. Выявлено, что данный штамм способен трансформировать 3-ацДОН, но не активен в отношении НИВ или фузаренона Х.

Канадские исследователи показали способность смешанной популяции энтеробактерий, включая *Serratia*, *Clostridium*, *Citrobacter* и *Enterococcus*, выделенных из сельскохозяйственной почвы, конвертировать в аэробных условиях ДОН в ДОМ-1 [95]. В настоящее время ведётся клонирование генов, связанных с ферментными системами микроорганизмов, ответственных за образование дезэпоксипроизводных, для того, чтобы внедрить их в геном зернового растения.

В последние годы возрос интерес к анаэробным бактериям, обитающим в пищеварительном тракте животных (рубец, кишечник). Известно, что микрофлора, существующая в рубце крупного рогатого скота, снижает неблагоприятное воздействие микотоксинов, поступающих с кормом [96-98].

Выявлено, что анаэробные бактерии, обнаруженные в пищеварительной системе животных, способны деградировать ДОН и другие трихотечены в их дезэпоксирированные аналоги [99-101], которые в несколько десятков раз (по мнению разных авторов в 24-55 раз) менее токсичнее, чем исходные соединения [102, 103]. Установлена способность микроорганизмов, содержащихся в толстой кишке цыплят, почти полностью трансформировать ДОН в ДОМ-1 *in vitro* [104]. Сходные результаты показаны при изучении микрофлоры рубца крупного рогатого скота, когда ДОМ-1 был выявлен в молоке, моче, фекалиях кормящих коров, которые питались кукурузой, загрязненной ДОН [102]. Дезэпоксирированные трихотечены (ДАС, Т-2 и НТ-2 токсины) были получены при совместном культивировании в анаэробных условиях с бактериями из кишечника различных сельскохозяйственных животных [98, 105]. Сравнение активности кишечной микрофлоры лошадей, овец, собак, крыс, свиней и куриц показало значительные различия в их активности. Интересно, что по данным авторов, наиболее активно шло образование дезэпоксирированных аналогов микроорганизмами кишечника крыс. Показано,

что диэпоксиданалоги Т-2 токсина (ДЕ Т-2) были в 400 раз менее токсичны, чем Т-2 токсин [59]. В тоже время коллективом авторов [96] было показано, что 90 % ЗЕН в рубце трансформировалось в α -зеараленон, однако новый метаболит был в 4 раза более токсичен для эстрогенных рецепторов.

Немецкие исследователи в 1997 году впервые из содержимого рубца быка выделили чистую культуру штамма бактерии, способного трансформировать трихотецены групп А и В в дезэпоксипроизводные аналоги [106]. Штамм бактерии BBSH 797 рода *Eubacterium*, который эффективно трансформировал в анаэробных условиях ДОН, сцирпенол и Т-2 токсин в менее токсичные соединения [107–109], впоследствии стал коммерческим продуктом *Mycofix plus* (Biomim®). Только спустя 10 лет изолировали два других неидентифицированных бактериальных штамма из пищеварительного тракта куриц, способных анаэробно дезэпоксидировать микотоксины [100], а затем еще 10 штаммов, относящихся к четырём таксономическим группам [101]. Процесс выделения начинали с мощного подавления смеси антибиотиков разнообразных представителей микробиоты птицы. Выжившие, устойчивые бактерии далее серийно разводили и проверяли их активность по отношению к ДОН. В результате были идентифицированы активные штаммы бактерий, относящиеся к Clostridiales, *Anaerofilum* sp., *Collisella* sp., *Bacillus* sp. [101].

Основная проблема использования таких бактерий в том, что их активность проявляется только в анаэробных условиях. Однако некоторые анаэробы, выделенные из рубца и кишечника, могут существовать и в присутствии кислорода. Например, штамм *Bacillus* sp. LS100, изолированный из кишечника рыбы, успешно был использован для детоксикации ДОН в плесневелой кукурузе, которую без негативных последствий скармливали свиньям [110]. Исследовав 62 рыбы, авторы изолировали из одной смеси бактерий C133,

которая дезэпоксидировала ДОН в очень широком диапазоне pH (4,5–10,4) и достаточно низких температурах (до 4 °C) [99].

Способность микроорганизмов деградировать ФУМ изучали неоднократно, и, в результате, в жидкой культуре штамма MTA144 бактерии *Sphingopyxis* sp. были выявлены два фермента, которые приводили к детоксикации ФУМ: *fumD*, кодирующий карбоксилэстеразы и *fumI*, кодирующий аминотрансферазы [111, 112].

Деградация ЗЕН с помощью внеклеточного фермента *Acinetobacter* sp. SM04 была выявлена в работе [113]. Из культуральной жидкости бактерии удалось выделить активную фракцию способную *in vitro* полностью разрушать 20 мг/л ЗЕН в течение 6 ч инкубации.

Другие штаммы бактерий, деградирующих ФУМ и ЗЕН, были изолированы из зараженных фузариевыми грибами растений кукурузы, пшеницы, а также из силоса и компоста [48, 114]. Молочнокислые бактерии (*Lactobacillus* sp.) сбразивали углеводы и были способны внеклеточно связывать ЗЕН, трихотецены и афлатоксины [115–117].

По способности снижать содержание микотоксинов в кислой среде (pH 4) оценивали 29 штаммов лактобактерий и пропионовокислых бактерии *in vitro* [118]. Отобранные штаммы были способны максимально уменьшать ДОН до 55%, ФВ1 – 82% и ФВ2 – 100%, ЗЕН – 88%. Исследователи сделали вывод о том, что наблюдались значительные различия между штаммами, но лактобактерии были более эффективны и их использование перспективнее при заготовке силоса. Тот же В. Нидеркорн с соавторами [119] изучали способность различных бактерий, большая часть которых являлась облигатными анаэробами, связывать различные микотоксины грибов *Fusarium* в кукурузном силосе. К таким бактериям относились представители видов *Streptococcus* и *Enterococcus*, которые снижали содержание ДОН на 33%, ЗЕН – 49%, ФВ1 – 24% и ФВ2 – 62%.

При изучении способности штаммов *Lactobacillus* и *Propionibacterium* изменять содержание семи различных трихотеценовых микотоксинов в жидкой среде Эль-Незами с соавт. [115] установили, что штаммы *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* JS уменьшали количества ДОН, ДАС и фузаренона X, и снижение содержания микотоксинов варьировало от 18 до 93%. Штамм *Lactobacillus rhamnosus* LC-705 приводил к уменьшению в среде только ДОН и ДАС в пределах 10-64 %. Эта же группа исследователей оценивала способность живых и обработанных высокой температурой и кислотой клеток *Lactobacillus rhamnosus* деградировать ЗЕН и α -зеараленол. В обоих вариантах клетки были способны снижать содержание микотоксинов на 50%, при этом в растворе отсутствовали продукты распада метаболитов, что указывало на физическое связывание микотоксинов клетками бактерий [120]. Однако эксперименты хорватских исследователей показали, что штаммы бактерий *Lactobacillus plantarum* A1 и *Lactobacillus rhamnosus* GG, выделенные исследователями из сыра, способны *in vitro* связывать ЗЕН на клеточные стенки, но спустя некоторое время микотоксин вновь возвращался в питательный субстрат [121].

3. Грибы – агенты биологического контроля

Виды грибов рода *Trichoderma* Pers. доказали свой значительный потенциал как агенты биологического контроля, проявляя антагонизм по отношению ко многим патогенам [122–125]. Известно, что грибы *Trichoderma* образуют более 120 вторичных метаболитов, включая антифунгальные [124, 126, 127]. В тоже время относительно мало исследований, показывающих влияние *Trichoderma* на фузариоз зерновых культур, и ещё меньше информации об их действии на микотоксины.

Известно, что вид *T. harzianum* (Persoon: Fries) является перспективным агентом, ограничивающим вредоносность многих почвенных патогенов. Этот гриб улучшает рост и повышает устойчивость к патогенам растений [128]. В 1988 г. опубликован патент на штамм *T. harzianum* (ATCC No. 20691), выделенный из почвы, который характеризуется значительной антифунгальной активностью, особенно по отношению к фузариевым грибам [129].

Уменьшение инфекционного начала на полях (удаление растительных остатков, сорных посевов и др.) может предотвратить массовые эпифитотии и загрязнение урожая микотоксинами. При обработке суспензией грибов *T. harzianum* [130, 131] и *Microsphaeropsis* sp. [132] послеуборочных остатков пшеницы в поле показано значительное снижение зараженности грибами соломы, сопровождаемое уменьшением выживаемости и образования споронотения гриба *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch (телеоморфа *F. graminearum*). Один из коммерчески доступных штаммов *Trichoderma* T-22 снижал в среднем образование питециев на 70% и более [131].

На питательной агаризованной среде метаболит 6-пентил-альфа-пирон (6РАР), образуемый штаммом THF2/3 *T. harzianum* приводил к уменьшению на 66–81% количества ДОН, образуемого *F. graminearum* [133]. Отмечено значительное увеличение образования штаммом *T. harzianum* метаболита 6РАР в ответ на присутствие патогенных грибов.

Ф. Матарезе с соавт. (2012) установили, что штамм *T. gamsii* 6085 снижал на 60–92% количество ДОН, образуемое штаммами *F. culmorum* и *F. graminearum*, за счет ингибирования процесса образования микотоксина, а не его деградации. Авторы показали, что этот эффект связан с активностью генов *T. gamsii*, кодирующих образование хитиназы. В результате проведенных исследований выявлено, что при совместном культивировании этого штамма на автоклавированном рисе

рост штаммов *F. culmorum* и *F. graminearum* и образование ДОН эффективно снижались, однако на относительно бедном субстрате – пшеничной соломе, антагонистическая активность *T. gamsii* 6085 не проявлялась [134].

Польские исследователи [135] проверяли влияние 92 штаммов, относящихся к 29 различным видам грибов, на рост и продуцирование микотоксинов штаммами грибов *Fusarium*, являющихся типичными возбудителями фузариоза зерна – *F. avenaceum*, *F. culmorum* и *F. graminearum*. Из всех анализируемых грибов наибольшую антагонистическую активность показали штаммы *Trichoderma*. Штамм AN35 *T. atroviride* P. Karst. характеризовался наибольшей эффективностью среди исследуемых антагонистов. При его совместном культивировании с грибами содержание пяти трихотеценовых микотоксинов ДОН, 3-ацДОН, 15-ацДОН, НИВ и фузаренона Х уменьшалось на более чем 95% [136]. Кроме трихотеценовых микотоксинов, этот штамм был способен снижать на 95–100% количество монилиформина при совместном росте на автоклавированном рисе с изолятами *F. avenaceum* [135].

Поскольку культивирование *T. atroviride* AN35 на рисе, к которому был добавлен монилиформин в количестве 100 мкг/г, приводило к снижению микотоксина до 6,5 мкг/г, то есть основания предполагать возможность биодеградации этого метаболита. В других лабораторных исследованиях выявлено уменьшение биомассы *F. graminearum* до 15%, а количество ДОН до 45% при совместном культивировании с *T. atroviride*, по сравнению с одиночной культурой патогена [137].

Показана эффективность штаммов *T. viride*, *T. asperellum* против токсинопродуцирующих грибов *Fusarium* [138, 139]. Обработки в поле зараженных растений бактофитом (на основе *T. viride*) существенно снижали накопление ДОН в зерне [140].

В результате предварительной обработки колосьев пшеницы суспензиями гри-

бов *T. harzianum* и *Clonostachys rosea* (Link: Fr.) Schroers, Samuels, Serfert & Gams syn. *Gliocladium roseum* Bainier) и последующей их инокуляцией *F. graminearum* было выявлено существенное снижение развития фузариоза и уменьшение ДОН в зерне [141]. Штаммы дрожжей *Sporobolomyces roseus* Kluyver & C.V. Niel вызывали значительное снижение развитие заболевания в теплице при опрыскивании пшеницы [68]. Аргентинские исследователи показали снижение инфицированности пшеничной соломы фузариевыми грибами под воздействием штамма *Clonostachys rosea* 1457 [142].

При обработке семян штаммом гриба *Clonostachys rosea* АСМ941, известного как микопаразит, канадские исследователи показали его высокую эффективность против *Fusarium* как в лабораторных, так и в полевых исследованиях [143]. Штамм АСМ941 выживал как минимум в течение 35 сут после обработки семян и защищал проростки и корни от почвенной инфекции [144, 145]. Изготовленный на его основе препарат СЛО-1 уменьшал развитие фузариоза колоса на 30–46%, зараженность зерна на 31–39 % и количество ДОН на 22–33 % [145, 146]. Показано, что эффективность препарата статистически не отличалась от эффективности химического фунгицида Folicur® (ДВ – тебуконазол), используемого в этих экспериментах.

Н. Такахаши-Андо с соавт. (2002) изучали ферментную деградацию микотоксина ЗЕН под воздействием щелочной гидролазы, полученной из гриба *Clonostachys rosea* IFO 7063, приводившую к полному преобразованию этого микотоксина в модельном растворе [147]. Авторам удалось идентифицировать ген zhd101, и внедрив его в *Escherichia coli*, доказать его связь со способностью гриба к детоксикации ЗЕН [148]. После перенесения этого гена в геном кукурузы и последующей инокуляции её грибом *F. graminearum*, в зерне трансгенных растений не был выявлен ЗЕН, в отличие от зерна исходных растений [149].

Среди 738 выделенных из пыльников пшеницы микроорганизмов американские исследователи выявили штаммы дрожжей, которые эффективно снижали развитие и распространение *F. graminearum* на пшенице в теплице и в полевых условиях [150]. Подавление патогена, по мнению авторов, было связано со способностью штаммов утилизировать холин в пыльниках пшеницы, стимулирующий рост *F. graminearum*. Штаммы дрожжей *Cryptococcus* sp. ОН 71.4, *Cryptococcus nodaensis* ОН 182.9 и *Cryptococcus* sp. ОН 181.1 при обработке колосьев пшеницы в фазу начала цветения снижали фузариоз колосьев и загрязнение зерна ДОН до 50–60%, однако уменьшение ДОН не коррелировало с уменьшением симптомов фузариоза [64, 151].

На сегодняшний день выполнено и опубликовано относительно мало исследований, оценивающих действие антагонистов на наиболее токсичную группу А трихотеценовых микотоксинов (Т-2 и НТ-2 токсины, Т-2 тетраол, Т-2 триол, ДАС). Такие исследования проводили польские ученые показавшие, что совместное культивирование штаммов *T. harzianum* AN4 и *F. sporotrichioides* приводило к снижению суммы продуцируемых микотоксинов на 49–98 % [136, 152].

Микробиологическая трансформация трихотеценов включает ацетилирование, деацетилирование, оксигенацию, дезоксидирование, эпимеризацию и глюколизацию [153].

Показан путь ацетилирования ДОН трихотецен-3-О-ацетилтрансферазой, кодируемый геном Tri101 грибов *F. graminearum* и *F. sporotrichioides* [154]. Ацетилизация трихотеценов в положении С3-ОН трихотеценпродуцирующими грибами *Fusarium* является одним из путей защиты гриба от образуемых собственных токсичных продуктов и поэтому клонирование этого гена в растения представляется перспективным путём уменьшения их контаминации.

Дрожжи, относящиеся к группе *Trichomonascus*, способны трансформировать Т-2

токсин и в результате все модифицированные продукты демонстрировали меньшую токсичность, чем исходный метаболит [155]. Культуры дрожжей *Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, *Torulasporea delbrueckii* (Lindner) E.K. Novák & Zsolt, *Zygosaccharomyces rouxii* (Boutroux) Yarrow и *Saccharomyces* стереоселективно преобразовали другой фузариотоксин ЗЕН в изомеры α -зеараленол и β -зеараленол [29]. Дрожжевой штамм *Trichosporon mycotoxinivorans* O. Molnár, Schatzm. & Prillinger (род *Trichosporon* Behrend), выделенный из кишечника термитов *Mastotermes darwiniensis*, декарбоксилировал ЗЕН до нетоксичных микотоксинов [156].

Обработка внутриклеточными ферментами штаммов гриба *Saccharomyces cerevisiae* Gasperini кукурузной муки приводила к деградации ВЕА до 66–91% [157]. Показана высокая адсорбирующая активность клеточных стенок дрожжей и их компонентов в отношении микотоксинов, что стали использовать при изготовлении различных добавок к кормам для животных, с целью профилактики микотоксикозов [158, 159]. В исследованиях *in vitro* было установлено, что они связывают зеараленон и Т-2 токсин [160, 161]. Показано, что выделенные из стенок клеток дрожжей хитозаны, глюкоманнаны проявляют большую эффективность по сравнению с минеральными адсорбентами.

Из органического экстракта гриба-эндофита *Acremonium zeae* W. Gams & D.R. Sumner выделены два антибиотика пирроцидин А и В, показавшие высокую активность против *F. verticillioides* в лабораторных и полевых тестах, снижающие количество ФУМ в зерне [162].

Опубликованы данные о возможности деградировать микотоксины штаммами видов, которые, как правило, не рассматриваются как агенты контроля токсинопродуцирующих грибов, но в той или иной мере вступают с ними в биоценотические отношения. Проведены интересные исследования

по оценке 12 штаммов темноокрашенных видов *Aspergillus* трансформировать ЗЕН и показано, что 2 штамма *Aspergillus niger* Tiegh. полностью разрушали микотоксин до нетоксичных соединений [163]. Штамм *Aspergillus tubingensis* Mosseray, выделенный из почвы, через две недели совместного культивирования с *F. graminearum* биотрансформировал 94,4% ДОН [76].

Штамм *Mucor racemosus* f. *racemosus* Fresen обладал способностью деградировать ДАС, присутствующий в жидкой культуре гриба *F. semitectum*, от 90,0 до 99,97% а также уменьшал от 95,0 до 96,7% количество Т-2 токсина, образуемого *F. sporotrichioides* [164]. Грибы рода *Rhizopus* Ehrenb., включая *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *R. oryzae* Went & Prins. Geerl. и *R. microsporus* Tiegh. полностью деградировали ЗЕН [31, 165].

4. Дополнительные возможности биологического контроля токсинопродуцирующих грибов *Fusarium*

Кроме грибов и бактерий успешно использовали миковирусы, изолированные из патогенных организмов и приводящие к значительному снижению их вредоносности [166]. У грибов рода *Fusarium* также выявлены миковирусы, содержащие двуцепочечную РНК, например, *F. poae virus* 1, FpV1 [167], *F. solani virus* 1, FsV1 [168], *F. graminearum virus* 1, FgV1 [169] и *F. graminearum virus*-DK21 (FgV-DK21) [170]. Согласно филогенетическим анализам, миковирусы грибов *Fusarium* относятся к четырём семействам: Chrysoviridae, Нуровiridae, Partitiviridae и Totiviridae [171]. Выявленные исследователями вирусы оказывали влияние на патогенность грибов, снижали скорость роста и спороношение, но при этом стимулировали образование темно-красного пигмента [169, 172]. Данные протеомных и транскриптомных исследований показали, что вирус FgV1 *Fusarium* вызывает измене-

ния в механизмах, обеспечивающих координацию процессов транскрипции и трансляции [171]. Под действием вируса *F. graminearum* FGV-DK21 наблюдали достоверное снижение или подавление регулирования 16 ферментов, включающих енолазу, сахаропин дегидрогеназу, флавогемоглобин, маннитдегидрогеназу и малатдегидрогеназу [170]. Исследований влияния вирусов на биосинтез микотоксинов пока не проводили, но вполне вероятно, что в будущем использование миковирусов может представлять интерес для борьбы с опасными патогенами.

Выявленный в Канаде микопаразит *Sphaerodes mycoparasitica* Vujan. грибов *F. avenaceum*, *F. graminearum* и *F. oxysporum* также позиционируют в качестве перспективного биологического агента, снижающего численность этих патогенов в полях [173].

Предполагается возможность использования насекомых и их симбионтов для детоксикации микотоксинов. Насекомые питаются, как пораженными токсинопродуцирующими грибами растениями, так и самими грибами, поэтому, по всей видимости, обладают механизмами детоксикации токсичных метаболитов [174].

Известны работы, показывающие значительное влияние нематоды *Aphelenchus avenae* Bastian на снижении плотности популяции грибов *F. moniliforme* и *Pythium butleri* Subraman в почве [175].

Экстракты разнообразных растений и их метаболиты (как например, эфирные масла) тоже могут использоваться для снижения заболеваний растений. Показано ингибирующее влияние пяти природных соединений эфирных масел растений (терпинен-4-ол, эвгенол, карвон, эвкалиптол, тимол и др.) на рост грибов и продуцирование микотоксинов [176–179]. Однако действие масел может быть прямо противоположным. Так показано существенное подавление образования ФВ1 грибами *F. verticillioides* под действием эфирного масла душицы обыкновенной (*Origanum*

vulgare L.), и усиление – вербены (*Aloysia triphylla* (L'Her.) Britt.) [180]. Также показано, что эфирное масло и спиртовой экстракт, полученные из почек тополя бальзамического (содержащего терпеноиды, флавоноиды и гидроксикоричные кислоты), проявляли антифунгальную активность в отношении фитопатогенных штаммов грибов рода *Fusarium* [181].

Результаты исследований по влиянию водных вытяжек валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.), хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana* L.), сосны обыкновенной (Ш L.), тополя (*Populus* sp.) на морфологию штаммов грибов *F. graminearum* показали, что они активно подавляли рост мицелия и прорастание конидий, а также способствовали формированию хламидоспор в клетках гиф мицелия [182].

Для дальнейшего понимания действия растительных масел необходимо выделить конкретные компоненты – вещества, оказывающие влияние на грибы и их метаболизм. Оценить перспективы предложенных возможностей ограничения вредоносности токсинопродуцирующих грибов достаточно сложно, однако эти методы могут способствовать успешному решению проблемы в будущем.

5. Проблемы применения биологических средств

На сегодняшний день, сельское хозяйство и производство не может обойтись без применения синтетических химических средств защиты растений. Биологический метод, безусловно, нужно активнее внедрять в практику получения высокого и качественного урожая и рассматривать не как альтернатив химическому методу, а как его разумное дополнение. Использование биологических препаратов в поле может быть спасительным в период массового цветения пшеницы, когда применение химических препаратов нежелательно с экологической точки зрения [183].

Однако выявленная эффективность антагониста в лабораторных условиях, не гарантирует его действие *in vivo* [184]. Таким образом, значительное число публикаций показывает высокую эффективность штаммов *in vitro*, и несравнимо меньше – в поле [183]. Штамм *Bacillus amiloliquefaciens* TrigoCor 1448, высокоэффективный в теплице, в полевых условиях незначительно снижал развитие фузариоза *F. graminearum* [56, 63, 185].

Также проблемами биологического контроля часто являются низкая жизнеспособность микроорганизма, сложность равномерного покрытия защищаемой поверхности, нестабильность результатов обработки [56, 85, 186, 187]. Есть опасность в результате модификации микотоксина биологическими агентами получить более токсичное соединение, чем исходное. Условия окружающей среды (субстрат, соотношение питательных веществ, влажность, температура, pH) могут существенным образом воздействовать на эффективность биологического агента, оказывая влияние на его способность к конкурентным взаимоотношениям [188–190].

По данным исследователей, комбинация биопрепаратов с химическими фунгицидами повышает их индивидуальную эффективность [78, 191]. Такое совместное использование природных биоцидов и химических фунгицидов позволяет расширить время лечебного действия, снизить токсичность используемой смеси. При раздельном использовании химических и биологических препаратов последние должны быть применены за 10 сут до или на 10 сут позже, чем обработка химическими средствами.

В полевых экспериментах в Южной Дакоте и штате Небраска (США) совместная обработка тебуконазолом и культурой штамма СЗ *Lysobacter enzymogenes* двух сортов яровой пшеницы была более эффективной и давала более стабильные положительные результаты, чем применение их по отдельности [78]. Предполагают, что риск получения рези-

стентных штаммов патогенов ниже в результате применения агентов-микроорганизмов, чем химических препаратов [192].

В США получен патент (СА 2769327 А1) на штаммы *Cryptococcus flavescens*, устойчивые к протиоконазолу и с повышенной эффективностью против *F. graminearum*, которые могут использоваться в смеси с фунгицидом. Однако необходимо продолжить исследования по изучению возможностей применения смесей антагонистов и фунгицидов или смеси антагонистов, которые могут расширить спектр контролируемых патогенов, удлинить период защитного эффекта и получать стабильные результаты в различных агроэкосистемах. Также необходимо выявление оптимальных доз и времени использования смесей. Кроме того, применение биологических агентов не должно стимулировать образование микотоксинов в результате подавления роста грибов, как это бывает при опрыскивании растений фунгицидами.

Штаммы – антагонисты могут по-разному влиять на разные виды грибов *Fusarium*. Показано, что штаммы грибов *Alternaria*, *Epicoicum* и *Trichoderma* существенно подавляли рост культур *F. graminearum* и *F. poae*, но их влияние на *F. poae* было значительнее, чем на *F. graminearum* [193]. Это может быть связано с подавлением экспрессии гена хитиназы *pag1-gox* микотоксином ДОН, продуцентом которого является *F. graminearum* [194].

Некоторую озабоченность вызывает возможность отрицательного экологического последствия интродукции антагонистов в природу, которая может изменять структуру комплекса микромицетов, не являющихся мишенью биологического контроля, и приводить к нарушению равновесия в сообществе организмов [122].

В последнее время, виды *Bacillus* привлекают большое внимание, как перспективные агенты контроля, поскольку их можно использовать в виде спор для обработки семян или вегетирующих растений. Однако показана,

но, что споры *Bacillus* легко смываются с поверхности растений в течение 8 ч после обработки, что служит дополнительным ограничением для его применения в полевых условиях [185]. Кроме того, выявлено, что в условиях низкой относительной влажности, противогрибковые соединения, производимые *Bacillus* sp. не могут диффундировать через поверхность пшеницы и влиять на рост *F. graminearum*.

Неожиданный результат был получен после тщательного исследования штаммов *T. harzianum*, которые были зарегистрированы как биологические агенты контроля различных заболеваний растений. Выявлено, что штаммы самостоятельно способны синтезировать трихотеценовые микотоксины [195]. У штаммов *T. harzianum* выявлен ген *tri5*, кодирующий биосинтез группы трихотеценовых микотоксинов. Следовательно, только те изоляты *T. harzianum*, у которых отсутствует этот ген или нарушен биосинтез трихотеценов, могут быть отселектированы и рекомендованы для дальнейшего использования [196].

Джеффрей Шима с соавт. [93] установили, что штамм почвенной бактерии ЕЗ-39 группы *Agrobacterium–Rhizobium* проявлял способность ацетилировать гидроксил ДОН в положении С-3, приводя к уменьшению токсичности метаболита. Выявлено, что данный штамм способен трансформировать 3-ацДОН, но не активен в отношении НИВ или фузаренона Х.

Канадские исследователи показали способность смешанной популяции энтеробактерий, включая *Serratia*, *Clostridium*, *Citrobacter* и *Enterococcus*, выделенных из сельскохозяйственной почвы, конвертировать в аэробных условиях ДОН в ДОМ-1 [95]. В настоящее время ведётся клонирование генов, связанных с ферментными системами микроорганизмов, ответственных за образование дезоксипроизводных, для того, чтобы внедрить их в геном зернового растения.

В последние годы возрос интерес к анаэробным бактериям, обитающим в пищеварительном тракте животных (рубец, кишечник). Известно, что микофлора, существующая в рубце крупного рогатого скота, снижает неблагоприятное воздействие микотоксинов, поступающих с кормом [96–98].

Выявлено, что анаэробные бактерии, обнаруженные в пищеварительной системе животных, способны деградировать ДОН и другие трихотецены в их дезоксицированные аналоги [99–101], которые в несколько десятков раз (по мнению разных авторов в 24–55 раз) менее токсичнее, чем исходные соединения [102, 103]. Установлена способность микроорганизмов, содержащихся в толстой кишке цыплят, почти полностью трансформировать ДОН в ДОМ-1 *in vitro* [104]. Сходные результаты показаны при изучении микрофлоры рубца крупного рогатого скота, когда ДОМ-1 был выявлен в молоке, моче, фекалиях кормящих коров, которые питались кукурузой, загрязненной ДОН [102]. Дезоксицированные трихотецены (ДАС, Т-2 и НТ-2 токсины) были получены при совместном культивировании в анаэробных условиях с бактериями из кишечника различных сельскохозяйственных животных [98, 105].

Сравнение активности кишечной микрофлоры лошадей, овец, собак, крыс, свиней и куриц показало значительные различия в их активности. Интересно, что по данным авторов, наиболее активно шло образование дезоксицированных аналогов микроорганизмами кишечника крыс. Показано, что дезоксианалоги Т-2 токсина (ДЕ Т-2) были в 400 раз менее токсичны, чем Т-2 токсин [59]. В тоже время коллективом авторов [96] было показано, что 90% ЗЕН в рубце трансформировалось в α -зеараленон, однако новый метаболит был в 4 раза более токсичен для эстрогенных рецепторов.

Немецкие исследователи в 1997 г. впервые из содержимого рубца быка выделили чистую культуру штамма бактерии, способного

трансформировать трихотецены групп А и В в дезоксипроизводные аналоги [106]. Штамм бактерии BBSH 797 рода *Eubacterium*, который эффективно трансформировал в анаэробных условиях ДОН, сцирпенол и Т-2 токсин в менее токсичные соединения [107–109], впоследствии стал коммерческим продуктом *Mycofix plus* (Biomim®).

Только спустя 10 лет изолировали два других неидентифицированных бактериальных штамма из пищеварительного тракта куриц, способных анаэробно дезоксицировать микотоксины [100], а затем еще 10 штаммов, относящихся к четырём таксономическим группам [101]. Процесс выделения начинали с мощного подавления смесью антибиотиков разнообразных представителей микробиоты птицы. Выжившие, устойчивые бактерии далее серийно разводили и проверяли их активность по отношению к ДОН. В результате были идентифицированы активные штаммы бактерий, относящиеся к *Clostridiales*, *Anaerofilum* sp., *Collisella* sp., *Bacillus* spp. [101].

Основная проблема использования таких бактерий в том, что их активность проявляется только в анаэробных условиях. Однако некоторые анаэробы, выделенные из рубца и кишечника, могут существовать и в присутствии кислорода. Например, штамм *Bacillus* sp. LS100, изолированный из кишечника рыбы, успешно был использован для детоксикации ДОН в плесневелой кукурузе, которую без негативных последствий скармливали свиньям [110]. Исследовав 62 рыбы, авторы изолировали из одной смеси бактерий С133, которая дезоксицировала ДОН в очень широком диапазоне рН (4,5–10,4) и достаточно низких температурах (до 4 °С) [99].

Способность микроорганизмов деградировать ФУМ изучали неоднократно, и, в результате, в жидкой культуре штамма МТА144 бактерии *Sphingorhixis* sp. были выявлены два фермента, которые приводили к детоксикации ФУМ: *fumD*, кодирующий карбоксилэ-

стеразы и *fumI*, кодирующий аминотрансферазы [111, 112].

Деграция ЗЕН с помощью внеклеточного фермента *Acinetobacter* sp. SM04 была выявлена в работе [113]. Из культуральной жидкости бактерии удалось выделить активную фракцию способную *in vitro* полностью разрушать 20 мг/л ЗЕН в течение 6 ч инкубации. Другие штаммы бактерий, деградирующих ФУМ и ЗЕН, были изолированы из зараженных фузариевыми грибами растений кукурузы, пшеницы, а также из силоса и компоста [48, 114]. Молочнокислые бактерии (*Lactobacillus* sp.) сбразивали углеводы и были способны внеклеточно связывать ЗЕН, трихотецены и афлатоксины [115–117].

По способности снижать содержание микотоксинов в кислой среде (рН 4) оценивали 29 штаммов лактобактерий и пропионовокислых бактерии *in vitro* [118]. Отобранные штаммы были способны максимально уменьшать ДОН до 55%, ФВ1 – 82% и ФВ2 – 100%, ЗЕН – 88%. Исследователи сделали вывод о том, что наблюдались значительные различия между штаммами, но лактобактерии были более эффективны и их использование перспективнее при заготовке силоса. Тот же В. Нидеркорн с соавт. [119] изучали способность различных бактерий, большая часть которых являлась облигатными анаэробами, связывать различные микотоксины грибов *Fusarium* в кукурузном силосе. К таким бактериям относились представители видов *Streptococcus* и *Enterococcus*, которые снижали содержание ДОН на 33%, ЗЕН – 49%, ФВ1 – 24% и ФВ2 – 62 %.

При изучении способности штаммов *Lactobacillus* и *Propionibacterium* изменять содержание семи различных трихотеценовых микотоксинов в жидкой среде Эль-Незами с соавт. [115] установили, что штаммы *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Propionibacterium freudenreichii* spp. *shermanii* JS уменьшали количества ДОН, ДАС и фузаренона X, и снижение содержания микро-

токсинов варьировало от 18 до 93%. Штамм *Lactobacillus rhamnosus* LC-705 приводил к уменьшению в среде только ДОН и ДАС в пределах 10–64%. Эта же группа исследователей оценивала способность живых и обработанных высокой температурой и кислотой клеток *Lactobacillus rhamnosus* деградировать ЗЕН и α -зеараленол.

В обоих вариантах клетки были способны снижать содержание микотоксинов на 50%, при этом в растворе отсутствовали продукты распада метаболитов, что указывало на физическое связывание микотоксинов клетками бактерий [120]. Однако эксперименты хорватских исследователей показали, что штаммы бактерий *Lactobacillus plantarum* A1 и *Lactobacillus rhamnosus* GG, выделенные исследователями из сыра, способны *in vitro* связывать ЗЕН на клеточные стенки, но спустя некоторое время микотоксин вновь возвращался в питательный субстрат [121].

6. Грибы – агенты биологического контроля

Виды грибов рода *Trichoderma* Pers. доказали свой значительный потенциал как агенты биологического контроля, проявляя антагонизм по отношению ко многим патогенам [122–125]. Известно, что грибы *Trichoderma* образуют более 120 вторичных метаболитов, включая антифунгальные [124, 126, 127]. В тоже время относительно мало исследований, показывающих влияние *Trichoderma* на фузариоз зерновых культур, и ещё меньше информации об их действии на микотоксины.

Известно, что вид *T. harzianum* (Persoon: Fries) является перспективным агентом, ограничивающим вредоносность многих почвенных патогенов. Этот гриб улучшает рост и повышает устойчивость к патогенам растений [128]. В 1988 г. опубликован патент на штамм *T. harzianum* (ATCC No. 20691), выделенный из почвы, который характеризуется значительной антифунгальной активностью, осо-

бенно по отношению к фузариевым грибам [129].

Уменьшение инфекционного начала на полях (удаление растительных остатков, сорных посевов и др.) может предотвратить массовые эпифитотии и загрязнение урожая микотоксинами. При обработке суспензией грибов *T. harzianum* [130, 131] и *Microsphaeropsis* sp. [132] послеуборочных остатков пшеницы в поле показано значительное снижение зараженности грибами соломы, сопровождаемое уменьшением выживаемости и образования спороношения гриба *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch (телеоморфа *F. graminearum*). Один из коммерчески доступных штаммов *Trichoderma* T-22 снижал в среднем образование перитециев на 70% и более [131].

На питательной агаризованной среде метаболит 6-пентил-альфа-пирон (6РАР), образуемый штаммом THF2/3 *T. harzianum* приводил к уменьшению на 66–81% количества ДОН, образуемого *F. graminearum* [133]. Отмечено значительное увеличение образования штаммом *T. harzianum* метаболита 6РАР в ответ на присутствие патогенных грибов.

Ф. Матарезе с соавт. (2012) установили, что штамм *T. gamsii* 6085 снижал на 60–92% количество ДОН, образуемое штаммами *F. culmorum* и *F. graminearum*, за счет ингибирования процесса образования микотоксина, а не его деградации. Авторы показали, что этот эффект связан с активностью генов *T. gamsii*, кодирующих образование хитиназы. В результате проведенных исследований выявлено, что при совместном культивировании этого штамма на автоклавированном рисе рост штаммов *F. culmorum* и *F. graminearum* и образование ДОН эффективно снижались, однако на относительно бедном субстрате – пшеничной соломе, антагонистическая активность *T. gamsii* 6085 не проявлялась [134].

Польские исследователи [135] проверяли влияние 92 штаммов, относящихся к 29 различным видам грибов, на рост и продуцирование микотоксинов штаммами гри-

бов *Fusarium*, являющихся типичными возбудителями фузариоза зерна – *F. avenaceum*, *F. culmorum* и *F. graminearum*. Из всех анализируемых грибов наибольшую антагонистическую активность показали штаммы *Trichoderma*. Штамм AN35 *T. atroviride* P. Karst. характеризовался наибольшей эффективностью среди исследуемых антагонистов. При его совместном культивировании с грибами содержание пяти трихотеценовых микотоксинов ДОН, 3-ацДОН, 15-ацДОН, НИВ и фузаренона Х уменьшалось на более чем 95% [136].

Кроме трихотеценовых микотоксинов, этот штамм был способен снижать на 95–100% количество монилиформина при совместном росте на автоклавированном рисе с изолятами *F. avenaceum* [135]. Поскольку культивирование *T. atroviride* AN35 на рисе, к которому был добавлен монилиформин в количестве 100 мкг/г, приводило к снижению микотоксина до 6,5 мкг/г, то есть основания предполагать возможность биodeградации этого метаболита. В других лабораторных исследованиях выявлено уменьшение биомассы *F. graminearum* до 15%, а количество ДОН до 45% при совместном культивировании с *T. atroviride*, по сравнению с одиночной культурой патогена [137].

Показана эффективность штаммов *T. viride* и *T. asperellum* против токсинопродуцирующих грибов *Fusarium* [138, 139]. Обработки в поле зараженных растений бактофитом (на основе *T. viride*) существенно снижали накопление ДОН в зерне [140].

В результате предварительной обработки колосьев пшеницы суспензиями грибов *T. harzianum* и *Clonostachys rosea* (Link:Fr.) Schroers, Samuels, Serfert & Gams syn. *Gliocladium roseum* Bainier) и последующей их инокуляцией *F. graminearum* было выявлено существенное снижение развития фузариоза и уменьшение ДОН в зерне [141]. Штаммы дрожжей *Sporobolomyces roseus* Kluyver & C.B. Niel вызывали значительное снижение

развитие заболевания в теплице при опрыскивании пшеницы [68]. Аргентинские исследователи показали снижение инфицированности пшеничной соломы фузариевыми грибами под воздействием штамма *Clonostachys rosea* 1457 [142].

При обработке семян штаммом гриба *Clonostachys rosea* АСМ941, известного как микопаразит, канадские исследователи показали его высокую эффективность против *Fusarium* как в лабораторных, так и в полевых исследованиях [143]. Штамм АСМ941 выживал как минимум в течение 35 суток после обработки семян и защищал проростки и корни от почвенной инфекции [144, 145]. Изготовленный на его основе препарат СЛО-1 уменьшал развитие фузариоза колоса на 30–46 %, зараженность зерна на 31–39 % и количество ДОН на 22–33% [145, 146]. Показано, что эффективность препарата статистически не отличалась от эффективности химического фунгицида Folicur® (ДВ – тебуконазол), используемого в этих экспериментах.

Н. Такахаша-Андо с соавт. (2002) изучали ферментную деградацию микотоксина ЗЕН под воздействием щелочной гидролазы, полученной из гриба *Clonostachys rosea* IFO 7063, приводившую к полному преобразованию этого микотоксина в модельном растворе [147]. Авторам удалось идентифицировать ген zhd101, и внедрив его в *Escherichia coli*, доказать его связь со способностью гриба к детоксикации ЗЕН [148]. После перенесения этого гена в геном кукурузы и последующей инокуляции её грибом *F. graminearum*, в зерне трансгенных растений не был выявлен ЗЕН, в отличие от зерна исходных растений [149].

Среди 738 выделенных из пыльников пшеницы микроорганизмов американские исследователи выявили штаммы дрожжей, которые эффективно снижали развитие и распространение *F. graminearum* на пшенице в теплице и в полевых условиях [150]. Подавление патогена, по мнению авторов, было связано со способностью штаммов утилизиро-

вать холин в пыльниках пшеницы, стимулирующий рост *F. graminearum*. Штаммы дрожжей *Cryptococcus* sp. ОН 71.4, *Cryptococcus nodaensis* ОН 182.9 и *Cryptococcus* sp. ОН 181.1 при обработке колосьев пшеницы в фазу начала цветения снижали фузариоз колосьев и загрязнение зерна ДОН до 50–60%, однако уменьшение ДОН не коррелировало с уменьшением симптомов фузариоза [64, 151].

На сегодняшний день выполнено и опубликовано относительно мало исследований, оценивающих действие антагонистов на наиболее токсичную группу А трихотеценовых микотоксинов (Т-2 и НТ-2 токсины, Т-2 тетраол, Т-2 триол, ДАС). Такие исследования проводили польские ученые показавшие, что совместное культивирование штаммов *T. harzianum* AN4 и *F. sporotrichioides* приводило к снижению суммы продуцируемых микотоксинов на 49–98% [136, 152].

Микробиологическая трансформация трихотеценов включает ацетилирование, деацетилирование, оксигенацию, деэпоксилирование, эпимеризацию и глюколизацию [153].

Показан путь ацетилирования ДОН трихотецен-3-О-ацетилтрансферазой, кодируемый геном Tri101 грибов *F. graminearum* и *F. sporotrichioides* [154]. Ацетилизация трихотеценов в положении С3–ОН трихотецен-продуктирующими грибами *Fusarium* является одним из путей защиты гриба от образуемых собственных токсичных продуктов и поэтому клонирование этого гена в растения представляется перспективным путём уменьшения их контаминации.

Дрожжи, относящиеся к группе *Trichomonascus*, способны трансформировать Т-2 токсин и в результате все модифицированные продукты демонстрировали меньшую токсичность, чем исходный метаболит [155]. Культуры дрожжей *Candida tropicalis* (Castell.) Berkhout, *Torulasporea delbrueckii* (Lindner) E.K. Novák & Zsolt, *Zygosaccharomyces rouxii* (Boutroux) Yarrow и *Saccharomyces* стереоселективно преобразовали другой фузариоток-

син ЗЕН в изомеры α -зеараленол и β -зеараленол [29]. Дрожжевой штамм *Trichosporon mycotoxinivorans* O. Molnár, Schatzm. & Prillinger (род *Trichosporon* Behrend), выделенный из кишечника термитов *Macrotermes darwiniensis*, декарбоксилировал ЗЕН до нетоксичных микотоксинов [156].

Обработка внутриклеточными ферментами штаммов *Saccharomyces cerevisiae* Gasperini кукурузной муки приводила к деградации ВЕА до 66–91% [157]. Показана высокая адсорбирующая активность клеточных стенок дрожжей и их компонентов в отношении микотоксинов, что стали использовать при изготовлении различных добавок к кормам для животных, с целью профилактики микотоксикозов [158, 159]. В исследованиях *in vitro* было установлено, что они связывают зеараленон и Т-2 токсин [160, 161]. Показано, что выделенные из стенок клеток дрожжей хитозаны, глюкоманнаны проявляют большую эффективность по сравнению с минеральными адсорбентами.

Из органического экстракта гриба-эндобиота *Acremonium zeae* W. Gams & D.R. Sumner выделены два антибиотика пирроцидин А и В, показавшие высокую активность против *F. verticillioides* в лабораторных и полевых тестах, снижающие количество ФУМ в зерне [162].

Опубликованы данные о возможности деградировать микотоксины штаммами видов, которые, как правило, не рассматриваются как агенты контроля токсин-продуцирующих грибов, но в той или иной мере вступают с ними в биоценоотические отношения. Проведены интересные исследования по оценке 12 штаммов темноокрашенных видов *Aspergillus* трансформировать ЗЕН и показано, что 2 штамма *Aspergillus niger* Tiegh. полностью разрушали микотоксин до нетоксичных соединений [163]. Штамм *Aspergillus tubingensis* Mosseray, выделенный из почвы, через 2 нед совместного культивирования с

F. graminearum биотрансформировал 94,4% ДОН [76].

Штамм *Mucor racemosus*. f. *racemosus* Fresen обладал способностью деградировать ДАС, присутствующий в жидкой культуре гриба *F. semitectum*, от 90,0 до 99,97% а также уменьшал от 95,0 до 96,7% количество Т-2 токсина, образуемого *F. sporotrichioides* [164]. Грибы рода *Rhizopus* Ehrenb., включая *R. stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *R. oryzae* Went & Prins. Geerl. и *R. microsporus* Tiegh. полностью деградировали ЗЕН [31, 165].

6. Дополнительные возможности биологического контроля токсинопродуцирующих грибов *Fusarium*

Кроме грибов и бактерий успешно использовали миковирусы, изолированные из патогенных организмов и приводящие к значительному снижению их вредоносности [166]. У грибов рода *Fusarium* также выявлены миковирусы, содержащие двуцепочечную РНК, например, *F. poae* virus 1, FpV1 [167], *F. solani* virus 1, FsV1 [168], *F. graminearum* virus 1, FgV1 [169] и *F. graminearum* virus-DK21 (FgV-DK21) [170]. Согласно филогенетическим анализам, миковирусы грибов *Fusarium* относятся к четырём семействам: Chrysoviridae, Nupoviridae, Partitiviridae и Totiviridae [171]. Выявленные исследователями вирусы оказывали влияние на патогенность грибов, снижали скорость роста и спороношение, но при этом стимулировали образование темно-красного пигмента [169, 172].

Данные протеомных и транскриптомных исследований показали, что вирус FgV1 *Fusarium* вызывает изменения в механизмах, обеспечивающих координацию процессов транскрипции и трансляции [171]. Под действием вируса *F. graminearum* FGV-DK21 наблюдали достоверное снижение или подавление регулирования 16 ферментов, включающих енолазу, сахаропиндегидрогеназу,

флавогемоглобин, маннитдегидрогеназу и малатдегидрогеназу [170]. Исследований влияния вирусов на биосинтез микотоксинов пока не проводили, но вполне вероятно, что в будущем использование миковирусов может представлять интерес для борьбы с опасными патогенами.

Выявленный в Канаде микопаразит *Sphaerodes mycoparasitica* Vujan. грибов *F. avenaceum*, *F. graminearum* и *F. oxysporum* также позиционируют в качестве перспективного биологического агента, снижающего численность этих патогенов в полях [173].

Предполагается возможность использования насекомых и их симбионтов для детоксикации микотоксинов. Насекомые питаются, как пораженными токсинопродуцирующими грибами растениями, так и самими грибами, поэтому, по всей видимости, обладают механизмами детоксикации токсичных метаболитов [174].

Известны работы, показывающие значительное влияние нематоды *Aphelenchus avenae* Bašian на снижении плотности популяции грибов *F. moniliforme* и *Pythium butleri* Subraman в почве [175].

Экстракты разнообразных растений и их метаболиты (как например, эфирные масла) тоже могут использоваться для снижения заболеваний растений. Показано ингибирующее влияние пяти природных соединений эфирных масел растений (терпинен-4-ол, эвгенол, карвон, эвкалиптол, тимол и др.) на рост грибов и продуцирование микотоксинов [176–179]. Однако действие масел может быть прямо противоположным. Так, показано существенное подавление образования ФВ1 грибами *F. verticillioides* под действием эфирного масла душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.), и усиление – вербены (*Aloysia triphylla* (L'Her.) Britt.) [180].

Также показано, что эфирное масло и спиртовой экстракт, полученные из почек тополя бальзамического (содержащего терпеноиды, флавоноиды и гидроксикоричные кисло-

ты), проявляли антифунгальную активность в отношении фитопатогенных штаммов грибов рода *Fusarium* [181].

Результаты исследований по влиянию водных вытяжек валерианы лекарственной (*Valeriana officinalis* L.), хрена обыкновенного (*Armoracia rusticana* L.), сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.), тополя (*Populus* sp.) на морфологию штаммов грибов *F. graminearum* показали, что они активно подавляли рост мицелия и прорастание конидий, а также способствовали формированию хламидоспор в клетках гиф мицелия [182]. Для дальнейшего понимания действия растительных масел необходимо выделить конкретные компоненты – вещества, оказывающие влияние на грибы и их метаболизм.

Оценить перспективы предложенных возможностей ограничения вредоносности токсинопродуцирующих грибов достаточно сложно, однако эти методы могут способствовать успешному решению проблемы в будущем.

7. Проблемы применения биологических средств

На сегодняшний день, сельское хозяйство и производство не может обойтись без применения синтетических химических средств защиты растений. Биологический метод, безусловно, нужно активнее внедрять в практику получения высокого и качественного урожая и рассматривать не как альтернатив химическому методу, а как его разумное дополнение. Использование биологических препаратов в поле может быть спасительным в период массового цветения пшеницы, когда применение химических препаратов нежелательно с экологической точки зрения [183].

Однако выявленная эффективность антагониста в лабораторных условиях, не гарантирует его действие *in vivo* [184]. Таким образом, значительное число публикаций показывает высокую эффективность штаммов

in vitro, и несравнимо меньше – в поле [183]. Штамм *Bacillus amiloliquefaciens* TrigoCor 1448, высокоэффективный в теплице, в полевых условиях незначительно снижал развитие фузариоза *F. graminearum* [56, 63, 185].

Также проблемами биологического контроля часто являются низкая жизнеспособность микроорганизма, сложность равномерного покрытия защищаемой поверхности, нестабильность результатов обработки [56, 85, 186, 187]. Есть опасность в результате модификации микотоксина биологическими агентами получить более токсичное соединение, чем исходное. Условия окружающей среды (субстрат, соотношение питательных веществ, влажность, температура, pH) могут существенным образом воздействовать на эффективность биологического агента, оказывая влияние на его способность к конкурентным взаимоотношениям [188–190].

По данным исследователей, комбинация биопрепаратов с химическими фунгицидами повышает их индивидуальную эффективность [78, 191]. Такое совместное использование природных биоцидов и химических фунгицидов позволяет расширить время лечебного действия, снизить токсичность используемой смеси. При раздельном использовании химических и биологических препаратов последние должны быть применены за 10 сут до или на 10 сут позже, чем обработка химическими средствами.

В полевых экспериментах в Южной Дакоте и штате Небраска (США) совместная обработка тебуконазолом и культурой штамма СЗ *Lysobacter enzymogenes* двух сортов яровой пшеницы была более эффективной и давала более стабильные положительные результаты, чем применение их по отдельности [78]. Предполагают, что риск получения резистентных штаммов патогенов ниже в результате применения агентов-микроорганизмов, чем химических препаратов [192].

В США получен патент (СА 2769327 А1) на штаммы *Cryptococcus flavescens*, устойчи-

вые к протиоконазолу и с повышенной эффективностью против *F. graminearum*, которые могут использоваться в смеси с фунгицидом. Однако необходимо продолжить исследования по изучению возможностей применения смесей антагонистов и фунгицидов или смеси антагонистов, которые могут расширить спектр контролируемых патогенов, удлинить период защитного эффекта и получать стабильные результаты в различных агроэкосистемах. Также необходимо выявление оптимальных доз и времени использования смесей. Кроме того, применение биологических агентов не должно стимулировать образование микотоксинов в результате подавления роста грибов, как это бывает при опрыскивании растений фунгицидами.

Штаммы – антагонисты могут по-разному влиять на разные виды грибов *Fusarium*. Показано, что штаммы грибов *Alternaria*, *Epicoccum* и *Trichoderma* существенно подавляли рост культур *F. graminearum* и *F. poae*, но их влияние на *F. poae* было значительнее, чем на *F. graminearum* [193]. Это может быть связано с подавлением экспрессии гена хитиназы *pag1*-гох микотоксином ДОН, продуцентом которого является *F. graminearum* [194].

Некоторую озабоченность вызывает возможность отрицательного экологического последствия интродукции антагонистов в природу, которая может изменять структуру комплекса микромицетов, не являющихся мишенью биологического контроля, и приводить к нарушению равновесия в сообществе организмов [122].

В последнее время, виды *Bacillus* привлекают большое внимание, как перспективные агенты контроля, поскольку их можно использовать в виде спор для обработки семян или вегетирующих растений. Однако показано, что споры *Bacillus* легко смываются с поверхности растений в течение 8 ч после обработки, что служит дополнительным ограничением для его применения в полевых условиях [185]. Кроме того, выявлено, что в

условиях низкой относительной влажности, противогрибковые соединения, производимые *Bacillus* sp. не могут диффундировать через поверхность пшеницы и влиять на рост *F. graminearum*.

Неожиданный результат был получен после тщательного исследования штаммов *T. harzianum*, которые были зарегистрированы как биологические агенты контроля различных заболеваний растений. Выявлено, что штаммы самостоятельно способны синтезировать трихотеценовые микотоксины [195]. У штаммов *T. harzianum* выявлен ген *tri5*, кодирующий биосинтез группы трихотеценовых микотоксинов. Следовательно, только те изоляты *T. harzianum*, у которых отсутствует этот ген или нарушен биосинтез трихотеценов, могут быть отселектированы и рекомендованы для дальнейшего использования [196].

При использовании зерна на кормовые и пищевые цели важно, чтобы зерно не содержало микотоксинов или их содержание было минимальным. В случаях выявления превышения предельно-допустимых значений микотоксинов в зерне [197] и кормах [198], но при его высокой всхожести и соответствии нормам ГОСТ [199], такое зерно может быть использовано на семенные цели, после обязательной предпосевной обработки.

В России, согласно обновляемому ежегодно Каталогу пестицидов и агрохимикатов [200], для предпосевной обработки семян зерновых культур кроме химических протравителей разрешены биопрепараты на основе бактерий *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas fluorescens* и гриба *Trichoderma harzianum* (см. табл. на стр. 226).

Ранее для обработки семян и растений пшеницы также применяли вермикулен, созданный на основе спорово-мицелиальной массы гриба *Penicillium vermiculatum*. Показано, что протравливание зерен биопрепаратом на основе *Bacillus amiloliquefaciens* (бацизулин) снижало пораженность растений в среднем на 92,5–100% в зависимости от сорта, культуры зерновых и возбудителей заболевания, в том числе грибов родов *Bipolaris*, *Alternaria* и *Fusarium* [201].

Для создания новых коммерчески успешных препаратов особый интерес представляют штаммы, которые соответствуют следующим требованиям [202]: генетически стабильный; эффективный в низких концентрациях; непривередливый в пищевых потребностях и способный расти на недорогих питательных средах; эффективный против широкого спектра патогенов; способный выживать в предлагаемых условиях среды; непатогенный к возделываемым растениям и не вызывающий заболеваний у людей; не образующий метаболиты опасные для человека; сохраняющий свои свойства при длительном хранении; удобный в применении и совместимый с технологиями возделывания растений; устойчивый к используемым пестицидам.

Даже при выявлении эффективных соответствующих всем параметрам штаммов, снижающих рост грибов и образование микотоксинов, создание формуляций биопрепаратов является следующей самостоятельной, не менее сложной, задачей [123, 126, 127]. Важно, чтобы состав препаративных форм в течение длительного времени обеспечивал оптимальные условия для жизнедеятельности и целе-

Таблица. Биологические препараты, разрешенные к использованию против фузариозных заболеваний зерновых культур
(Каталог пестицидов и агрохимикатов, 2015)

№ п/п	Биологический агент	Название, препаративная форма, содержание ДВ, регистрант	Норма применения препарата (л/га, кг/га, л/т, кг/т)	Обрабатываемая культура	Фузариозное заболевание	Способ, время обработки, особенности применения
1	2	3	4	5	6	7
1	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм 26 Д	Фитоспорин-М, Ж (титр не менее 10 ⁹ живых клеток и спор/мл) ООО «НВП «БашИнком»	1	пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	опрыскивание в период вегетации фазы кушения - выхода в трубку
			1,5-2	пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	предпосевная обработка семян
		Фитоспорин-М, П (титр не менее 2×10 ⁹ живых клеток и спор/г) ООО «НВП «БашИнком»	0,4-0,5	пшеница озимая, пшеница яровая	плесневение семян, фузариозная корневая гниль	предпосевная или заблаговременная обработка семян
2	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм В-10 ВИЗР	Алирин-Б, Ж (титр не менее 10 ⁹ КОЕ/мл) ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», ЗАО «Агробиотехнология», ООО Управляющая компания «АБТ-груп»	2	ячмень яровой, ячмень озимый, пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	предпосевная обработка семян
		Алирин-Б, СП (титр не менее 10 ¹¹ КОЕ/г) Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», ООО «Управляющая компания «АБТ-груп»	5-10 г/га	пшеница озимая, пшеница яровая	фузариозная корневая гниль	опрыскивание в фазе кушения, последующее - через 15 дней
			4-5 г/т	пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	предпосевная обработка семян суспензией препарата
3	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм ВКМ-В-2604Д + <i>Bacillus subtilis</i> , штамм ВКМ-В-2605Д	Витаплан, СП (титр 10 ¹⁰ + 10 ¹⁰ КОЕ/г) ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» Россельхозакадемии, ООО Управляющая компания «АБТ-груп»	20 г/т	ячмень яровой, ячмень озимый, пшеница озимая, пшеница яровая, рожь озимая	фузариозная корневая гниль	предпосевная обработка семян
			20-40 г/га	ячмень яровой, ячмень озимый, рожь озимая, пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	опрыскивание в период вегетации

4	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм ИПМ 215	Бактофит, СК (БА-10000 ЕА/мл, титр не менее 2×10^9 спор/мл) ООО ПО «Сиббиофарм»	3	пшеница озимая, пшеница яровая, ячмень яровой	фузариозная корневая гниль	протравливание семян перед посевом за 1-5 суток
			2	пшеница озимая, пшеница яровая, ячмень яровой	фузариозная корневая гниль	опрыскивание в период вегетации
5	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм М-22 ВИЗР	Гамаир, СП (титр не менее 10^{11} КОЕ/г) Государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследова- тельский институт защиты растений», ООО «Управляющая компания «АБТ-групп»	5-10 г/га	пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	опрыскивание в период вегетации
			4-5 г/т	пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корневая гниль	предпосевная обработка семян
6	<i>Bacillus subtilis</i> , штамм Ч-13	БисолбиСан, Ж (титр не менее 10^8 КОЕ/мл) ООО «Бисолби-Интер»	1	пшеница яровая, пшеница озимая	плесневение семян, фузариозная корне- вая гниль	протравливание семян за 5-7 дней до посева
7	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> , штамм ИБ51	(Р), Елена, Ж (титр $2-3 \times 10^9$ КОЕ/мл) ГУП «Опытный завод АН РБ», Институт биологии УНЦ РАН	1	пшеница яровая, пшеница озимая	фузариозная корне- вая гниль	протравливание семян перед посевом за 1-2 суток
8	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , штамм АР-33	Ризоплан, Ж (10^9 КОЕ/мл) ООО «БИОПЕСТИЦИДЫ»	0,5-1	пшеница яровая, ячмень яровой	плесневение семян, фузариозная корне- вая гниль	протравливание семян в день посева или за 1-2 дня до посева
9	<i>Trichoderma harzianum</i> , штамм 18 ВИЗР	Глиокладин, Ж (титр не менее 10^9 КОЕ/мл) ЗАО «Агробиотехнология», ООО Управ- ляющая компания «АБТ-групп»	2	ячмень озимый, пшеница яровая, ячмень яровой, пшеница озимая	фузариозная корне- вая гниль	предпосевная обработка семян
10	<i>Trichoderma har- zianum</i> , штамм Г 30 ВИЗР	Трихоцин, СП (титр 10^{10} КОЕ/г) ООО Управляющая компания «АБТ- групп»	20 г/т	рожь озимая, пшеница яровая, пшеница озимая, ячмень озимый, ячмень яровой	фузариозная корне- вая гниль	предпосевная обработка семян

Сокращения и условные обозначения:

1) Ж – жидкость; П – порошок; СК – суспензионный концентрат; СП – смачивающийся порошок;

2) (Р) в колонке 3 – запрещение применения в санитарной зоне вокруг рыбохозяйственных водоемов на расстоянии 500 м от границы затопления при максимальном стоянии паводковых вод, но не ближе 2 км от существующих берегов. Для пестицидов, предназначенных для предпосевной обработки семян, запрещается проводить протравливание семян в указанной зоне, высев обработанных семян разрешен.

3) В колонке 4 указаны нормы применения препаратов: для твердых препаративных форм – в кг/га (для протравителей семян – в кг/т), для жидких препаративных форм – в л/га (для протравителей семян – в л/т). В остальных случаях нормы применения, приведенные в других единицах измерения, указаны рядом с числовым значением нормы применения пестицида.

вой биологической активности микроорганизмов.

Заключение

Адаптированные к окружающей среде микроорганизмы могут обеспечивать долговременный прессинг патогенных популяций грибов, успешно сдерживая их численность. Выбранная стратегия контроля токсинопродуцирующих грибов должна приводить не только к подавлению их роста и развития, но и к получению конечного продукта, свободного от токсичных метаболитов.

В последние годы, в связи с возросшей доступностью аналитических методов определения микотоксинов, возросло количество исследований по влиянию антагонистов на токсинообразование грибов. Показана несомненная перспективность использования штаммов микроорганизмов, обладающих высокой целевой активностью в подавлении токсинопродуцирующих грибов, в том числе, снижающих уровень синтеза опасных микотоксинов и повышающих устойчивость растений.

Актуальными на сегодняшний день остаются следующие задачи:

1. Поиск новых активных штаммов микроорганизмов и определение механизмов их действия в отношении различных видов токсинопродуцирующих грибов и спектра образующих ими токсичных метаболитов;

2. Выявление экологических требований перспективных микроорганизмов: оптимальные условия, возможность адаптации в агроценозе, интегрирование в системы защиты растений и др.;

3. Подбор технологии применения штаммов антагонистов для создания биопрепаратов: формуляция, возможность использования в смеси.

Получение высококачественной продукции невозможно без экологически обоснованных технологий. Для решения проблемы загрязнения растений и продукции на их основе микотоксинами использование потенциала

устойчивости растений и свойств различных микроорганизмов представляется безальтернативным путём.

Работа поддержана грантом РНФ (проект № 14-16-00114).

Литература

1. Marasas WFO, Nelson PE., Toussoun TA. Toxigenic *Fusarium* species. Identity and mycotoxicology. The Pennsylvania State Univ. Press, London. 1984: 328 p.
2. Thrane U. Developments in the taxonomy of *Fusarium* species based on secondary metabolites. In: "Fusarium". Paul E. Nelson Memorial Symp. St. Paul: APS Press. 2001: 29-49.
3. Mirocha ChJ, Xie W, Filho ER. Chemistry and detection of *Fusarium* mycotoxins. In book: *Fusarium head blight of wheat and barley*. APS Press. 2003: 144-64.
4. Ueno Y. General toxicity. In: "Trichothecenes: chemical, biological and toxicological aspects". Amsterdam. 1983: 135-46.
5. Miller JD, Apsimon JW, Blackwell BA et al. Deoxynivalenol: A 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In book: *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symp. St. Paul: APS PRESS. 2001: 310-20.
6. Desjardins AE, Plattner RD, Nelsen TC, Leslie JF. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995; 61: 79-86.
7. Буркин А.А., Кононенко Г.П., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю. О накоплении зеараленона в травяных кормах и токсинообразующей активности грибов рода *Fusarium*. *Сельскохозяй. биол.* 2015; 50(2): 255-62. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.2.255rus
8. Bryden WL, Logrieco A, Abbas H et al. Other significant *Fusarium* mycotoxins. In: "Fusarium". APS Press, 2001: 360-92.
9. Engelhardt JA, Carlton WW, Tuite JF. Toxicity of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* for chicks, ducklings, and turkey poults. *Avian Dis.* 1989; 33: 357-60. DOI: 10.2307/1590856

10. Thrane U, Adler A, Clasen PE et al. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *Int. J Food Microbiol.* 2004; 95: 257-66. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.005
11. Ivanova L, Skjerve E, Eriksen G. Cytotoxicity of enniatins A, A1, B, B1 and B3 from *Fusarium avenaceum* L. *Toxicon.* 2006; 47(8): 868-76. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.02.012
12. Соколов М.С., Коломбет Л.В. Агротехногенные факторы минимизации вредоносности фузариоза колоса пшеницы. *Агрохимия.* 2007. № 12. С. 63–80.
13. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К. В. Фузариоз зерновых культур. *Защита и Карантин Растений.* 2011; 5: 69-120.
14. D’Mello JPF, Macdonald AMC et al. Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. *Eur. J. Plant. Pathol.* 1998; 104: 741-51. DOI: 10.1023/A:1008621505708
15. Simpson DR, Weston GE, Turner JA et al. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. *Eur J Plant Pathol.* 2001; 107: 421-31. DOI: 10.1023/A:1011225817707
16. Ramirez ML, Chulze S, Magan N. Impact of environmental factors and fungicides on growth and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* isolates from Argentinian wheat. *Crop Protect.* 2004; 23: 117-25. DOI: 10.1016/j.cropro.2003.07.005
17. Blandino M, Minelli L, Reyneri A. Strategies for the chemical control of *Fusarium* head blight: Effect on yield, alveographic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. *Eur J Agronom.* 2006; 25: 193-201. DOI: 10.1016/j.eja.2006.05.001
18. Magan N, Hope R, Colleate A, Baxter ES. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium* species, biocides and environment. *Eur J Plant Pathol.* 2002; 108: 685-90. DOI: 10.1023/A:1020618728175
19. Ios R, Belhadj A, Menez M, Faure A. The effects of fungicides on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* and their associated trichothecene mycotoxins in French naturally-infected cereal grains. *Crop Protect.* 2005; 24: 894-902. DOI: 10.1016/j.cropro.2005.01.014
20. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C et al. Afla-toxin B1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Dairy Sci.* 2001; 84: 2152-6. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74660-7.
21. Berthiller F, Crews C, Dall’Asta Ch et al. Masked mycotoxins: A review. *Mol Nutr Food Res.* 2013; 57: 165-86. DOI: 10.1002/mnfr.201100764.165
22. Schroeder HW, Christensen JJ. Factor affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathol.* 1963; 53: 831-8.
23. Mesterházy A. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight in wheat. *J Appl Gen.* 2002; 43A: 289-302.
24. Boutigny AL, Richard-Forget F, Barreau C. Natural mechanisms for cereal resistance to *Fusarium* mycotoxins accumulation. Review. *Eur J Plant Pathol.* 2008; 12: 411-23. DOI: 10.1007/s10658-007-9266-x
25. Miller JD, Young JC, Sampson DR. Deoxynivalenol and *Fusarium* head blight resistance in spring cereals. *Phytopathol Z.* 1985; 113: 359-67. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1985.tb04837.x
26. Arseniuk E, Foremska E, Góral T, Chełkowski J. *Fusarium* head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *J Phytopath.* 1999; 147(10): 577-90. DOI: 10.1046/j.1439-0434.1999.00433.x
27. Rychlik M., Humpf H. U., Marko D. et al. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including «masked» mycotoxins. *Mycotox. Res.* 2014; 30(4): 197-205. DOI: 10.1007/s12550-014-0203-5
28. Berthiller F, Dall’Asta C, Schuhmacher R. Masked mycotoxins: determination of deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* 2005; 53: 3421-5. DOI: 10.1021/jf047798g
29. Böswald C, Engelhardt G, Vogel H, Wallnöfer PR. Metabolism of the *Fusarium* mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol by yeast strains of technological relevance. *Nat Toxins.* 1995; 3(3): 138-44. DOI: 10.1002/nt.2620030304
30. Scudamore KH, Guy RCE, Kelleher B, Macdonald SJ. Fate of the *Fusarium* mycotoxins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone, during extrusion of wholemeal wheat

- grain. *Food Add Contam.* 2008; 25: 331-7. DOI: 10.1080/02652030701658365
31. El-Sharkawy S, Abul-Hajj Y. Microbial transformation of zearalenone. 1. Formation of zearalenone-4-O- β -glucoside. *J Nat Prod.* 1987; 50(3): 520-1 DOI: 10.1021/np50051a038
32. Kamimura H. Conversion of zearalenone to zearalenone glycoside by *Rhizopus* sp. *Appl Environ Microbiol.* 1986; 52(3): 515-9.
33. Zhou B, He GQ, Schwarz PB. Occurrence of bound deoxynivalenol in *Fusarium* head blight-infected barley (*Hordeum vulgare* L.) and malt as determined by solvolysis with trifluoroacetic acid. *Food Prot.* 2008; 71(6): 1266-9.
34. Schneweis I, Meyer K, Engelhardt G, Bauer J. Occurrence of zearalenone-4- β -D-glucopyranoside in wheat. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 1736-38. DOI: 10.1021/jf010802t
35. Lemmens M, Scholtz U, Berthiller F et al. The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Mol Plant Microbe Interact.* 2005; 18: 1318-24. DOI: 10.1094/MPMI-18-1318
36. Kim E K, Scott PM, Lau BP. Hidden fumonisin in corn flakes. *Food Addit Contam.* 2003; 20: 161-9. DOI: 10.1080/0265203021000035362
37. Dall'Asta C, Galaverna G, Mangia M et al. Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol Nutr Food Res.* 2009a; 53: 492-9. DOI: 10.1002/mnfr.200800088
38. Dall'Asta C, Mangia M, Berthiller F, Molinelli A et al. Difficulties in fumonisin determination: the issue of hidden fumonisins. *Anal Bioanal Chem.* 2009; 395:1335-45. DOI: 10.1007/s00216-009-2933-3
39. Dall'Asta C, Falavigna C, Galaverna G, Battilani P. Role of maize hybrids and their chemical composition in *Fusarium* infection and fumonisin production. *J Agric Food Chem.* 2012; 60: 3800-8. DOI: 10.1021/jf300250z
40. Snijders CHA. The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Euphytica.* 1990; 50: 11-8. DOI: 10.1007/BF00023155
41. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С. Ф. Общая и молекулярная фитопатология. М.: Общ-во фитопатол. 2001: 302 с.
42. Щербакова Л.А., Джавахия В.Г. Микробные белки и пептиды, представляющие интерес для разработки экологически безопасных технологий защиты растений от фитопатогенов. *Изв. Самар. ИЦ РАН.* 2013; 15(3-5): 1705-9.
43. Ravensdale M, Rocheleau H, Wang L et al. Components of priming-induced resistance to *Fusarium* head blight in wheat revealed by two distinct mutants of *Fusarium graminearum*. *Mol Plant Pathol.* 2014; 15: 948-56. DOI: 10.1111/mpp.12145
44. Diamond H, Cooke BM. Preliminary studies on biological control of the *Fusarium* ear blight complex of wheat. *Crop Protect.* 2003; 22(1): 99-107. DOI: 10.1016/S0261-2194(02)00117-5
45. Hohn TM, Peters C, Salmeron JM. Trichothecene-resistant transgenic plants. US patent 6646184 B2, 2002.
46. Alexander N. The TRI101 story: engineering wheat and barley to resist *Fusarium* head blight. *World Mycotoxin J.* 2008; 1: 31-7. DOI: 10.3920/WMJ2008.x004
47. Karlovsky P. Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011; 91: 491-504. DOI: 10.1007/s00253-011-3401-5
48. Duvick J, Maddox J, Gilliam J. Compositions and methods for fumonisin detoxification. US patent 6538177. 2003.
49. Hammond BG, Campbell KW, Pilcher CD et al. Lower fumonisin mycotoxin levels in the grain of Bt corn grown in the United States in 2000–2002. *J Agric Food Chem.* 2004; 52: 1390-7. DOI: 10.1021/jf030441c
50. Wu F. Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health and regulatory impacts. *Transgen. Res.* 2006; 15(3): 277-89. DOI: 10.1007/s11248-005-5237-1
51. Nedělník J., Lindušková H., Kmoch M. Influence of growing Bt maize on *Fusarium* infection and mycotoxins content – a Review. *Plant Protect Sci.* 2012; 48: S18-S24
52. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol.* 2005; 56: 845-7. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x
53. Чеботарь В. К. Биохимические критерии оценки агрономически значимых свойств бактерий, используемых при создании микробиологи-

- ческих препаратов. Сельскохозяйств. биол. 2011; 3: 119-22.
54. Wang J, Liu J, Chen H, Yao J. Characterization of *Fusarium graminearum* inhibitory lipopeptide from *Bacillus subtilis* IB. *Appl Microbiol Biotech.* 2007; 76: 889-94. DOI: 10.1007/s00253-007-1054-1
55. Dunlap CA, Schisler DA, Price NP, Vaughn SF. Cyclic lipopeptide profile of three *Bacillus subtilis* strains; antagonists of *Fusarium* head blight. *J Microbiol.* 2011; 49(4): 603-9. DOI: 10.1007/s12275-011-1044-y
56. Crane JM, Gibson DM, Vaughan RH, Bergstrom GC. Iturin levels on wheat spikes linked to biological control of *Fusarium* head blight by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Phytopathol.* 2013. V. 103(2): 146-55. DOI: 10.1094/PHYTO-07-12-0154-R
57. Dimkić I, Živković S, Berić T et al. Characterization and evaluation of two *Bacillus* strains, SS-12.6 and SS-13.1, as potential agents for the control of phytopathogenic bacteria and fungi. *Biol Control.* 2013; 65(3): 312-21. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2013.03.012
58. Zhao Y, Nimal Selvaraj J, Xing F et al. Antagonistic action of *Bacillus subtilis* strain SG6 on *Fusarium graminearum*. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92486. DOI: 10.1371/journal.pone.0092486
59. Swanson SP, Helaszek C, Buck WB et al. The role of intestinal microflora in the metabolism of trichothecene mycotoxins. *Food Chem Toxicol.* 1988; 26: 823-9. DOI: 10.1016/0278-6915(88)90021-X
60. Marten P, Smalla K, Berg G. Genotypic and phenotypic differentiation of an antifungal biocontrol strain belonging to *Bacillus subtilis*. *J Appl Microbiol.* 2000; 89: 463-71. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01136.x
61. Siddiqui S, Siddiqui ZA, Ahmad I. Evaluation of fluorescent pseudomonads and *Bacillus* isolates for the biocontrol of a wilt disease complex of pigeonpea. *W. J. Microb. Biot.* 2005; 21: 729-32. DOI: 10.1007/s11274-004-4799-z
62. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Кузин А.И. и др. Влияние бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* на рост и токсинообразование гриба *Fusarium sporotrichioides*. *Биотехнология.* 2014; 1: 32-7.
63. Stockwell CA, Bergstrom GC, da Luz WC. Biological control of *Fusarium* head blight with *Bacillus subtilis* TrigoCor 1448. In: "National *Fusarium* Head Blight Forum Proceedings". University of Kentucky, Lexington, KY. 2001: 91-5.
64. Khan NI, Schisler DA, Boehm MJ et al. Field testing of antagonists of *Fusarium* head blight incited by *Gibberella zeae*. *Biol. Control.* 2004; 29: 245-55. DOI: 10.1016/S1049-9644(03)00157-9
65. Schisler DA, Khan NI, Boehm MJ, Slinger PJ. Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat. *Plant Dis.* 200; 86: 1350-6. DOI: 10.1094/PDIS.2002.86.12.1350
66. Хайруллин Р.М., Уразбахтина Д.Р. Новый подход к экологически безопасному контролю уровня микотоксинов в продукции растениеводства. *Биомика.* 2012; 2(2): 68-75.
67. Chan Y-K, McCormick WA, Seifert KA. Characterization of an antifungal soil bacterium and its antagonistic activities against *Fusarium* species. *Can J Microbiol.* 2003; 49: 253-62. DOI: 10.1139/w03-033
68. Fernando WGD, Chen Y, Parks P. Effect of three *Bacillus* sp. from wheat on FHB production. In: "Proc Nat *Fusarium* head blight Forum – Chemical and Biological Control", Erlanger, Kentucky, 7-9 Dec 2002: 73-5.
69. Perondi NL, da Luz WC, Thomas R. Controle microbiológico da giberela do trigo. *Fitopatol. Brasileira.* 1996; 2: 243-9.
70. Stockwell CA, Luz WC, Bergstrom GC. Biocontrol of wheat scab with microbial antagonists. *Phytopathol.* 1997; 8: S94.
71. Luo Y, Bleakley B. Biological control of *Fusarium* head blight (FHB) of wheat by *Bacillus* strains. In: "Proceedings of the 1999 National *Fusarium* Head Blight Forum". USA. 1999: p. 60.
72. Fernando WGD. Is there potential for biological control of *Fusarium*? In: "Proceedings of the 2nd Canadian Workshop on *Fusarium* Head Blight". 2001: 104-8.
73. Palazzini JM, Ramirez ML, Torres AM, Chulze SN. Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. *Crop Prot.* 200; 26: 1702-10. DOI: 10.1016/j.cropro.2007.03.004
74. Nourozian J, Etebarian HR, Khodakaramian G. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. *Songklanakarin J Sci Technol.* 2006; 28(1): 29-38.

75. Новикова И.И. Полифункциональные биопрепараты для защиты растений от болезней. *Защ. карант. раст.* 2004; 2: 22-4.
76. He C, Fan Y, Liu G, Zhang H. Isolation and identification of a strain of *Aspergillus tubingensis* with deoxynivalenol biotransformation capability. *Int J Mol Sci.* 2009; 9: 2366-75. DOI: 10.3390/ijms9122366
77. Belkacem-Hanfi N, Fhoula I, Semmar N et al. Lactic acid bacteria against post-harvest moulds and ochratoxin A isolated from stored wheat. *Biol Control.* 2014; 76: 52-9. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.05.001
78. Jochum CC, Osborne LE, Yuen GY. *Fusarium* head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Biol Control.* 2006; 39(3): 336-44. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.05.004
79. Yuen GY, Jochum CJ, Osborne LE, Jin Y. Biocontrol of *Fusarium* head blight in wheat by *Lysobacter enzymogenes* C3. *Phytopathology.* 2003; 9: S93.
80. Li S, Jochum CC, Yu F. An antibiotic complex from *Lysobacter enzymogenes* strain C3: 80 antimicrobial activity and role in plant disease control. *Phytopathology.* 200; 98(6): 695-701. DOI: 10.1094/PHYTO-98-6-0695
81. Mukhopadhyay K., Garrison N. K., Hinton D. M. et al. Identification and characterization of bacterial endophytes of rice. *Mycopathol.* 1996; 134: 151-9. DOI: 10.1007/BF00436723
82. McInroy JA, Kloepper JW. Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant Soil.* 1995; 173: 337-42. DOI: 10.1007/BF00011472
83. Hinton D. M., Bacon C. W. *Enterobacter cloacae* is an endophytic symbiont of corn. *Mycopathology* 1995; 129: 117-25. DOI: 10.1007/BF01103471
84. Bleakley B. H., Draper M. A., Ruden K. R. Control of *Fusarium* head blight with biological antagonists. In: "Proceedings of National *Fusarium* Head Blight Forum". USA. 2000: 75-6.
85. da Luz WC, Stockwell ChA, Bergstrom GC. Biological control of *Fusarium graminearum*. In: "Fusarium head blight of wheat and barley". Ed. KJ Leonard, WR Bushnell. APD Press. 2003: 38-94.
86. Pan D, Mionetto A, Tiscornia S, Bettucci L. Endo-phytic bacteria from wheat grain as biocontrol agents of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol production in wheat. *Mycotox. Res.* 2015; 31(3): 137-43. DOI: 10.1007/s12550-015-0224-8
87. Pereira P, Nesci A, Castillo C, Etcheverry M. Impact of bacterial biological control agents on fumonisin B1 content and *Fusarium verticillioides* infection of field-grown maize. *Biol Control.* 2010; 53(3): 258-66. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2010.02.001
88. Duvick J, Rood TA. Beauvericin detoxification composition and methods. US patent 5798255, 1998.
89. Awad WA, Ghareeb K, Bohm J, Zentek J. Decontamination and detoxification strategies for the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in animal feed and the effectiveness of microbial biodegradation. *Food Addit. Contam. A.* 2010; 27: 510-520. doi: 10.1080/19440040903571747
90. He J, Zhou T, Young JC, Bolland GJ. Chemical and biological transformations of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. *Trends Food Sci Technol.* 2010; 21: 67-76. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.08.002
91. Ikunaga Y, Sato I, Grond S et al. *Nocardioides* sp. strain WSN05-2, isolated from a wheat field, degrades deoxynivalenol, producing the novel intermediate 3-epi-deoxynivalenol. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011; 89: 419-27. DOI: 10.1007/s00253-010-2857-z
92. Sato I, Ito M, Ishizaka M et al. Thirteen novel deoxynivalenol-degrading bacteria are classified within two genera with distinct degradation mechanisms. *FEMS Microbiol Lett.* 2012; 327: 110-7. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2011.02461.x
75. Shima JS, Takahashi Y, Iawi Y et al. Novel detoxification of the trichothecene mycotoxin deoxynivalenol by a soil bacterium isolated by enrichment culture. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63: 3825-30.
76. Voelkl A, Vogler B, Schollenberger M., Karlovsky P. Microbial detoxification of mycotoxin deoxynivalenol. *J Basic Microbiol* 2004; 44: 147-56. DOI: 10.1556/AVet.53.2005.2.4
77. Islam R, Zhou T, Young JC et al. Aerobic and anaerobic de-epoxydation of mycotoxin deoxynivalenol by bacteria originating from agricultural soil. *J Microbiol Biotechnol.* 2012; 28: 7-13. DOI: 10.1007/s11274-011-0785-4

78. Kiessling KH, Pettersson H, Sandholm K, Olsen M. Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Appl. Environ Microbiol.* 1984;47(5): 1070-3.
79. Beeton S, Bull AT. Biotransformation and detoxification of T-2 toxin by soil and freshwater bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 1989; 55(1): 190-7.
80. Swanson SP, Nicoletti J, Rood HD, Jr. Metabolism of three trichothecene mycotoxins, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol and deoxynivalenol, by bovine rumen microorganisms. *J Chromatogr Biomed.* 1987a; 414: 335-42. DOI: 10.1016/0378-4347(87)80058-0
81. Guan S, He J, Young JC et al. Transformation of trichothecene mycotoxins by microorganisms from fish digesta. *Aquacult.* 2009; 290: 290-5. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.037
82. Young JC, Zhou T, Yu H et al. Degradation of trichothecene mycotoxins by chicken intestinal microbes. *Food Chem. Toxicol.* 2007; 45: 136-43. DOI: 10.1016/j.fct.2006.07.028
83. Yu H, Zhou T, Gong J et al. Isolation of deoxynivalenol-transforming bacteria from the chicken intestines using the approach of PCR-DGGE guided microbial selection. *BMC Microbiol.* 2010; 10: 182. DOI: 10.1186/1471-2180-10-182
84. Côté L-M, Dahlem AM, Yoshizawa T et al. Excretion of deoxynivalenol and its metabolite in milk, urine, and feces of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 1986; 69: 2416-23. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80681-6
85. Eriksen GS, Pettersson H, Lundh T. Comparative cytotoxicity of deoxynivalenol, nivalenol, their acetylated derivatives and de-epoxy metabolites. *Food Chem. Toxicol.* 2004; 42: 619-24. DOI: 10.1016/j.fct.2003.11.006
86. He P, Young LG, Forsberg C. Microbial transformation of deoxynivalenol (vomitoxin). *Appl Environ Microbiol.* 1992; 58: P. 3857–3863.
87. Swanson SP, Rood HD, Jr, Berhrens JC, Sanders PE. Preparation and characterization of the deepoxy trichothecenes: deepoxy HT-2, deepoxy T-2 triol, deepoxy T-2 tetraol, deepoxy 15-monoacetoxyscirpenol, and deepoxyscirpentriol. *Appl. Environ. Microbiol.* 1987b; 53: 2821-6.
88. Binder J, Horvath EM, Schatzmayr G et al. Screening for deoxynivalenol-detoxifying anaerobic rumen microorganisms. *Cereal Res Commun.* 1997; 25: 343-46.
89. Binder EM, Heidler D, Schatzmayr G, Thimm N. Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millennium. In: “Proceedings of the 10th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins”. Ed. by WJ. Koe, RA Samson et al.. Guaruja, Brazil. 2000: 271-7.
90. Fuchs E, Binder EM, Heidler D, Krska R. Structural characterization of metabolites after the microbial degradation of type A trichothecenes by the bacterial strain BBSH 797. *Food Addit Contam.* 2002; 19: 379-86. DOI: 10.1080/02652030110091154
91. Schatzmayr G, Zehner F, Täubel et al. Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006; 50: 543-51. DOI: 10.1002/mnfr.200500181
75. Li X-Z, Zhu C, Lange CFM et al. Efficacy of detoxification of deoxynivalenol-contaminated corn by *Bacillus* sp. LS100 in reducing the adverse effects of themycotoxin on swine growth performance. *Food Addit Contam.* 2011; 28(7): 894-901. DOI: 10.1080/19440049.2011.576402
76. Heinel S, Hartinger D, Thamhesl M et al. Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes. *J Biotechnol.* 2010; 145: 120-9. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.11.004
77. Hartinger D, Schwartz H, Hametner C et al. Enzyme characteristics of aminotransferase FumI of *Sphingopyxis* sp. MTA144 for deamination of hydrolyzed fumonisin B1. *Appl Microbiol Biotech.* 2011; 91: 757-68. DOI: 10.1007/s00253-011-3248-9
78. Yu Y, Qiu L, Wu H et al. Oxidation of zearalenone by extracellular enzymes from *Acinetobacter* sp. SM04 into smaller estrogenic products. *W. J Microbiol Biotech.* 2011; 27(11): 2675-81. DOI: 10.1007/s11274-011-0741-3
79. Duvick J, Rood TA. Zearalenone detoxification compositions and methods. US pat. 5846812, 1998.
80. El-Nezami HS, Chrevatidis A, Ariola S, Salminen S., Mykkänen H. Removal of common *Fusarium*

- toxins in vitro by strains of *Lactobacillus* and *Propionibacterium*. *Food Addit Contam.* 2002; 19: 680-6. DOI: 10.1080/02652030210134236
81. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää P et al. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2001; 167: 3086-91. DOI: 10.1128/AEM.67.7.3086-3091.2001
 82. Zou Z-Y, He Z-F, Li H-J et al. In vitro removal of deoxynivalenol and T-2 toxin by lactic acid bacteria. *Food Sci Biotechnol.* 2007; 21: 1677-83. DOI: 10.1007/s10068-012-0223-x
 83. Niderkorn V, Boudra H, Morgavi DP. Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria in vitro. *J Appl Microbiol.* 2006; 101: 849-56. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02958.x
 84. Niderkorn V, Morgavi DP, Pujos E et al. Screening of fermentative bacteria for their ability to bind and biotransform deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins in an in vitro simulated corn silage model. *Food Addit. Contam.* 2007; 24(4): 406-15. doi:10.1080/02652030601101110
 85. El-Nezami HS, Polychronaki N, Salminen S, Mykkanen H. Binding rather metabolism may explain the interaction of two food-grade *Lactobacillus* strains with zearalenone and its derivative α -zearalenol. *Appl Environ Microbiol.* 2002a; 68(7): 3545-9. DOI: 10.1128/AEM.68.7.3545-3549.2002
 86. Čvek D, Markov K, Frece J et al. Adhesion of zearalenone to the surface of lactic acid bacteria cells. *Croatian J. Food Tech. Biotech. Nutrition.* 2012; 7: 49-52.
 87. Александрова А.В. Грибы рода *Trichoderma* Pers.: FR.: Таксономия, географическое распространение и экологические особенности. Дисс. ... канд. биол. н. М. 2000: 221 с.
 88. Коломбет Л.В. Биотехнологические проблемы создания препаратов для растениеводства на основе грибов рода *Trichoderma*. *Прикл. микробиол.* 2014; 2(1): 38-44.
 89. Reino JL, Guerriero RF, Herná'ndez-Galan R, Collado IG. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem Rev.* 2008; 7: 89-123. DOI: 10.1007/s11101-006-9032-2
 90. Pandya JR, Sabalpara AN, Chawda SK. *Trichoderma*: a particular weapon for biological control of phytopathogens. *J Agric Tech.* 2011; 7(5): 1187-91. <http://www.ijat-aatsea.com>
 91. Kubicek Ch, Harman G. *Gliocladium* and *Trichoderma*. 1. Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor and Francis, London. 1998: 278 p.
 92. Woo SL, Scala F, Ruocco M, Lorito M. The molecular biology of interactions between *Trichoderma* sp., phytopathogenic fungi and plants. *Phytopathol.* 200; 9: 181-5. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0181
 93. Bailey DJ, Lumsden RD. Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. In book: "Trichoderma and *Gliocladium*". Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. Ed. by GE Harman, CP Kubicek. London: Taylor and Francis. 1998. 185-204.
 94. Chen I, Sivan A. Antifungal compositions containing trichoderma active against *Fusarium*. US Patent 4748021 A, 1988.
 95. Fernandez MR, The effect of *Trichoderma harzianum* on fungal pathogens infesting wheat and black oat straw. *Soil Biol. Biochem.* 1992; 24: 1031-34. DOI: 10.1016/0038-0717(92)90032-S
 96. Inch S., Gilbert J. Effect of *Trichoderma harzianum* on perithecial production of *Gibberella zeae* on wheat straw. *Biocontrol Sci. Tech.* 2007; 17: 635-46. DOI: 10.1080/09583150701408865
 97. Bujold I, Paulitz TC, Carisse O, Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the production of perithecia and ascospores of *Gibberella zeae*. *Plant Dis.* 2001; 85: 977-84. DOI: 10.1094/PDIS. 2001. 85.9.977
 98. Cooney JM, Laurent D R, di Menna ME. Impact of competitive fungi on trichothecene production by *Fusarium graminearum*. *J Agr Food Chem.* 2001; 49: 522-6. DOI: 10.1021/jf0006372
 99. Matarese F, Sarrocco S, Gruber et al. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiol.* 2012; 158: 98-106. DOI: 10.1099/mic.0.056424-0
 100. Popiel D, Kwaśna H, Chełkowski J et al. Impact of selected antagonistic fungi on *Fusarium* species – toxigenic cereal pathogens. *Acta Mycol.* 2008; 4: 29-40. DOI: 10.5586/am.2008.004

101. Buśko M, Chełkowski J, Popiel D, Perkowski J. Solid substrate bioassay to evaluate impact of *Trichoderma* on trichothecene mycotoxin production by *Fusarium* species. *J Sci Food Agric*. 2008; 88: 536-41. DOI: 10.1002/jsfa.3119
102. Noef A, Senatore M, Défago G. A microsatellite based method for quantification of fungi in decomposing plant material elucidates the role of *Fusarium graminearum* DON production in the saprophytic competition with *Trichoderma atroviride* in maize tissue microcosms. *FEMS Microbiol Ecol*. 2006; 55: 211-20. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2005.00023.x
103. Коломбет Л. В., Старшов А. А., Шислер Д. Биологическая эффективность *Trichoderma asperellum* GJS 03-35 и дрожжей *Cryptococcus nadoensis* против возбудителя фузариоза колоса пшеницы. *Микол. фитопатол.* 2005; 39(5): 80-8.
104. Попова А.Д., Садыкова В.С. Изучение антагонистических свойств штаммов *Trichoderma asperellum* в отношении токсинобразующих грибов рода *Fusarium*. *Молодой ученый*. 2014; 8: 328-30.
105. Kolombet LV, Jigletsova SK, Derbyshev VV et al. Studies of mycofungicid, a preparation based on *Trichoderma viride*, for plant infection control *Appl Biochem Microbiol*. 2001; 37(1): 98-102. DOI: 10.1023/A:1002813013156
106. Dawson WAJ, Ještoi M, Rizzo A et al. Field evaluation of fungal competitors of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, casual agents of ear blight of winter wheat, for the control of mycotoxin production in grain. *Biocontrol Sci Technol*. 2004; 14: 783-99. DOI: 10.1080/09583150410001720680
107. Palazzini JM, Groenenboom-de Haas BH et al. Biocontrol and population dynamics of *Fusarium* spp. on wheat stubble in Argentina. *Plant Pathol*. 2013; 62: 859-66. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2012.02686.x
108. Xue AG. *Gliocladium roseum* strains useful for the control of fungal pathogens in plants. US patent 6495133 B1. 2002.
109. Xue AG. Biological control of pathogens causing root rot complex in field pea using *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Phytopathology*. 2003; 93: 329-35. DOI: 10.1094/PHYTO.2003.93.3.329
110. Xue A, Voldeng H, Savard M et al. Biological control of *Fusarium* head blight of wheat with *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Can J Plant Pathol*. 2009; 31: 169-79. DOI: 10.1080/070606609507590
111. Xue A, Chen Y, Voldeng H et al. Concentration and cultivar effects on efficacy of CLO-1 biofungicide in controlling *Fusarium* head blight of wheat. *Biol Control*. 2014; 73: 2-7. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.02.010
112. Takahashi-Ando N, Kimura M, Takeya H et al. A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning. *Biochem J*. 2002; 365: 1-6. DOI: 10.1042/BJ20020450
113. Takahashi-Ando N, Ohsato S, Shibata T, Metabolism of zearalenone by genetically modified organisms expressing the detoxification gene from *Clonostachys rosea*. *Appl Environ Microbiol*. 2004; 70: 3239-45. DOI: 10.1128/AEM.70.6.3239-3245.2004
114. Igawa T, Takahashi-Ando N, Ochiai N. Reduced contamination by the *Fusarium* mycotoxin zearalenone in maize kernels through genetic modification with a detoxification gene. *Appl Environ Microbiol*. 2007; 73: 1622-9. DOI: 10.1128/AEM.01077-06
115. Schisler DA, Khan NI, Boehm MJ et al. Selection and evaluation of the potential of choline-metabolizing microbial strains to reduce *Fusarium* head blight. *Biol Control*. 200; 39(3): 497-506. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.08.007
116. Schisler DA, Core AB, Boehm MJ et al. Population dynamics of the *Fusarium* head blight biocontrol agent *Cryptococcus flavescens* OH 182.9 on wheat anthers and heads. *Biol Control*. 2014; 70: 17-27. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2013.11.011
117. Wiśniewska H, Basiński T, Chełkowski J, Perkowski J. *Fusarium sporotrichioides* Sherb. toxins evaluated in cereal grain with *Trichoderma harzianum*. *J Plant Protect. Res*. 201; 51(2): 134-9. DOI: 10.2478/v10045-011-0023-y
118. McCormick SP. Microbial detoxification of mycotoxins. *J Chem Ecol*. 2013; 39: 907-18. DOI: 10.1007/s10886-013-0321-0
119. Kimura M, Shingu Y, Yoneyama K, Yamaguchi I. Features of Tri101, the trichothecene 3-O-acetyltransferase gene, related to the self-defense mechanism in *Fusarium graminearum*. *Mycology Today*. 2016, vol. 3. www.mycologytoday.org

- Biosci Biotechnol Biochem. 1998; 62(5): 1033-6. DOI: 10.1271/bbb.62.1033
120. McCormick SP, Price NPJ, Kurtzman CP. Glucosylation and other biotransformations of T-2 toxin by yeasts of the *Trichomonascus* clade. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78: 8694-702. DOI: 10.1128/AEM.02391-12
121. Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger H. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Syst Appl Microbiol.* 2004; 27: 661-71. DOI: 10.1078/0723202042369947
122. Meca G, Ritieni A, Zhou T et al, Degradation of the minor *Fusarium* mycotoxin beauvericin by intracellular enzymes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Control.* 2013; 33: 352-8. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.03.035
123. Семенов ЭИ, Матросова ЛЕ, Тарасова Е.Ю., Канарская З.А. Сравнительная оценка адсорбирующей активности дрожжей по отношению к микотоксинам. *Вестн. КТУ.* 2013; 16(10): 195-7.
124. Крюков В.С. Эволюция адсорбентов микотоксинов. *РацВетИнформ.* 2014; 5: 32-6.
125. Freimund S, Sauter M, Rys P. Efficient adsorption of the mycotoxins zearalenone and T-2 toxin on a modified yeast glucan. *J Environ. Sci. Health.* 2003; 38: 243-55. DOI: 10.1081/PFC-120019892
126. Yiannikouris A, Francoi J, Poughon L et al. Alkali extraction of beta-d-glucans from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and study of their adsorptive properties toward zearalenone. *J Agric. Food Chem.* 2004; 52: 3666-73. DOI: 10.1021/jf035127x
127. Wicklow DT, Roth S, Deyrup ST, Gloer JB. A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycol. Res.* 2005; 109(5): 610-8. DOI: 10.1017/S0953756-205002820
128. Jard G, Liboz T, Mathieu F et al. Transformation of zearalenone to zearalenone-sulfate by *Aspergillus* spp. *W. Mycotox. J.* 2009; 3(2): 183-191. DOI: 10.3920/WMJ2009.1184
129. Воčarov-Stančić AS, Stanković SŽ, Lević JT et al. In vitro degradation of diacetoxyscirpenol and T-2 toxin by use of *Mucor racemosus* f. *racemosus* isolate. In: *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke.* 2011; 121: 51-9. DOI: 10.2298/zmspn1121051b
130. Varga J, Toth B. Novel strategies to control mycotoxins in feeds: a review. *Acta Vet Hung.* 2005; 53: 189-203.
131. Frampton RA, Pitman A, Fineran PC. Advances in bacteriophage-mediated control of plant pathogens. *Int. J. Microbiol.* 2012. Article ID 326452. DOI: 10.1155/2012/326452
132. Compel P, Papp I, Bibo M, Fekete C, Hornok L. Genetic interrelationships and genome organization of double-stranded RNA elements of *Fusarium poae*. *Virus Genes.* 1999; 1: 49-56. DOI: 10.1023/A:1008069318838
133. Nogawa M, Kageyama T, Nakatani A et al. Cloning and characterization of mycovirus double-stranded RNA from the plant pathogenic fungus, *Fusarium solani* f. sp. *Robiniae*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1996; 60: 784-8. DOI: 10.1271/bbb.60.784
134. Chu YM, Jeon JJ, Yea S. J. et al. Double-stranded RNA mycovirus from *Fusarium graminearum*. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68: 2529-34. DOI: 10.1128/AEM.68.5.2529-2534.2002
135. Kwon SJ, Cho SY, Lee KM et al. Proteomic analysis of fungal host factors differentially expressed by *Fusarium graminearum* infected with *Fusarium graminearum* virus-DK21. *Virus Res.* 2009; 144(1): 96-106. DOI: 10.1016/j.virusres.2009.04.004.
136. Cho WK, Lee K, Yu J et al. Insight into mycoviruses infecting *Fusarium* species. *Adv. Virus Res.* 2013; 86: 273-88. DOI: 10.1016/B978-0-12-394315-6.00010-6
137. Kwon SJ, Lim WS, Park SH et al. Molecular characterization of a dsRNA mycovirus, *Fusarium graminearum* virus-DK21, which is phylogenetically related to hypoviruses but has a genome organization and gene expression strategy resembling those of plant potex-like viruses. *Mol. Cells.* 2007; 23: 304-15. DOI: 10.1007/s10059-009-0112-1
138. Vujanovic V, Goh YK. *Sphaerodes mycoparasitica* sp. nov., a new biotrophic mycoparasite on *Fusarium avenaceum*, *F. graminearum* and *F. oxysporum*. *Mycol. Res.* 2009; 113(10): 1172-80. DOI: 10.1016/j.mycres.2009.07.018
139. Dowd PF. Insect fungal symbionts: A promising source of detoxifying enzymes. *J. Indust.*

- Microbiol Biotech. 1992; 9:149-61. DOI: 10.1007/BF01569619
140. Gupta MC. Biological control of *Fusarium moniliforme* Sheldon and *Pythium butleri* Subramaniam by *Aphelenchus avenae* Baštian in chitin and cellulose-amended soils. *Soil Biol Biochem.* 1986; 18: 327-9. DOI: 10.1016/0038-0717(86)90069-6
141. Morcia C, Malnati M, Terzi V. In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. *Food Add Contam.* 2012; 29(3): 415-22. DOI: 10.1080/19440049.2011.643458
142. Sumalan R-M, Alexa E., Poiana M.-A. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chem Centr J.* 2013; 7: p. 32. DOI: 10.1186/1752-153X-7-32
143. Dambolena JS, López AG, Cánepa MC et al. Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis. *Toxicon.* 2008; 51(1): 37-44. DOI: 10.1016/j.toxicon.2007.07.005
144. Soliman KM, Badaea RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40: 1669-75. DOI: 10.1016/S0278-6915(02)00120-5
145. Lopez AG, Theumer AG, Zygadlo JA, Rubinstein H.R.. Aromatic plants essential oils activity on *Fusarium verticillioides* Fumonisin B1 production in corn grain. *Mycopathol.* 2004; 158: 343-49. DOI: 10.1007/s11046-005-3969-3
146. Исаева ЕВ., Ложкина ГА, Литовка ЮА., Рязанова ТВ. Биологическая активность экстрактов и эфирных масел почек тополя бальзамического Красноярского края. *Хим. раст. сырья.* 2008; 1: 67-72.
147. Рукавицина И.В., Нечай Н.Л., Карамшук З.П. Фунгицидное действие водных вытяжек высших растений на морфологию грибов рода *Fusarium*. В сб.: «Микол. сегодня». М.: Нац. акад, микол. 2008; 2: 299-300.
148. McMullen M, Bergstrom G, de Wolf E et al. Unified effort to fight an enemy of wheat and barley: *Fusarium* Head Blight. *Plant Dis.* 2012; 96: 1212-28. DOI: 10.1094/PDIS-03-12-0291-FE
149. Weller DM, Thomashow LS. Current changes in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. In: “Molecular ecology of rhizosphere microorganisms. Biotechnology and the Release of GMOS”. Ed by F O’Gara et al. Weinheim, Germany: VCH. 1994: 1-18.
150. Crane JM, Bergstrom GC. Spatial distribution and antifungal interactions of a *Bacillus* biological control agent on wheat surfaces. *Biol Control.* 2014; 78: 23-32. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.07.002
151. Pirgozliev SR, Edwards SG, Hare M C, Jenkinson P. Strategies for the control of *Fusarium* head blight in cereals. *Eur J Plant Pathol.* 2003; 109(7): 731-42. DOI: 10.1023/A:1026034509247
152. Коломбет Л.В. Грибы рода *Trichoderma* – продуценты биопрепаратов для растениеводства. В сб.: Микол сегодня. М.: Нац. акад. микол. 2007; 1: 323-71. <http://www.mycology.ru/nam/pdf/mycolo-gytoday2007vol1.pdf>
153. Singh DP, Backhouse D, Kristiansen P. Interactions of temperature and water potential in displacement of *Fusarium pseudograminearum* from cereal residues by fungal antagonists. *Biol Control.* 2009; 48(2): 18-195. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.10.015
154. Formenti S, Magan N Pietri A, Battilani P. In vitro impact on growth, fumonisins and aflatoxins production by *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus flavus* using antifungal compounds and a biological control agent. *Phytopathol Mediter.* 2012; 51(1): 247-56. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9663
155. Lakhesar DPS, Backhouse D, Kristiansen P. Nutritional constraints on displacement of *Fusarium pseudograminearum* from cereal straw by antagonists. *Biol Control.* 2010; 55(3): 241-7. DOI:10.1016/j.biocontrol.2010.09.002
156. Dzhavakhiya V, Shcherbakova L, Semina Y et al. Chemosensitization of plant pathogenic fungi to agricultural fungicides. *Front Microbiol.* 2012; 3: 87. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00087
157. Yuen GY, Schoneweis SD. Strategies for managing *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Int J Food Microbiol.* 2007; 119(1): 126-30. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.033
158. Musyimi SL, Muthomi JW, Narla RD, Wagacha JM. Efficacy of biological control and cultivar resistance on *Fusarium* head blight and T-2

- toxin contamination in wheat. *Am J Plant Sci.* 2012; 3: 599-607. DOI: 10.4236/ajps.2012.35073
159. Matthias PL, Feichtinger G, Défago G, Duffy B. Mycotoxigenic *Fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* P1. *Appl Envir Microb.* 2003; 69(6): 3077-84. DOI: 10.1128/AEM.69.6.3077-3084.2003
160. Sivasithamparam K, Ghisalberti EL. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: "Trichoderma and Gliocladium". Vol. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Ed. by GE. Harman. L.: Taylor and Francis. 1998: 139-91.
161. Gallo A, Mule G, Favilla M, Altomare C. Isolation and characterization of a trichodiene synthase homologous gene in *Trichoderma harzianum*. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2004; 65: 11-20. DOI: 10.1016/j.pmpp.2004.11.005
162. СанПиН 2.3.2.1078-01 Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М. 2002.
163. МДУ №434-17/89 Допустимые уровни содержания микотоксинов в сырье для сельскохозяйственных животных и птицы. 01.02.1989 г.
164. ГОСТ 31646-2012 Межгосударственный стандарт. Зерновые культуры. Метод определения содержания фузариозных зерен. М.: Стандартинформ. 2013.
165. Каталог пестицидов и агрохимикатов, 2015. <http://rosselhocenter.com/2014-02-28-11-39-42/2014-06-20-04-43-08>
166. Сираева З.Ю. Биопрепарат для стимуляции роста и защиты растений от болезней на основе *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-11008. Автореф. дисс. ... кан. биол. н. 2012: 24 с.
167. Wisniewski M, Wilson C, Droby S et al. Post-harvest biocontrol: new concepts and applications. In book: Biological control: a global perspective. Ed. by C. Vincent et al. CAB Intern. 2007: 262-73.
-