

Е.В. Кухар^{1*}, В.С.Киян², А.М. Смагулова²

¹Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, Казахстан, г. Нур-Султан

²Научно-исследовательская платформа сельскохозяйственной биотехнологии

АО «Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина», Казахстан, г. Нур-Султан,

*e-mail: kucharev@mail.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕДКОГО ВОЗБУДИТЕЛЯ ОНИХОМИКОЗА *PHOMA MACROSTOMA* (син. *Didymella macrostoma*)

В статье представлены результаты изучения биологических свойств штамма *Phoma macrostoma*, впервые описанного в Казахстане как возбудитель онихомикоза. Авторами получена чистая культура целомицета *Phoma macrostoma*, выделенная из пораженной ногтевой пластинки пациента наркологического диспансера, и изучены её биологические свойства: культуральные, морфологические, биохимические. Проведено поверхностное культивирование на дифференциальных средах, микроскопия в агаровых блоках и скотч-препаратах, молекулярно-генетическая идентификация. Описаны особенности формирования колонии гриба, выявлены характерные морфологические структуры целомицета, умеренная ферментация углеводов и отсутствие уреазной активности. На декстрозном агаре Сабуро к 10-18 суткам формировались плоские колонии нежно-розового цвета, с розовато-оранжевым оттенком в центре, желтоватые по краю, с приподнятым центром и рельефными радиальными полосами, реверзум – желто-коричневый. Появление единичных ростовых трубок отмечалось в течение первых 12 часов, массовое деление одиночных клеток и рост мицелиальных нитей – через 18 часов после посева спор. К концу вторых суток наблюдается мощный рост и активное ветвление мицелия, появление зачатков пикнид в виде уплотнений по ходу зрелых мицелиальных нитей, к концу третьих суток – формирование пикнид и хламидоспор коричневого цвета различных оттенков. Созревшие прозрачные, одноклеточные, эллипсоидные пикноспоры выходят из пикнид и располагаются в виде слизистой капли. Штамм отличается умеренной сахаролитической активностью в отношении глюкозы, сахарозы, маннозы, маннита, лактозы, практически полным отсутствием уреазной активности. Молекулярно-генетическая идентификация методом Сэнгера позволила идентифицировать штамм *Phoma macrostoma* со 100% достоверностью и депонировать нуклеотидную последовательность в GenBank как изолят №MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Ключевые слова: биология возбудителя, генетическая идентификация, онихомикозы, пикниды, целомицеты.

E.V. Kukhar^{1*}, V.S. Kiyan², A.M. Smagulova²

¹S.Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan

²Research Platform of Agricultural Biotechnology S.Seifullin

Kazakh Agrotechnical University, Kazakhstan, Nur-Sultan,

*e-mail: kucharev@mail.ru

Characteristic of the rare pathogen of onychomycosis *Phoma macrostoma* (sin. *Didymella macrostoma*)

The article presents the results of studying the biological properties of the *Phoma macrostoma* strain, first described in Kazakhstan as the causative agent of onychomycosis. The authors obtained a pure culture of *Phoma macrostoma* coelomic, isolated from the affected nail plate of a patient in a narcological dispensary, and studied its biological properties: cultural, morphological, biochemical. Surface cultivation on differential media, microscopy in agar blocks and adhesive tape preparations, molecular genetic identification was carried out. The features of the formation of fungus colony are described, the characteristic morphological structures of the coelomycete, moderate fermentation of carbohydrates and the absence of urease activity are revealed. On the dextrose agar of Sabouraud nutrient medium, by 10-18 days, flat colonies of pale pink colour, with a pinkish-orange tint in the centre, yellowish along the edge, with a raised centre and relief radial stripes, were formed, the reverser was yellow-brown. The

appearance of single growth tubes was noted within the first 12 hours, the massive division of single cells and the growth of filamentous filaments – 18 hours after sowing the spores. By the end of the second day, there is a powerful growth and active branching of the mycelium, the appearance of rudiments of pycnidia in the form of seals along the course of mature mycelial filaments, by the end of the third day, the formation of pycnidia and chlamydospores of the brown colour of various shades. Ripe transparent, unicellular, elliptical pycnosporangia emerge from pycnidia and located in the form of a mucous drop. The strain is characterized by moderate saccharolytic activity in relation to glucose, sucrose, mannose, mannitol, lactose, the almost complete absence of urease activity. Molecular genetic identification by the Sanger method made it possible to identify the *Phoma macrostoma* strain with 100% certainty and to deposit the nucleotide sequence in GenBank as isolate No. MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Key words: biology of the pathogen, genetic identification, onychomycosis, pycnidia, coelomycetes.

Е.В. Кухар^{1*}, В.С. Киян², А.М. Смагулова²

1С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Қазақстан, Нұр-сұлтан қ.

2С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті

Ауылшаруашылық биотехнология ғылыми зерттеу платформасы, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.,

*e-mail: kucharev@mail.ru

***Phoma macrostoma* сирек кездесетін онихомикоз қоздырғышының сипаттамасы (син. *Didymella macrostoma*)**

Мақалада Қазақстанда алғаш рет онихомикоз қоздырғышы ретінде сипатталған *Phoma macrostoma* штаммының биологиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Авторлар наркологиялық диспансер пациентінің зақымдалған тырнақ пластинасынан оқшауланған *Phoma macrostoma* целомицетінің таза мәдениетін алды және оның биологиялық қасиеттерін зерттеді: культуралды, морфологиялық, биохимиялық. Дифференциалды ортада беткейлі өсіру, агар блоктары мен скотч-препараттарда микроскопия, молекулалық-генетикалық сәйкестендіру жүргізілді. Саңырауқұлақ колониясының қалыптасу ерекшеліктері сипатталған, целомицетаға тән морфологиялық құрылымдары, көмірсулардың қалыпты ашытуы және уреаз белсенділігінің болмауы анықталған. Сабуроның декстрозды агарында 10–18 күнге дейін бозғылт қызғылт түсті жалпақ колониялар пайда болды, ортасында қызғылт реңктері бар, жиегі сарғыш, көтерілген орталығы және бедерлі радиалды жолақтары бар, реверзум – сары- қоңыр. Жеке өсу түтіктерінің пайда болуы алғашқы 12 сағат ішінде, жалғыз жасушалардың жаппай бөлінуі және мицелиалды жіптердің өсуі – спораларды себуден 18 сағат өткен соң байқалды. Екінші күннің соңында мицелийдің күшті өсуі мен белсенді тармақталуы, жетілген мицелиалды жіптердің бойымен тығыздағыштар түрінде пикнидтердің пайда болуы, үшінші күннің соңында әртүрлі реңктердегі пикнидтер мен хламидоспоралардың пайда болуы байқалады. Піскен мөлдір, бір клеткалы, эллипсоидты пикноспоралар пикнидтерден шығып, шырышты тамшы түрінде орналасады. Штамм глюкозаға, сахарозаға, маннозаға, маннитке, лактозаға қатысты орташа сахаролитикалық белсенділікпен, уреаздық белсенділіктің толық болмауымен сипатталады. Сэнгер әдісімен молекулалық-генетикалық сәйкестендіру *Phoma macrostoma* штаммын 100% сенімділікпен анықтауға және нуклеотидтер тізбегін GenBank-қа №MN701978.1 *Didymella macrostoma* 104-Kz изолят ретінде сақтауға мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: патогеннің биологиясы, генетикалық сәйкестендіру, онихомикоздар, пикнидтер, целомицеттер.

Введение

Онихомикозы представляют собой наиболее часто встречающиеся заболевания ногтей. Большинство случаев вызваны дерматомицетами, в частности, *Trichophyton rubrum*, реже *T. mentagrophytes* и *Epidermophyton floccosum*. Нередки выделения дрожжей, особенно *Candida albicans*. Могут вызывать поражения ногтей мицелиальные плесневые грибы: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Acremonium spp.*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Scytalidium spp.* Часто встречаются смешанные инфекции, вызванные одновремен-

но дерматофитами, плесенью и / или дрожжами [1, 2, 3, 4, 5].

Плесневые грибы могут также вторично инфицировать уже пораженные ногти, хотя, вероятно, способны к первичному проникновению в ткани ногтя. Ряд авторов считают, что плесневые грибы обладают более слабой кератинозой и протеиназой активностью по сравнению с дерматомицетами, что определяет их второстепенное значение в этиологии онихомикозов [6].

Однако, в ряде публикаций, связанных с упоминанием в качестве этиологического фактора при системных и поверхностных микозах цело-

мицетных грибов, появились сообщения о патологиях, вызванных грибами рода *Phoma*, особенно у пациентов с иммунодепрессией.

Фома – полифилетический род грибковых организмов, принадлежащих к типу *Ascomycota*. *Phoma spp.* был открыт в 19 веке итальянским микологом Пиером Андреа Саккардо (1880), а спустя почти 100 лет Герхард Боерема и Геррит Боллен (1975) обновили определение и классификацию рода [7].

Основными параметрами идентификации, определяемой по морфологическим признакам, указываются образование конидий (бесполох спор), пикнидий (бесполох плодоносящих тел) и хламидоспор (увеличенных, толстостенных вегетативных клеток в гифах или на верхушках гифов). Род *Phoma* характеризуется шаровидными, эллипсоидальными, погруженными в субстрат, реже выступающими пикнидами и одноклеточными, бесцветными конидиями [8].

Phoma spp. представляет собой разнообразную группу организмов, которые вездесущи; обычно встречается в почве, органических веществах, растениях и водных источниках; являются фитопатогенами, для которых характерны паразитические взаимоотношения с растениями [9, 10, 11]. *Phoma spp.* вызывает фомозы у различных растений: лимон, граната, соя, свекла и других растений [12, 13]. Кроме непосредственного повреждения растений, *Phoma spp.* синтезирует различные цитотоксичные метаболиты, например – теназуоновую кислоту. Этот микотоксин, продуцируемый *Ph. sorghina*, при кормлении в течение 10 месяцев вызывает у мышей острые токсические эффекты в виде предраковых изменений слизистой оболочки пищевода [14].

Phoma spp. может меняться от условно-патогенных до патогенных организмов при контакте с соответствующим хозяином [15]. Сообщалось, что этот вид является оппортунистическим инвазивным патогеном у животных и человека. Первый случай, вызванный *Phoma spp.*, зарегистрирован и подтвержден микологическими и гистологическими методами у человека в 1973 году. Инфицирование человека целыми грибами становится все более частым и варьируется от поверхностного до системного распространения. Число инфекций, вызванных *Phoma spp.*, возрастает с развитием медицины, в первую очередь из-за увеличения числа пациентов, подвергающихся риску из-за иммунодефицитных состояний [16].

Частота встречаемости заболеваний, вызванных *Phoma spp.*, непрерывно возрастает. Доказа-

тельством этому являются данные культурально-морфологических и молекулярно-генетических исследований, предоставленные различными авторами [17, 18, 19]. Результаты определения распределения целыми грибами в клинических образцах с помощью фенотипического и молекулярного исследования позволили идентифицировать представителей *Phoma herbarum*, которые встречались в числе пяти самых распространенных видов (*Neoscytalidium dimidiatum*, *Paraconiothyrium spp.*, *Phoma herbarum*, *Didymella heteroderae* и *Epicoccum sorghinum* [20].

Tullio V. с соавторами (2010) описан случай дерматомикозов стопы у иммунокомпетентных субъектов, вызванный оппортунистическими мицелиальными грибами, обычно повсеместно распространенных в окружающей среде: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* и *Microascus cinereus* [21]. Oh C.K, с соавторами (1999) описали подкожный феофифомикоз, вызванный видами *Phoma* [22].

Нами впервые в Республике Казахстан установлен случай онихомикоза, вызванный оппортунистическим инвазивным патогеном *Phoma spp.*, который выделен из патологического материала. Цель исследования – изучение биологических свойств редкого возбудителя онихомикоза *Phoma macrostoma* штамма Н11.

Материалы и методика исследований

Статья подготовлена по результатам исследований, проводимых в рамках гранта МОН РК по теме №0112РК01358 «Фенотипическая и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей дерматофитий и создание тест-систем для диагностики микроспории, руброфитии и гипсовой трихофитии» и инициативной НИР №0118РКИ0321 «Биология микроскопических грибов – возбудителей микозов кожи сельскохозяйственных животных».

Объектом исследования является редкий возбудитель онихомикоза – микроскопический мицелиальный грибок семейства *Didymellaceae* рода *Phoma* вида *macrostoma* штамма Н11, выделенный из дистального края пораженной ногтевой пластинки пациента наркологического диспансера.

При первичном выделении возбудителя и получении чистой культуры проводили поверхностное культивирование при температуре 28°C до завершения формирования характерных колоний. Для изучения культурально-морфологических свойств культуры гриба использовали

агаровые среды: Сабуро, Чапека, медовую, кукурузную и картофельную. Сахаролитическую активность выявляли на средах Гисса с различными углеводами, уреазную – на среде Кристенсена в присутствии 40%-ой мочевины.

Микроскопию культуры гриба проводили в нативных мазках, скотч-препаратах и агаровых блоках через 24-48-72 часа роста в световом микроскопе при увеличении $\times 40$. Морфологические структуры характеризовали под иммерсионной системой при увеличении $\times 400$.

Фенотипическую идентификацию проводили с использованием определителя Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. (2001) [23].

Определение нуклеотидной последовательности целевых генов культуры гриба проводили методом ПЦР по паре праймеров ITS4-ITS5. Пробы ДНК очищали и проводили секвенирование с применением BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) согласно инструкции производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе 3730x1 DNA Analyzer (Applied Biosystems). После расшифровки ДНК результаты вносили в базу данных на сайте www.ncbi.com. Полученные последовательности идентифицировали в GeneBank по алгоритму BLAST относительно инвентарных номеров GeneBank по первым трем нуклеотидным последовательностям, имеющих максимальное совпадение [24].

Результаты исследований и их обсуждение

В лаборатории биотехнологии грибов была получена чистая культура целомицета и изуче-

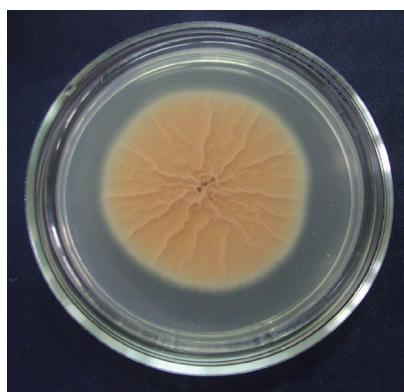
ны его биологические свойства: культуральные, морфологические, биохимические. Молекулярно-генетическая характеристика штамма и его идентификация по нуклеотидной последовательности целевых генов дерматомицетов проведена в лаборатории коллективного пользования РГП «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК. Были выявлены характерные морфологические структуры гриба, позволившие идентифицировать его как типичного представителя рода *Phoma*. Штамм отличался наличием характерных для представителей данного рода культурально-морфологических признаков, умеренно ферментировал сахара.

Проведенная генетическая идентификация штамма методом Сэнгера позволила идентифицировать штамм как *Ph. macrostoma* со 100% достоверностью. Нуклеотидная последовательность возбудителя онихомикоза *Ph. macrostoma* депонирована в GenBank: под номером MN701978.1, как изолят *Didymella macrostoma* 104-Kz.

При первичном выделении штамма появление колоний на поверхности агара в виде легкого помутнения в точке посева отмечали на вторые сутки. Колонии быстрорастущие, рост белой колонии отмечали с третьих суток, формирование колоний завершалось к 10-18 суткам. По мере созревания плоские колонии окрашивались в нежно-розовый цвет, с возрастом приобретала розовато-оранжевый оттенок в центре с желтоватым краем колонии. Центр зрелой колонии приподнимался, образуя пустоты, реверзум окрашивался в желто-коричневый цвет. Формировались рельефные радиальные полосы (рисунок 1).



лицевая сторона



обратная сторона

Рисунок 1 – Зрелая колонии *Phoma macrostoma* H11

Проведено наблюдение за прорастанием конидий, началом формирования ростовой трубки и ростом мицелия, образованием и созреванием и разрывом пикнид с выходом во внешнюю среду пикнидоспор штамма *Phoma macrostoma* H11 в динамике. Микроскопия агаровых блоков каждые шесть часов культивирования позволила увидеть процесс прорастания конидий, начало формирования ростовой трубки и начальные фазы роста *Phoma spp.* В первые шесть часов роста пикноспоры, готовые к размножению, увели-

чиваются в размерах, набухают, клеточная стенка конидий утолщается (2а). Хорошо заметны стадии деления клетки. Отмечается появление единичных ростовых трубок в течение первых 12 часов после посева спор на агар Сабуро (2б). На рисунке отчетливо видно наличие коротких и более длинных ростовых трубок, массовое деление одиночных клеток и рост мицелиальных нитей, которое наблюдается через 18 часов после посева спорового материала на питательные среды (2в) (рисунок 2).

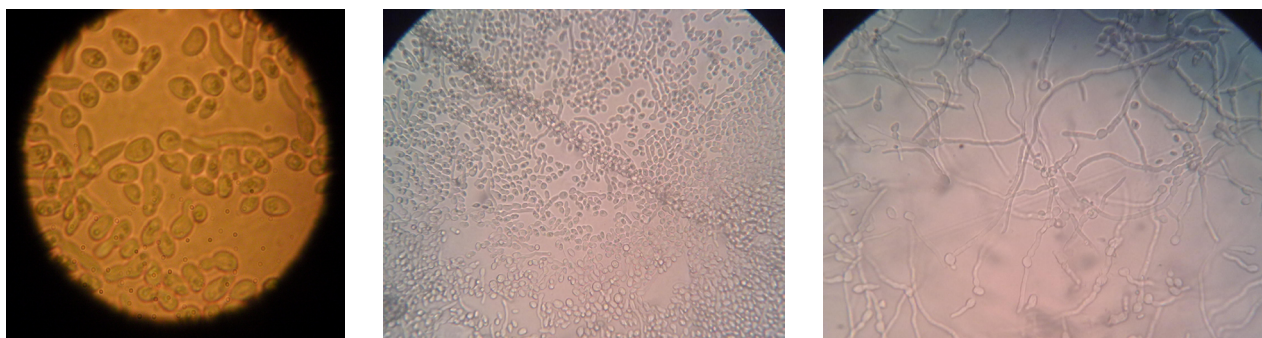
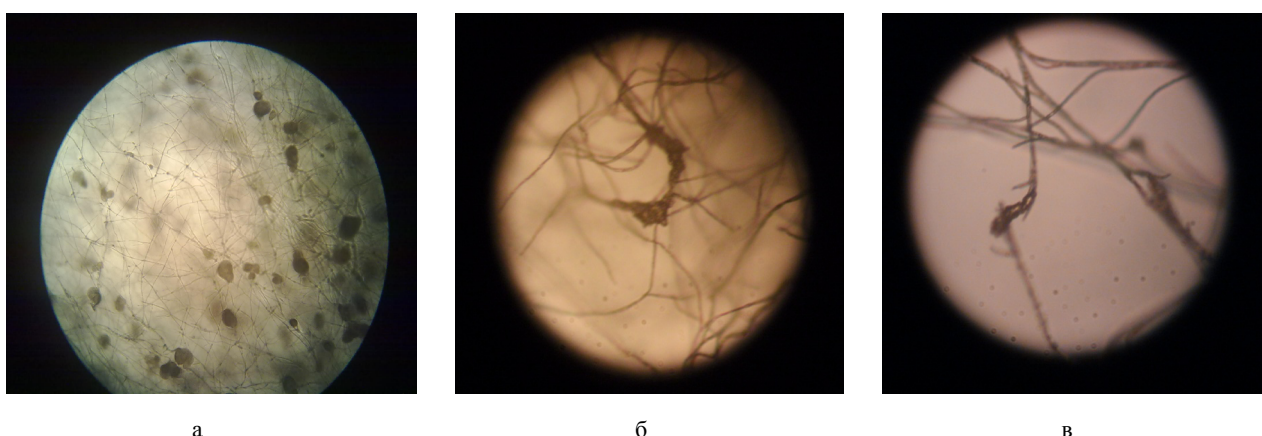


Рисунок 2 – Процесс прорастания конидий *Phoma macrostoma* H11, агаровые блоки, агар Сабуро, ×400

На вторые сутки роста наблюдается массовый рост гифов из проросших пикноспор, первые этапы ветвления гиалиновых септированных гифов многоклеточного мицелия *Phoma spp.* Не начавшиеся делиться в течение первых суток конидии активно формируют ростовые трубки на вторые сутки. К концу вторых суток наблюдается мощный рост и активное ветвление мицелия, появление зачатков пикнид в виде уплотнений

по ходу зрелых мицелиальных нитей. На третьи сутки культивирования *Phoma macrostoma* H11 наблюдали формирование пикнид и хламидоспор. При этом отмечали наличие погруженных в субстрат крупных шаровидных и грушевидных пикнид коричневого цвета (3а), а также одноклеточных или многоклеточных альтернариоидных хламидоспор (3б), расположенных в виде цепочек темно-коричневого цвета (рисунок 3).



а

б

в

Рисунок 3 – Морфологические структуры Ph. macrostoma H11:

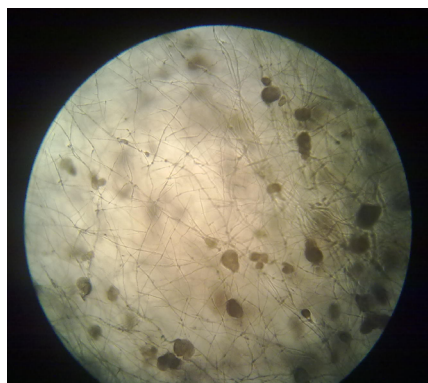
а – грушевидные пикниды, б – многоклеточные и в) одноклеточные альтернариоидные хламидоспоры, ×400

Располагаются пикниды целомицетов *Phoma spp.* на коротких или едва заметных особых выростах многоклеточного мицелия, не отличающегося по цвету, толщине или плотности от остальных

гифов. Оболочка пикнид хорошо выражена, тонкая, плотная, кожистая с хорошо заметными выходными отверстиями. Стенки пикнид заметно темнее остального мицелия (рисунок 4).



а



б

Рисунок 4 – Короткие (а) и длинные (б) выросты многоклеточного мицелия, с пикнидами *Phoma macrostoma* Н11, агаровые блоки, агар Сабуро, 28 °С, ×400

По мере созревания из пикнид выходят хорошо заметные прозрачные, одноклеточные, имеющие эллипсоидную форму пикноспоры или

конидии. Конидии в пикнидах обычно погружены в слизь, выходят наружу при её набухании и располагаются каплей на пикниде (рисунок 5).



а



б

Рисунок 5 – Пикниды *Phoma macrostoma* Н11 в процессе высвобождения мелких бесцветных конидий (показано стрелкой), агар Сабуро, 28 °С, ×400

По мере полного выхода пикноспор за пределы оболочки пикниды, они свободно располагаются в пространстве между гифами мицелия в виде слизистой клейкой массы (рисунок 6).

Как видно из рисунка 6, у штамма *Ph. macrostoma* Н11 конидии прозрачные, одноклеточные, яйцевидной формы. Конидиеносцы не выражены.

Таким образом, нами выявлены характерные морфологические структуры, присущие грибам

рода *Phoma*, семейства *Didymellaceae*, отряда *Pleosporales*, класса *Dothideomycetes*, типа *Ascomycota*.

Выявление биохимических свойств позволило выявить наличие умеренной сахаролитической активности в отношении глюкозы, сахарозы, маннозы, маннита, лактозы. Уреазная активность практически отсутствует, так как на среде Кристенсена отсутствовали изменения цвета среды, выявлено слабый розоватый оттенок в месте посева (рисунок 7).

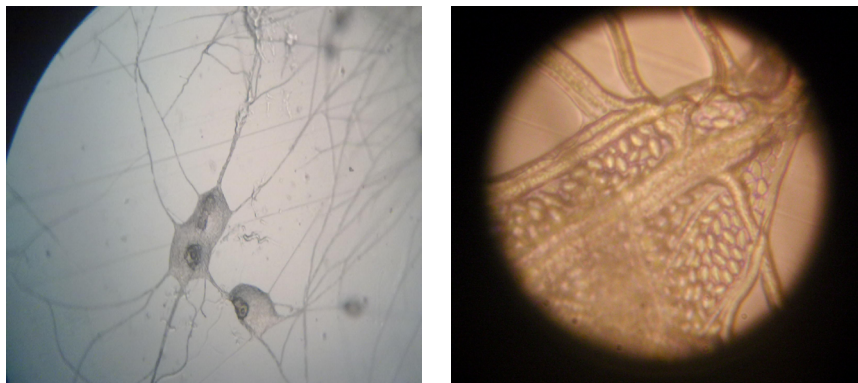


Рисунок 6 – Завершение выхода слизистой массы и пикноспор из пикнид *Phoma macrostoma* Н11 (показано стрелкой), агар Сабуро, 28 °С, ×400

Среды Гисса с сахарами Среда Кристенсена
сахароза лактоза глюкоза мальтоза маннит контроль мочевина

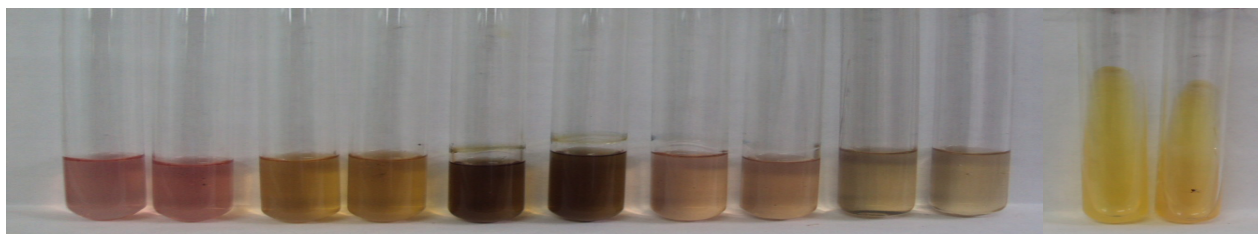


Рисунок 7 – Ферментативная активность *Phoma macrostoma* Н11

Молекулярно-генетическая идентификация впервые выделенного в Казахстане штамма нехарактерного возбудителя онихомикоза позволила установить его принадлежность к роду *Phoma* со 100% совпадением со штаммом FJ176472.1.

Видовая принадлежность *Phoma macrostoma* установлена с 98% совпадением со штаммами DQ474097.1 и DQ474072.1 базы данных GeneBank методом анализа ITS региона по алгоритму BLAST на сайте www.ncbi.com (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты идентификации нуклеотидных последовательностей *Phoma macrostoma* Н11 штамма

№ культуры	Последовательность фрагмента 16S r RNA гена	Идентификация нуклеотидных последовательностей в международной базе данных (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) алгоритм BLAST		
		Инв. номер GeneBank (Accession number) или коллекционный номер штамма	Наименование штамма	% совпадения
Н11	ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACC TAGAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACCCATGTCTT TTAAGTACcTTTCGTTTCCTCGGCGGGTTCGCCGCCGATTG GACAATTTAAACCATTGTCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAA AACTTAATAGTTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTT CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAAGTAGT GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG CACATTGCGCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTCG AGCGTCATTTGTACCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGTGT TTGTCTCGCCTCTGCGTGTAGACTCGCCTCAAAACAATTG GCAGCCGGCGTATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCG CTTGCACATCAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTAC ACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTT	FJ176472.1	<i>Phoma sp.</i>	100
		DQ474097.1	<i>Phoma macrostoma</i>	98
		DQ474072.1	<i>Phoma macrostoma</i>	98

Как показали результаты исследований, выделенная нами культура *Phoma macrostoma*, вызвавшая поражение ногтевой пластинки пациента, отличалась характерными видовыми особенностями [25].

Заключение

Таким образом, на основании вышеизложенного, можно сделать следующие выводы:

1 Выделенный из биологического материала штамм гриба, является представителем редких оппортунистических возбудителей онихомикозов *Phoma macrostoma*;

2 Штамм *Phoma macrostoma* Н11 отличается наличием типичных культуральных признаков, морфологических структур, низ-

кой сахаролитической и уреазной активностью;

3 Анализ нуклеотидной последовательности посредством анализа ITS региона в BLAST позволил подтвердить результаты культурально-морфологической характеристики, полностью идентифицировать штамм как представителя рода *Phoma*, вида *macrostoma*.

4 Нуклеотидная последовательность возбудителя онихомикоза *Ph. macrostoma* депонирована в GenBank под номером MN701978.1, как изолят *Didymella macrostoma* 104-Kz.

Конфликт интересов

Все авторы прочитали и ознакомились с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Литература

- 1 Veer P., Patwardhan N.S., Damle A.S. Study of onychomycosis: Prevailing fungi and pattern of infection // Indian J Med Microbiol. – 2007. – V.25. – P. 53-6.
- 2 Ge G., Yang Z., Li D., Sybren G. de Hoog, Shi D. Onychomycosis with greenish-black discolorations and recurrent onycholysis caused by *Candida parapsilosis* // Med Mycol Case Rep. – 2019. – V.24. – P. 48-50.
- 3 Haneke E. Fungal infections of the nail // Semin Dermatol. – 1991. – V.10(1). – P. 41-53.
- 4 Сергеев А.Ю. Грибковые заболевания ногтей. – М.: Национальная академия микологии, 2007. – 164 с.
- 5 Цыкин А.А., Ломоносов К.М. Онихомикоз: этиология, диагностика, клиника и лечение // РМЖ «Медицинское обозрение». – №11(1). – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: https://www.rmj.ru/articles/dermatologiya/Onihomikoz_etiologiya_diagnostika_klinika_i_lechenie/. (Дата обращения: 10.11.2019).
- 6 Медведева Т.В., Леина Л.М. Онихомикозы: современные представления об этиологии, эпидемиологии, методах терапии – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/onihomic.htm> (Дата обращения: 9.11.2019).
- 7 Ashely Bennett, Michelle M. Ponder, Julia Garcia-Diaz. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Their Clinical Impact // Microorganisms. – 2018. – V. 6(3). – P. 58.
- 8 Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н. Основы микологии: морфология и систематика грибов и грибоподобных организмов. Учебное пособие. – М., 2005. – 220 с.
- 9 Bennett A., Ponder M.M., Garcia-Diaz J. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact // Microorganisms. – 2018. – V.6 (3). – P. 58.
- 10 Сокирко В.П. Фитопатогенные грибы (морфология и систематика): учеб. пособие / В. П. Сокирко, В. С. Горьковенко, М. И. Зазимко. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – 178 с.
- 11 Фитопатология – Отдел Анаморфные (несовершенные) грибы. – [Электрон. ресурс]. – 2019. – URL: <http://selo-delo.ru/zachita-rastenii/fitopatologiya-otdel-anamorfnye-nesovershennye-griby.html>. (Дата обращения: 10.11.2019).
- 12 Migheli Q., Cacciola S.O., Balmas V., Pane A., Ezra D., Magnano G., Lio di San. Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide // Plant Dis. – 2009. – V.93. – P. 852-867.
- 13 Palavouzis S., Tzamos S., Paplomatas E., Thomidis T. First report of *Phoma Aliena* causing fruit rots of pomegranates in northern Greece // J. Plant Pathol. – 2015. – V.97. – P. 215.
- 14 Visconti A., Logrieco A., Vurro M., Bottalico A. Tenuazonic acid in blackmold tomatoes: Occurrence, production by associated *Alternaria* species, and phytotoxic properties // Phytopathol. Mediterran. – 1987. – V. 26. – P. 125-128.
- 15 Aveskamp, M.M., De Gruyter, J. and Crous, P.W. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance // Fungal Diversity. – 2008. – V. 31. – P. 1-18.
- 16 Young N.A., Kwon-chung K.J., Freeman J. Subcutaneous abscess caused by *Phoma* sp. resembling *Pyrenochaeta romeroi*: Unique fungal infection occurring in immunosuppressed recipient of renal allograft // Am. J. Clin. Pathol. – 1973. – V.59. – P. 810-816.
- 17 Bakerspigel A, Lowe D, Rostas A. The isolation of *Phoma eupyrena* from a human lesion // Arch Dermatol. – 1981. – V. 117(6). – P. 362-363.
- 18 Rai M.K., Tiwari V.V., Irinyi L., Kövics G.J. Advances in taxonomy of genus *phoma*: polyphyletic nature and role of phenotypic traits and molecular systematics // Indian J Microbiol. – 2014. – V.54(2). – P. 123-128. doi:10.1007/s12088-013-0442-8

- 19 Pitt, Wayne & Bailey, Karen & Fu (符永碧), Yong-Bi & Peterson, Gregory. Biological and genetic characterisation of *Phoma macrostoma* isolates with bioherbicidal activity // *Biocontrol Science and Technology*. – 2012. – V.22. – P. 813-835. doi:10.1080/09583157.2012.691159.
- 20 Valenzuela-Lopez N., Sutton D.A., José F. Cano-Lira, Katihuska Paredes, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, Alberto M. Stchigel. Coelomycetous Fungi in the Clinical Setting: Morphological Convergence and Cryptic Diversity // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2017. – Vol. 55(2). – P. 552-567.
- 21 Tullio V., Banche G., Allizond V., Roana J., Mandras N., Scalas D., Panzone M., Cervetti O., Valle S., Carlone N., Cuffini A.M. Non-dermatophyte moulds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus* // *Fungal Biol.* – 2010. – V. 114(4). – P. 345-9.
- 22 Oh C.K., Kwon K.S., Lee J.B., Jang H.S., Chung T.A., Suh S.B. Subcutaneous pheohyphomycosis caused by *Phoma* species // *Int J Dermatol.* – 1999. – V. 38(11). – P. 874-876.
- 23 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. *The Determinant of Pathogenic and Conditionally Pathogenic Fungi*. – M: The World; 2001. – pp. 486.
- 24 Kukhar Ye., Kiyani V., Smagulova A., Nikulina A. Identification of Dermatofungi Isolated from People and Animals with Dermatophytoses on the Territory of Kazakhstan // *Adv. Anim. Vet. Sci.* – 2019. – V. 7(s1). – P. 21-27.
- 25 Persoonia. Contributions towards a monograph of *Phoma* (*Coelomycetes*) – IX. Section Macrospora. – 2002. – V. 18, Part 1. – P. 85-102.

References

- 1 Veer P., Patwardhan N.S., Damle A.S. Study of onychomycosis: Prevailing fungi and pattern of infection // *Indian J Med Microbiol.* – 2007. – V.25. – R. 53-6.
- 2 Ge G., Yang Z., Li D., Sybren G. de Hoog, Shi D. Onychomycosis with greenish-black discolorations and recurrent onycholysis caused by *Candida parapsilosis* // *Med Mycol Case Rep.* – 2019. – V.24. – R. 48-50.
- 3 Haneke E. Fungal infections of the nail // *Semin Dermatol.* – 1991. – V.10 (1). – R. 41-53.
- 4 Sergeev A.Yu. Fungal nail diseases. – M.: National Academy of Mycology, 2007. – 164 p.
- 5 Tsykin A.A., Lomonosov K.M. Onychomycosis: etiology, diagnostics, clinical picture and treatment // RMJ “Medical Review”. – No. 11 (I). – [Electron. resource]. – 2019. – URL: https://www.rmj.ru/articles/dermatologiya/Onihomikoz_etiologiya_diagnostics_klinika_i_lechenie. (Date of access: 10.11.2019).
- 6 Medvedeva T.V., Leina L.M. Onychomycosis: modern ideas about etiology, epidemiology, methods of therapy – [Electron. resource]. – 2019. – URL: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/onihomic.htm> (Date of access: 9.11.2019).
- 7 Ashely Bennett, Michelle M. Ponder, Julia Garcia-Diaz. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Their Clinical Impact // *Microorganisms*. – 2018. – V. 6 (3). – P. 58.
- 8 Garibova L.V., Lekomtseva S.N. Fundamentals of mycology: morphology and taxonomy of fungi and fungi-like organisms. Tutorial. – M., 2005. – 220 p.
- 9 Bennett A., Ponder M. M., Garcia-Diaz J. *Phoma* Infections: Classification, Potential Food Sources, and Its Clinical Impact // *Microorganisms*. – 2018. – V.6 (3). – P. 58.
- 10 Sokirko V.P. *Phytopathogenic fungi (morphology and taxonomy): textbook. allowance* / V.P.Sokirko, V.S.Gorkovenko, M.I.Zazimko. – Krasnodar: KubGAU, 2014. – 178 p.
- 11 *Phytopathology – Department Anamorphic (imperfect) fungi*. – [Electron. resource]. – 2019. – URL: <http://selo-delo.ru/zachita-rastenii/fitopatologiya-otdel-anamorfnye-nesovershennye-griby.html>. (Date of access: 10.11.2019).
- 12 Migheli Q., Cacciola S.O., Balmas V., Pane A., Ezra D., Magnano G., Lio di San. Mal secco disease caused by *Phoma tracheiphila*: A potential threat to lemon production worldwide // *Plant Dis.* – 2009. – V.93. – R. 852-867.
- 13 Palavouzis S., Tzamos S., Paplomatas E., Thomidis T. First report of *Phoma Aliena* causing fruit rots of pomegranates in northern Greece // *J. Plant Pathol.* – 2015. – V.97. – P. 215.
- 14 Visconti A., Logrieco A., Vurro M., Botalico A. Tenuazonic acid in blackmold tomatoes: Occurrence, production by associated *Alternaria* species, and phytotoxic properties // *Phytopathol. Mediterran.* – 1987. – V. 26. – P. 125-128.
- 15 Aveskamp, M.M., De Gruyter, J. and Crous, P.W. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance // *Fungal Diversity*. – 2008. – V. 31. – P. 1-18.
- 16 Young N.A., Kwon-chung K.J., Freeman J. Subcutaneous abscess caused by *Phoma* sp. resembling *Pyrenochaeta romeroi*: Unique fungal infection occurring in immunosuppressed recipient of renal allograft // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1973. – V.59. – R. 810-816.
- 17 Bakerspiegel A, Lowe D, Rostas A. The isolation of *Phoma eupyrena* from a human lesion // *Arch Dermatol.* – 1981. – V. 117 (6). – R. 362-363.
- 18 Rai M.K., Tiwari V.V., Irinyi L., Kövics G.J. Advances in taxonomy of genus *Phoma*: polyphyletic nature and role of phenotypic traits and molecular systematics // *Indian J Microbiol.* – 2014. – V.54 (2). – R. 123-128. doi: 10.1007/s12088-013-0442-8
- 19 Pitt, Wayne & Bailey, Karen & Fu (符永碧), Yong-Bi & Peterson, Gregory. Biological and genetic characterization of *Phoma macrostoma* isolates with bioherbicidal activity // *Biocontrol Science and Technology*. – 2012. – V.22. – R. 813-835. doi: 10.1080/09583157.2012.691159.

20 Valenzuela-Lopez N., Sutton D.A., José F. Cano-Lira, Katihuska Paredes, Nathan Wiederhold, Josep Guarro, Alberto M. Stchigel. Coelomycetous Fungi in the Clinical Setting: Morphological Convergence and Cryptic Diversity // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2017. – Vol. 55 (2). – R. 552-567.

21 Tullio V., Banche G., Allizond V., Roana J., Mandras N., Scalas D., Panzone M., Cervetti O., Valle S., Carlone N., Cuffini A.M. Non-dermatophyte molds as skin and nail foot mycosis agents: *Phoma herbarum*, *Chaetomium globosum* and *Microascus cinereus* // *Fungal Biol.* – 2010. – V. 114 (4). – R. 345-9.

22 Oh C.K., Kwon K.S., Lee J.B., Jang H.S., Chung T.A., Suh S.B. Subcutaneous pheohyphomycosis caused by *Phoma* species // *Int J Dermatol.* – 1999. – V. 38 (11). – R. 874-876.

23 Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. The Determinant of Pathogenic and Conditionally Pathogenic Fungi. – M: The World; 2001. -- pp. 486.

24 Kukhar Ye., Kiyan V., Smagulova A., Nikulina A. Identification of Dermatophytes Isolated from People and Animals with Dermatophytoses on the Territory of Kazakhstan // *Adv. Anim. Vet. Sci.* – 2019. – V. 7 (s1). – R. 21-27.

25 Persoonia. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – IX. Section *Macrospora*. – 2002. – V. 18, Part