

ВЫСОКОАКТИВНЫЙ ПРОДУЦЕНТ ОХРАТОКСИНА А ИЗ ФУРАЖНОГО ЗЕРНА

Введение

Поиск грибов, ответственных за контаминацию зерна охратоксином А, был начат в нашей стране в конце прошедшего столетия и посвящен грибам рода *Penicillium* (Леонов, Чижова, 1977; Львова и др., 1992). Позднее в лаборатории микотоксикологии ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии при изучении состава микобиоты кормов была найдена большая группа изолятов *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, образующих этот токсин (Ерошкин, Пинегина, 2000; Ерошкин и др., 2000; Кислякова, 2001; Буркин и др., 2003), однако, активных продуцентов среди них не было.

Целью данной работы явилась оценка способности к биосинтезу охратоксина А у потенциально токсигенных видов *Aspergillus*, выделенных в последние годы из разных видов кормового сырья и комбикормов.

Материалы и методы

Микологическому исследованию подвергнуто 118 проб различных видов кормов, поступающих для анализа в лабораторию микотоксикологии ВНИИВСТЭ из агропромышленных предприятий страны в 2005 – 2006 гг. Из них выделено 274 чистые культуры грибов рода *Aspergillus*, проведена их видовая идентификация (Rarey, Fennel, 1965). Всего исследовано 34 пробы комбикорма, 30 проб зерна (пшеница - 12 проб, кукуруза - 8, ячмень - 6, овес - 4), 3 пробы гороха, 2 пробы сои, 21 проба жмыхов и шротов, 10 проб белково-витаминно-минеральных добавок (БВМД), 11 проб муки животного происхождения, 3 пробы глютен кукурузного, 2 пробы отрубей, 1 проба экструдированной муки и 1 проба заменителя обезжиренного молока (ЗОМ).

Объектом микотоксикологического исследования были выделенные из кормов природные штаммы рода *Aspergillus*: *A. flavus* Link (38), *A. candidus* Link (24), *A. niger* Van Tieghem (21), *A. amstelodami* (Mangin) Thom & Church (17), *A. pseudoglaucus* Blochwitz (16), *A. fumigatus* Fresenius (14), *A. versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (14), *A. wentii* Wehmer (13), *A. ochraceus* (10), *A. nidulans* (Eidam) Wint. (6), *A. sclerotiorum* Huber (2), *A. alliaceus* Thom & Church. (1) и его 10 мо-

ноконициальных культур.

Моноконициальные культуры природного штамма *Aspergillus alliaceus* № 115 получали классическим методом – высевом в толщу агара Чапека-Докса нескольких капель разбавленной взвеси, содержащей не более одной конидии в единице объема. После инкубации в течение 1 сут проросшую конидию, отмеченную под небольшим увеличением микроскопа, вместе с блочком агара переносили в пробирку с вышеуказанной средой.

Для изучения токсинообразующей способности штаммов во флаконы вместимостью 10 см³, содержащие по 1 см³ суслового агара, вносили инокулом 7 – 12-суточных культур и проводили культивирование в течение 7 сут в темноте при 21-23°C. Затем в каждый флакон добавляли по 1 мл смеси ацетонитрила и воды в объемном соотношении 6:1, плотно закрывали, выдерживали в течение 16 ч с двукратным встряхиванием в начале и в конце экстракции.

Исходную культуру *A. alliaceus* № 115 и 10 моноконициальных культур выращивали на 100 г риса в конических колбах вместимостью 500 см³ в течение 4-х недель и далее экстрагировали смесью хлороформ-метанол в объемном соотношении (1:1). Первичное определение охратоксина А в экстрактах культур выполнялось ст. науч. сотр. лаборатории микотоксикологии, канд.мед.наук А.А.Буркиным методом непрямого конкурентного иммуоферментного анализа с чувствительностью 0,8 нг/мл и затем - методом ТСХ – флуориметрии (силуфол, хлороформ-метанол, 7:3; Camag TLC Scanner II, λ_{возб.} 320 нм) с диапазоном измерений охратоксина А от 0,03 до 0,3 мкг.

Результаты исследований

Полученные нами данные свидетельствуют о значительной пораженности кормов аспергиллами – 105 из 118 (89,8%) исследованных проб поражены этими грибами. Наиболее часто *Aspergillus* обнаруживали в комбикормах (94,1% от числа изученных проб этого вида корма), зернофураже (93,3%), жмыхах и шротах (95,2%), БВМД (90,0%), муке животного происхождения (81,8%). Выделенные из кормов аспергиллы отличались довольно большим видовым разнообразием. Идентифи-

Встречаемость в кормах видов рода *Aspergillus*, продуцирующих ократоксин А

№ п/п	Виды – продуценты ократоксина А*	Поражено проб(п = 118)
1	<i>A. albertensis</i>	-**
2	<i>A. candidus</i>	41
3	<i>A. flavus</i>	77
4	<i>A. fumigatus</i>	11
5	<i>A. pseudoglaucus</i>	19
6	<i>A. nidulans</i>	5
7	<i>A. niger</i>	22
8	<i>A. awamori</i> Nakazawa	-
9	<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom	-
10	<i>A. foetidus</i> (Noke.) Thom & Raper	-
11	<i>A. japonicus</i> Saito	-
12	<i>A. ochraceus</i>	10
13	<i>A. sclerotiorum</i>	1
14	<i>A. alliaceus</i>	1
15	<i>A. auricomus</i> (Guéguen) Saito	-
16	<i>A. melleus</i> Yukawa	-
17	<i>A. ostianus</i> Wehmer	-
18	<i>A. petrakii</i> Vörös	-
19	<i>A. sulfureus</i> (Fres.) Thom & Church	-
20	<i>A. versicolor</i>	10
21	<i>A. wentii</i>	14

* цитировано по данным - Abarca et al., 2001; Dalsero et al., 2002; Rizzo et al., 2002; Varga et al., 2002; Accensi et al., 2004.

** «-» - в составе микобиоты кормов данный вид нами не идентифицирован.

кация 274-х изолятов позволила отнести их к 15 видам, относящимся к 10 группам этого рода. В число доминантных видов этого рода включены *A. flavus*, который выявлен в 77 пробах кормов, *A. candidus* (в 41 пробе), *A. amstelodami* (в 27), *A. niger* (в 22) и *A. pseudoglaucus* (в 19); менее распространенными были *A. wentii* (в 14 пробах), *A. fumigatus* (в 11), *A. versicolor* (в 14), *A. ochraceus* (в 10) и редко встречались *A. chevalieri*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. flavus* var. *columnaris*, *A. sclerotiorum* и *A. alliaceus*. Среди них были выявлены виды, способные к продуцированию ократоксина А (табл. 1).

Последующий микотоксикологический анализ культур показал, что представители 11 из 12 взятых в исследование видов способны образовывать ОА (табл. 2). Для единственного изолята *A. sclerotiorum* присутствие ОА среди метаболитов не обнаружено. У представителей групп *A. candidus*, *A. flavus* и *A. nidulans* продуценты были редкими и крайне слабо продуци-

рующими (менее 10 нг/мл). Столь же низкими оказались уровни накопления этого токсина у изолятов из группы *A. glaucus* и *A. wentii* при несколько большем числе продуцентов. Из 10 исследованных нами штаммов *A. ochraceus* биосинтез ОА наблюдался только у трех в еще меньших количествах (0,8 - 1,0 нг/мл). Сходные результаты были получены для 20 представителей этого вида, выделенных из кормов в Испании, - токсигенность была установлена только для 1 изолята (Accensi et al., 2004).

По одному штамму *A. fumigatus* и *A. niger* из 14 и 21 исследованных продуцировали ОА в количествах 15 и 25 нг/мл, соответственно. Такие же крайне редкие случаи токсинообразования (3/52) были установлены для вида *A. niger* var. *niger*, найденного в 23% проб кормов в Испании (Accensi et al., 2004). В Аргентине представители секции *Nigri*, выделенные из кормов (*A. niger* var. *niger*, *A. niger* var. *awamori*,

Продуцирование охратоксина А у штаммов видов *Aspergillus*, выделенных из кормов

Группа	Вид	Штаммы, n ⁺ /n	количество охратоксина А (мин.- макс.), нг/мл
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>	2/24	0,8; 2
<i>A. flavus</i>	<i>A. flavus</i>	4/38	1-7
<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i>	1/14	15
<i>A. glaucus</i>	<i>A. pseudoglaucus</i>	14/16	0,8-6
	<i>A. amstelodami</i>	3/17	2-5
<i>A. nidulans</i>	<i>A. nidulans</i>	1/6	3
<i>A. niger</i>	<i>A. niger</i>	1/21	25
<i>A. ochraceus</i>	<i>A. ochraceus</i>	3/10	0,8 – 1
	<i>A. sclerotiorum</i>	0/2	-
	<i>A. alliaceus</i>	1/1	26 x 10 ³
<i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i>	8/14	1-50
<i>A. wentii</i>	<i>A. wentii</i>	6/13	1-9

A. japonicus var. *japonicus*, *A. japonicus* var. *aculeatus* и *A. foetidus*), при значительной доле продуцентов накапливали сравнимые количества токсина - от 13 до 25 нг/мл (Dalsero et al., 2002). Более половины изолятов из группы *A. versicolor* продуцировали токсин, но его количества не превышали 50 нг/мл.

Единственный доступный для исследования штамм *A. alliaceus* № 115, выделенный из зерна ячменя в Ставропольском крае, резко отличался способностью к накоплению ОА в этих условиях. Его количество было на 3 порядка больше и составило 26 x 10³ нг/мл или 26 мкг/мл. При выращивании культуры на зерновом субстрате (рис) в течение 4 нед. уровень накопле-

ния токсина составил 400±20 мг/кг.

Все моноконидиальные культуры этого штамма на агаризованной среде сохранили высокую продуцирующую способность (табл. 3). Изменчивость интенсивности токсинообразования (Δ, мкг/кг) оказалась незначительной - от 23 до 36 мкг/кг. Среднее по выборке значение - 28,7 мкг/мл практически совпадало с показателем для исходной поликонидиальной культуры. Напротив, при культивировании на зерне различия в токсинообразовании оказались гораздо большими – более, чем 20-кратными по крайним значениям. Наибольший уровень накопления - 450±50 мг/кг субстрата был свойственен штамму № 115-8. Этот штамм *A.alliaceus* № 115-8 де-

Таблица 3

Способность к образованию охратоксина А у моноконидиальных культур *A.alliaceus* № 115

№ культуры	Количество ОА	
	мг/кг субстрата	мкг/мл среды
115-1	не опр.	23±2
115-2	275±25	23±1
115-3	115±15	29±2
115-4	96±16	32±2
115-5	315±15	25±1
115-6	66±2	32±2
115-7	68±1	23±1
115-8	450±50	30±2
115-9	20±2	36±2
115-10	390±10	34±2

понирован под регистрационным номером «ВНИИСХМ Д-58» во Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (arriam@arriam.spb.ru).

Заключение

Полученные нами данные микологиче-

ских исследований свидетельствуют о значительной распространенности в кормах потенциальных продуцентов охратоксина А, однако, микотоксинологический анализ показал, что лишь один редко встречающийся вид *A.alliaceus* способен к интенсивному накоплению этого токсина.

SUMMARY

A mycotoxicological analysis of 274 isolates of 12 Aspergillus species isolated from feeds, has shown that rare species *A.alliaceus* was able for intensive ochratoxin A production.

Литература

1. Леонов А.Н., Чижова О.В. Определение охратоксинов в культурах грибов *Penicillium viridicatum* Westling, распространенных в Поволжье // Тезисы докладов регионального симпозиума «Микотоксины (продуценты, химия, биосинтез, определение, действие на организм), 28-30 сентября 1977 г., Оренбург, С. 104-105.
2. Львова Л.С., Орлова Н.Ю., Омельченко В.Д. Грибы рода *Penicillium* – продуценты охратоксина А в зерне // Прикладная биохимия и микробиология. – 1992. – Т. 28. – вып. 6. – С. 889-893.
3. Ерошкин А.А., Пинегина Н.В. Сравнительное изучение токсинообразования вида *Aspergillus ochraceus* на твердых и жидких питательных средах // Проблемы ветеринарной санитарии и экологии. Сборник научных трудов. – 2000. – Т. 108. – С. 61-68.
4. Ерошкин А.А., Соболева Н.А., Буркин А.А., Кононенко Г.П. Грибы-продуценты охратоксина А в зерновых кормах // Проблемы ветеринарной санитарии и экологии. Сборник научных трудов. – 2000. – Т. 109. – С. 134-144.
5. Буркин А.А., Кононенко Г.П., Кислякова О.С. Актуальность изучения проблемы охратоксикога в России // Успехи медицинской микологии. – Т. 1. – М.: Национальная Академия Микологии, 2003. – С. 122-124.
6. Кислякова О.С. Микроскопические грибы в силосе, их санитарное значение и методы выделения, канд дисс., 2001, М., 16.00.03
7. Accensi F, Abarca M.L., Cabanes E.J. Occurrence of *Aspergillus* species in mixed feeds and component raw materials and their ability to produce ochratoxin A // *Food Microbiology*. – 2004. – Vol. 21. – N 5. – P. 623-627.
8. Abarca M.L., Accensi F, Bragulat M.R., Cabanes E.J. Current importance of ochratoxin A-producing *Aspergillus* spp. // *Journal of Food Protection*. – 2001. – Vol. 64. – N 6. – P. 903-906. Dalsero et al., 2002
9. Varga J, Rigo K., Lamper C., Tereň J, Szabo G. Kinetics of ochratoxin A production in different *Aspergillus* species // *Acta Biologica Hungarica*. – 2002. – Vol. 53. – N 3. – P. 381-388.
10. Dalsero A., Magnoli C., Hallak C., Chiacchiera S.M., Palacio G., Rosa C.A.R. Detection of ochratoxin A in animal feeds and capacity to produce this mycotoxin by *Aspergillus* section *Nigri* in Argentina // *Food Additives and Contaminants*. – 2002. – Vol. 19. – N 11. – P. 1065-1072.
11. Raper K.B., Fennel D.J. The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins Company, Baltimore, 1965, P.686.
12. Rizzo A., Eskola M., Atroshi F. Ochratoxin A in cereals, foodstuffs and human plasma // *European Journal of Plant Pathology*. – 2002. – Vol. 108. – N 7. – P.631-637.

УДК: 619: 616.98:578.828.

О.Б. Генджиева, А.Я. Генджиев

(Калмыцкий государственный университет, г. Элиста, Россия)

ОБЗОР ЭПИЗОТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ РЕСПУБЛИКИ КАЛМЫКИЯ

Республика Калмыкия расположена на юго-востоке европейской части Российской Федерации и занимает выгодное положение между Поволжьем и Кавказом. Она имеет внутренние границы со Ставропольским краем, Ростовской, Волгоградской, Астраханской областями и Республикой Дагестан, занимает площадь 76,1 тыс. га.

Географическое положение предопределяет наличие здесь аридного и семиаридного климата, широкое распространение

засоленных пород и сформировавшихся на них по большей части засоленных почв, их динамичных комплексов и сочетаний. Из этих обстоятельств закономерно вытекает доминирующее положение пустынных, полупустынных и степных ландшафтов с господством засухоустойчивых и солевыносливых растений.

Животноводство является отраслью, составляющей основу экономики республики. Основными отраслями животноводства являются мясное скотоводство,