

Защита растений

УДК 636.086.1:636.085.19:632.4

DOI: <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019328-31>

МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРМОВОГО ЗЕРНА КУКУРУЗЫ (1998-2018 гг.)

Г.П. Кононенко, доктор биологических наук,
А.А. Буркин, кандидат медицинских наук, **Е.В. Зотова**, кандидат ветеринарных наук,
А.М. Смирнов, академик РАН

*Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального научного центра Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко
123022, Москва, Звенигородское шоссе, 5
E-mail: kononenkogp@mail.ru*

Для зерна кукурузы, значимого в сфере кормопроизводства страны в последние два десятилетия, методом иммуноферментного анализа показана устойчивая загрязненность токсинами фузариевых грибов, чаще Т-2/HT-2 токсинами, фумонизинами и несколько реже – дезоксиниваленолом и зеараленоном в количествах, создающих риск интоксикаций животных. Выявлено сверхинтенсивное накопление циклопиазоновой кислоты, цитринина, микофеноловой кислоты и охратоксина А. В 2016-2018 гг. для зерна кукурузы из 4 субъектов Центрального федерального округа РФ установлена значительная распространенность Т-2/HT-2 токсинов, дезоксиниваленола и фумонизинов при колебаниях частоты встречаемости зеараленона по годам, в нескольких образцах из Курской и Воронежской областей обнаружен диацетоксисцирпенол. Контаминация зерна альтернариолом в 2016 и 2017 гг. была слабо выраженной как по частоте (5,3%), так и по уровню накопления (20-85 мкг/кг), однако, в сборе 2018 г. доля образцов, содержащих этот токсин, составила 40,7% с диапазоном содержания 25-295 мкг/кг. Обсуждены влияние почвенно-климатических факторов на характер контаминации микотоксинами урожая зерна кукурузы, вклад грибов, относящихся к темноокрашенным гифомицетам, и преобладающие варианты сочетанной контаминации фузариотоксинами.

MYCOTOXICOLOGICAL STUDY OF FEED CORN GRAIN (1998-2018)

Kononenko G.P., Burkin A.A., Zotova E.V., Smirnov A.M.

All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology –
Federal Scientific Center – K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine, Russian Academy of Sciences,
123022, Moskva, Zvenigorodskoe shosse, 5
E-mail: kononenkogp@mail.ru

For corn grain traded in the country's forage production sector over the past two decades, enzyme immunoassay showed persistent contamination with toxins of fusarium fungi, more often T-2 / HT-2 toxins, fumonisins, and more rarely with deoxynivalenol and zearalenone in quantities that pose risks of animal intoxication. The cases of superintensive accumulation of cyclopiazonic acid, citrinin, mycophenolic acid and ochratoxin A were revealed. In 2016-2018 For maize grain from 4 subjects of the Central Federal District of the Russian Federation, a significant prevalence of T-2 / HT-2 toxins, deoxynivalenol and fumonisins was found with fluctuations in the frequency of occurrence of zearalenone over the years, diacetoxyscirpenol was detected in several samples from the Kursk and Voronezh regions. Contamination of grain with alternariol in 2016 and 2017 was mild both in frequency (5.3%) and accumulation levels (20-85 µg / kg), but in the collection of 2018, the proportion of samples containing this toxin was 40.7% with a content range of 25-295 µg / kg. The influence of soil and climatic factors on the nature of mycotoxin contamination of corn grain crops, the contribution of fungi belonging to dark-colored hyphomycetes and the prevailing variants of combined contamination with fusariotoxins are discussed.

Ключевые слова: зерно, кукуруза, микотоксины, диацетоксисцирпенол, альтернариол, иммуноферментный анализ

Key words: grain, maize, mycotoxins, diacetoxyscirpenol, alternariol, enzyme immunoassay

Зерно кукурузы, масштабное мировое производство которого представлено как в южных, так и в умеренных широтах, в настоящее время сохранило значение для питания населения в Центральной, Южной Америке и Африке, а в остальных регионах его используют в основном на кормовые цели [1]. Высокий риск контаминации микотоксинами, связанный с подверженностью этой культуры вредителям и грибным болезням, привлекает внимание специалистов, занимающихся проблемой агробезопасности [2-4]. Для растений кукурузы известны многообразие токсинообразующих фитопатогенов, относящихся к родам *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Stenocarpella*, а так-

же особая восприимчивость к инфекции из-за легкого повреждения початков насекомыми и возможности прямого переноса спор, при этом своеобразии загрязненности токсинами зерна во многом определяют почвенно-климатические факторы [5-8]. Недавно выявлены особенности контаминации кукурузного зерна в Чешской Республике, Испании и Португалии [9].

В нашей стране, согласно оценке 1997-2001 гг., 68,2% образцов зерна, обращаемого в сфере кормопроизводства, содержали микотоксины, среди которых в основном представлены фузариотоксины, а токсичные метаболиты, свойственные «плесеням хранения», выявлены лишь в 8% проб [10,11]. Такая ситуация под-

тверждена данными микологического анализа – в составе микобиоты зерна грибы *Aspergillus* и *Penicillium* встречались нечасто при доминировании фузариевых грибов, наряду с темноокрашенными гифомицетами, к которым относятся представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Myrothecium* и других [10]. В дальнейшем выборочные исследования зерна регулярно продолжали по расширенному перечню показателей как для фузариотоксинов, так и для токсинов, спектр предполагаемых продуцентов которых достаточно широк, однако суммирование массива полученных данных и их надлежащее обсуждение так и не состоялись. Региональное обследование кукурузного зерна, выполненное на 125 образцах урожая 2002-2005 гг. в Южном федеральном округе (Краснодарский край, Ставропольский край, Ростовская область), позволило установить особенности его контаминации микотоксинами, но на территории Центрального округа исследование было лишь предварительным и ограничилось выборкой из 14 образцов [12].

Цель настоящей работы – обобщенная оценка загрязненности микотоксинами зерна кукурузы за 1998-2018 гг. и обследование состояния зерна кукурузы из Центрального федерального округа в 2016-2018 гг. по представительной выборке материала.

Методика. Объекты исследования – средние образцы зерна кукурузы (1998-2018 гг.), полученные от комбикормовых предприятий и животноводческих хозяйств Московской, Калужской, Рязанской, Курской, Воронежской, Орловской, Ростовской областей, Краснодарского, Ставропольского, Приморского краев, Республики Мордовия, а также 144 образца (2016-2018 гг.) от партий с документальным подтверждением сбора зерна в границах субъектов Центрального федерального округа (Курская, Белгородская, Воронежская, Липецкая области) и его назначения на кормовые цели. Процедуру подготовки проб и количественное определение микотоксинов проводили в соответствии с аттестованной унифицированной методикой, включающей

жидкостную экстракцию и непрямой конкурентный иммуноферментный анализ [13]. Для определения Т-2/НТ-2 токсинов (Т-2), 8-оксотрихотеценов группы 4-дезоксиниваленола (ДОН), зеараленона (ЗЕН), фумонизинов группы В (ФУМ), альтернариола (АОЛ), охратоксина А (ОА), афлатоксина В1 (АВ1), стеригматоцистина (СТЕ), роридина А (РОА), цитринина (ЦИТ), микофеноловой кислоты (МФК) использовали коммерческие наборы реагентов для иммуноферментного анализа (ВНИИВСГЭ, Россия). Циклопиазоновую кислоту (ЦПК), эргоалкалоиды (ЭА), эмодин (ЭМО), PR-токсин (PR) определяли с помощью иммуноферментных тест-систем, разработанных и метрологически аттестованных в лаборатории. Для статистической обработки данных использовали программу Microsoft Excel 2016 с вычислением параметров по выборкам положительных образцов – среднее арифметическое, медиана и 90%-ный процентиль.

Результаты и обсуждение. Согласно данным табл. 1, в фуражном зерне кукурузы группа контаминантов обширна по составу и включает 14 из 16 изученных микотоксинов. По встречаемости преобладали фузариотоксины с доминированием Т-2 и ФУМ, далее – ДОН и ЗЕН. Только один образец из 108 оказался положительным по ДАС, высокотоксичному трихотецену, аналогичному Т-2 по уровню токсичности, и сопутствовал ему в количестве 112 мкг/кг. Определяющая роль Т-2, ДОН, ЗЕН и ФУМ в контаминации согласуется с ранее полученными данными [11] и подтверждает обоснованность введения этих микотоксинов в перечень регламентированных показателей для зерна кукурузы, поставляемого на кормовые цели [14].

Из токсинов грибов других таксономических групп с частотой более 5% находили МФК, АОЛ и ОА, а ЦИТ, ЭА, ЭМО, АВ₁, ЦПК и СТЕ выявляли реже. Большинство из этих микотоксинов продуцирует гриба, подверженные активному росту на собранном урожае при резких изменениях влажности и температуры. Случаи интенсивного накопления ЦПК, ЦИТ, МФК

Табл. 1. Контаминация кормового зерна кукурузы микотоксинами (обобщенные данные 1998-2018 гг.)

Токсин	Встречаемость		Содержание, мкг/кг				
	n	n+ (%)	диапазон		среднее значение	медиана	90%-ный процентиль
			min	max			
Т-2	331	197 (59.5)	4	2000	179	62	495.8
ДОН	270	93 (34.4)	40	3550	681	268	1780
ЗЕН	331	37 (11.2)	5	3000	246	54	480
ФУМ	331	208 (62.8)	20	38070	2645	689.5	7920
ДАС	108	1 (0.9)	112		-	112	112
АОЛ	60	5 (8.3)	11	140	65	63	119.6
ОА	331	25 (7.6)	5	390	76	20	233.2
ЦИТ	230	8 (3.5)	20	953	273	57.5	866.9
АВ1	331	7 (2.1)	2	70	36	42	70
СТЕ	314	3 (1.0)	5	15	8	5	13
МФК	73	9 (12.3)	25	629	197	100	443.4
ЦПК	108	2 (1.9)	126	1990	1058	1058	1803.6
ЭА	73	2 (2.7)	6	35	20.5	20.5	32.1
ЭМО	108	5 (4.6)	25	200	77	50	145.2

* n – число исследованных проб зерна; n+ – число проб, содержащих микотоксин.

и ОА (табл. 1) указывают на возможность усиления токсичности кормового зерна при нарушении условий послеуборочного хранения. Подобные ситуации с хранящимся зерном кукурузы описаны и в других странах [15,16]. Токсины темноокрашенных гифомицетов были редкими как АОЛ, известный метаболит *Alternaria* spp. [17], найденный в 6,7% проб, и антрахинон ЭМО, к биосинтезу которого способны *Drechslera catenaria* [18] и *Cladosporium fulvum* Cooke [19] – только в 2,7%, или совсем не были обнаружены как макроциклический трихотетен РОА, входящий в число метаболитов грибов рода *Myrothecium*.

Статистическая обработка результатов анализа зерна проведена с целью выявления крайних и центральных тенденций по каждому ряду значений (табл. 1). Диапазоны количеств Т-2, ДОН, ЗЕН, ФУМ были чрезвычайно широки и составляли 3-4 порядка, для других микотоксинов – 1-2. Показатели медианы для них заметно отличались от средних, что было ожидаемым и указывало на несимметричность распределения, в котором половина значений заметно меньше остальных. Пороговые концентрации, найденные по 90% значений в выборках (90%-ный процентиль), для Т-2, ФУМ и ДОН превышали допустимые, особенно у Т-2 – почти в 5 раз. Максимальные уровни накопления оказались чрезвычайно высокими по Т-2 (2000 мкг/кг) и ФУМ (38070 мкг/кг), а по ДОН и ЗЕН превосходили нормативы предельного содержания в 3 раза и более. Это свидетельствует о том, что зерно с территорий, на которых отмечено интенсивное поражение початков фузариозом, может представлять серьезную опасность для животных. Причиной резкого возрастания количества фузариотоксинов могла быть затяжная пораженность растений высоко токсигенными грибами-продуцентами в условиях, способствующих их активному росту.

Известно, что интенсивность развития фузариоза початков, наблюдаемого во всех зонах выращивания кукурузы, и как следствие, степень контаминации урожая микотоксинами, определяются изменчивой совокупностью биотических, абиотических и технологических факторов [20], но до сих пор регулярные наблюдения за ситуацией на основных зернопроизводящих территориях в нашей стране не проводили. Региональное обследование кукурузного зерна (125 образцов урожая 2002-2005 гг.) в Южном федеральном округе (Краснодарский, Ставропольский края, Ростовская область) показало, что контаминация характеризуется значительной распространенностью фузариотоксинов (92% проб), особенно ФУМ (89,6%) при меньшей встречаемости Т-2, ДОН и ЗЕН [12]. В эти же годы в локальном сборе зерна с территорий Центрального округа загрязненность Т-2 обнаружена во всех 14 исследованных образцах, а ФУМ, ДОН и ЗЕН гораздо реже [12].

Результаты ежегодного микотоксикологического обследования зерна, выращенного в Курской, Воронежской, Белгородской, Липецкой областях в 2016-2018 гг., приведены в табл. 2. Во всех образцах содержался Т-2, а ДОН и ФУМ лишь немного уступали ему по частоте выявления. Встречаемость ЗЕН в среднем по 144 образцам составила 28,5% и регулярно была ниже, чем у ДОН. В целом ситуация была сходной к описанной для кормового зерна разной территориальной принадлежности и срока сбора (табл. 1), хотя обнаружены и особенности.

В зерне сбора 2018 г. достаточно часто был выявлен ДАС и всегда совместно с Т-2 (табл. 2). Биосинтез

этой группы токсинов трихотеценового ряда известен для нескольких видов грибов *Fusarium*, идентифицированных в составе микобиоты семян зерновых культур, в частности, *F. sporotrichioides*, *F. poae* и *F. langsethiae* [21]. Возможно, в эколого-климатических условиях данного года преимущество получил нетипичный представитель токсинообразующего комплекса этих грибов или постоянные его участники по-иному реализовали потенциал токсинообразования. Один из токсинов, свойственных грибам рода *Alternaria*, – АОЛ – встречался в образцах из Центральной России ежегодно, но в начале 2016 и 2017 гг. контаминация была слабо выраженной по частоте (5,3%) и уровню накопления, но в сборе 2018 г. доля положительным образцов достигла 40,7% с наибольшим содержанием 295 мкг/кг (табл. 2). Вероятно, ситуация могла обостриться под влиянием сложившейся совокупности погодных факторов.

Табл. 2. Контаминация зерна кукурузы фузариотоксинами и альтернариолом (Курская, Воронежская, Белгородская, Липецкая области, 2016-2018 гг.)

Год (n)	n ⁺ , количество токсина (min – max), мкг/кг					
	Т-2	ДАС	ДОН	ЗЕН	ФУМ	АОЛ
2016 (26)	26 15-210	0	26 50-3300	12 20-650	25 50-1580	4 20-85
2017 (91)	91 5-998	0	76 50-2500	10 20-420	76 50-9976	2 24,44
2018 (27)	27 12-560	7 50-180	23 50-3620	19 20-3970	20 655- 5000	10 25-295

* n – число исследованных проб; n⁺ – число проб, содержащих микотоксин.

Следует также отметить, что за весь период исследования на этой территории только в одном образце зерна была найдена МФК в количестве 125 мкг/кг, но ни один из других 7 токсинов, за накопление которых считают ответственными грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и других, не был обнаружен. В целом для зерна с территорий Центрального федерального округа в эти годы характерна множественная сочетанная загрязненность фузариотоксинами (табл. 3). Контаминация только Т-2 найдена в единственной пробе, а во всех других представлены комбинации 2-5 токсинов с доминированием Т-2+ДОН+ФУМ и Т-2+ДОН+ФУМ+ЗЕН.

Табл. 3. Контаминация зерна кукурузы фузариотоксинами (Курская, Воронежская, Белгородская, Липецкая области, 2016-2018 гг.)

Год (n)	n ⁺							
	Т	ТД	ТФ	ТДФ	ТДЗ	ТДЗФ	ТДДсЗ	ТД-ЗФДс
2016 (26)	-	-	14	1	11	-	-	-
2017 (91)	1	14	14	52	1	9	-	-
2018 (27)		2	3	4	2	9	3	4

* n⁺ – число проб, содержащих один, а также комбинации из двух, трех, четырех и пяти фузариотоксинов.

Таким образом, для зерна кукурузы кормового направления в последние два десятилетия характерна устойчивая загрязненность токсинами фузариевых грибов, чаще Т-2, ФУМ и несколько реже ДОН и ЗЕН со случаями сверхинтенсивного накопления, представляющего серьезную опасность для животных. Высокая степень риска подтверждена и в отношении других редко детектируемых токсинов микроскопических грибов, склонных к сапрофитной и сапротрофной формам обитания. Загрязненность микотоксинами зерна из Центральной России в последние годы характеризовалась интенсивной сочетанной контаминацией фузариотоксинами и возрастанием встречаемости ДАС и АОЛ. Предуходящее региональное обследование было проведено в Краснодарском и Ставропольском краях в 2002-2005 гг., но позже не повторялось. Учитывая большой объем производства кукурузного зерна и значительные колебания микотоксикологической ситуации необходимо ввести в обычную практику повторение таких проектов.

Литература.

1. Шнаар Д., Гинанн К., Дрегер Д., Захаренко А., Капенская С. Кукуруза (Выращивание, уборка, консервирование и использование). – М.: ИД ООО «DLV АГРОДЕЛО», 2009 – 390 с.
2. Yamashita A., Yoshizawa T., Aiura Y., Sanchez P.C., Dizon E.I., Arim R.H., Sardjono. // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 1995 *Fusarium mycotoxins (fumonisins, nivalenol, and zearalenone) and aflatoxins in corn from Southeast Asia* // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 1995. – V. 59(9). – P. 1804-1807.
3. Shephard G.S., Van Der Westhuizen L., Sewram V. *Biomarkers of exposure to fumonisin mycotoxins: A review* // *Food Additives & Contaminants*. – 2007. – V.24(10). – P. 1196-1201.
4. Ferrigo D., Raiola A., Causin R. *Fusarium toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management* // *Molecules*. – 2016. – V. 21. – P. 627.
5. Kayode O.F., Sulyok M., Fapohunda S.O., Ezekiel C.N., Krska R., Oguntona C.R.B.. *Mycotoxins and fungal metabolites in groundnut- and maize-based snacks from Nigeria* // *Food Additives & Contaminants*. – 2013. – V. 6(4). – P. 294-300.
6. Anjorin S.T., Fapohunda, S., Sulyok M., Krska R. *Natural co-occurrence of emerging and minor mycotoxins on maize grains from Abuja, Nigeria* // *Annals of Agricultural and Environmental Sciences*. – 2016. – V. 01(01). – P. 21-29.
7. Wicklow D.T., Rogers K.D., Dowd P.F., Gloer J.B. *Bioactive metabolites from Stenocarpella maydis, a stalk and ear rot pathogen of maize* // *Fungal Biology*. – 2011. – V. 115(2). P. 133-142.
8. Rogers K.D., Cannistra J.C., Gloer J.B., Wicklow D.T. *Diplodiatoxin, chaetoglobisins, and diplonine associated with a field outbreak of Stenocarpella ear rot in Illinois* // *Mycotoxin Research*. – 2014. – V. 30(2). – P. 61-70.
9. Monbaliu S., Van Poucke C., Detavernier C., Dumoulin F., Van De Velde M., Schoeters E., Van Dyck E., Averkieva O., Van Petegham C., De Saeger S. *Occurrence of mycotoxins in feed as analyzed by a multi-mycotoxin LC-MS/MS method* // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2010. – V. 58(1). – P. 66-71.
10. Пирязева Е.А., Малиновская Л.С., Буркин А.А., Кононенко Г.П., Соболева Н.А. *Микотоксикологические исследования в оценке санитарного качества кукурузного зерна* // *Проблемы ветеринарной санитарии и экологии. Сборник научных трудов*. – 2000. – Т. 109. – С.122-133.
11. Буркин А.А., Соболева Н.А., Кононенко Г.П. *Изучение контаминации кукурузного зерна микотоксинами* // *Тезисы докладов Первого съезда микологов России «Современная микология в России»*. – М.: Национальная Академия Микологии, 2002. – С. 262-263.
12. Кононенко Г.П., Буркин А.А. *Контаминация фузариотоксинами зерна кукурузы и риса на основных территориях возделывания культур в Российской Федерации* // *Сельскохозяйственная биология*. – 2008. – № 5. – С. 88- 91.
13. ГОСТ 31653-2012. *Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов*.
14. *Технический регламент Таможенного Союза ТР ТС 015.2011 «О безопасности зерна»*, 2011.
15. Vengušt A., Žust J., Vospernik P., Kabaj Z., Pestevšek U. *The contamination of animal feeds with dermatotoxic mycotoxins* // *Veterinarski Glasnik*. – 1987. – V. 41(2). – P. 91-97.
16. Özay G., Heperkan D. *Mould and mycotoxin contamination of stored corn in Turkey* // *Mycotoxin Research*. – 1989. – V. 5(2). – P. 81-89.16.
17. Torres H., González H., Etcheverry M., Resnik S.L., Chulze S. *Production of alternariol and alternariol mono-methyl ether by isolates of Alternaria spp. from Argentinian maize* // *Food Additives and Contaminants*. – 1998. – V. 15 (1). – P. 56-60.
18. Van Eijk, Chrysophanol G.W. and emodin from *Drechslera catenaria* // *Phytochemistry*. – 1974. – V. 13(3). – P. 650.
19. Cole R.J., Cox R.H. *Handbook of Toxic Fungal Metabolites*. - New York-London-Toronto-Sydney-San Francisco, Academic Press, 1981. – 937 p.
20. Гагжаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.П. *Фузариоз зерновых культур* // *Защита и карантин растений*. – 2011. – № 55. – С.69-120.
21. Thrane U., Adler A., Clasen P.E., Galvano F., Langseth W., Lew H., Logrieco A., Nielsen K.F., Ritieni A. *Diversity in metabolite production by Fusarium langsethiae, Fusarium poae, and Fusarium sporotrichioides* // *International Journal of Food Microbiology*. – 2004. – V. 95(3). – P. 257-266.

Поступила в редакцию 27.11.18
Принята к публикации 20.12.18