

УДК: 619:615.9:636.5

ПРОБЛЕМА ТРИХОТЕЦЕНОВЫХ МИКОТОКСИНОВ В ПТИЦЕВОДСТВЕ УКРАИНЫ

Труфанов О. В., Котик А. Н. Труфанова В. А.
Институт птицеводства УААН

Резюме. В течение 2005—2007 гг. HT-2 токсин было выявлено в 6,8% из 864 исследованных образцов зерна, зернопродуктов и кормов в концентрациях 100—300 мкг/кг, что дает основания считать его существенным загрязнителем зерновых продуктов в Украине. T-2 токсин был найден в 42% образцов в средней концентрации 45 ± 2 мкг/кг. Наиболее контаминированными HT-2 токсином и T-2 токсином были образцы кукурузы и ячменя. С использованием рыб *L. reticulatum* была исследована общая токсичность 587 образцов кормов и кормовых субстратов для кур. Две трети из 46 образцов, которые были определены как „токсичные” или „слаботоксичные”, оказались контаминированными микотоксинами; T-2 токсин, HT-2 токсин, зеараленон и ДОН были обнаружены в 26, 6, 5 и 4 случаях.

Ключевые слова: трихотеценовые микотоксины, общая токсичность кормов, птицеводство.

Summary. During the period 2005—2007 years HT-2 toxin had been detected in 6,8% of 864 explored samples of grain, grain products and fodders in concentrations 100—300 ppb. T-2 toxin was found in 42% of samples in middle concentration 45 ± 2 ppb. The samples of corn and barley were the most contaminated by the mycotoxins. General toxicity of 587 samples of fodders feed ingredients for chickens was investigated by using of fishes *L. reticulatum*. Two thirds of 46 samples which were defined as „toxic” or „low-toxic” appeared to be contaminated by mycotoxins; the T-2 toxin, HT-2 toxin, zearalenon and DON was found in 26, 6, 5 and 4 cases.

Key words: trichothecen mycotoxins, toxicity of fodders, poultry.

Введение. Трихотеценовые микотоксины (ТТМТ), или трихотецены, это группа природных сцирпеноидов, синтезируемых грибами родов *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Verticimonosporium* и *Cylindocarpon*. Трихотецены характеризуются цитотоксическим, фитотоксическим та антифунгальным действием [1].

По опубликованным данным, в 2007 г. HT-2 токсин и T-2 токсин обнаруживались в 100% образцов овса, выращенного в Германии, и продуктов на его основе. Средние суммарные концентрации этих

микотоксинов в зависимости от вида продукции варьировали от 8 до 85 мкг/кг [2].

Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС) 45 образцов пищевых продуктов на основе сои, предлагаемых на продовольственном рынке Германии, показал наличие хотя бы в одном из образцов НТ-2 токсина, сцирпенола, 15-моноацетоксисцирпенола, 4,15-диацетоксисцирпенола, Т-2 тетраола, дезоксиниваленола (ДОНа), 15- и 3-ацетилдезоксиниваленола, зеараленона, α -зеараленола и β -зеараленола. Т-2 токсин, Т-2 триол, неосоляниол (НЕО), ниваленол и фузаренон Х обнаружены не были [3].

При анализе 109 образцов пыли озимой пшеницы, ячменя и овса, собранных в 1999—2000 гг. в Норвегии с поверхностей технического оборудования для переработки зерна, НТ-2 токсин был обнаружен в 77% образцов, при чем медианная концентрация составила 54 мкг/кг. ДОН, Т-2 токсин, диацетоксисцирпенол, ниваленол (НИВ) и моноацетоксисцирпенол были найдены в 60, 27, 12, 18 та 11% соответственно [4].

В Словакии были исследованы 50 образцов кормовых смесей для с.-х. птицы, из которых 76% оказались контаминированными НТ-2 токсином (до 173 мкг/кг, в среднем — 18 мкг/кг), 90% содержали Т-2 токсин (до 130 мкг/кг, в среднем — 13 мкг/кг) и 56% — ДОН (до 1230 мкг/кг, в среднем — 303 мкг/кг [5].

В странах, расположенных в тропической и субтропической климатических зонах, НТ-2 токсин и другие трихотеценовые микотоксины типа А встречаются значительно реже, хотя грибы разных видов рода *Fusarium* распространены довольно широко. Микологические исследования 180 образцов кукурузы, используемой в пищу в юго-западной Нигерии, показали, что наиболее часто встречается *F. verticillioides* (71%), за которым следуют *F. sporotrichioides* (64%), *F. graminearum* (32%), *F. pallidoroseum* (15%), *F. compactum* (12%), *F. equiseti* (9%), *F. acuminatum* (8%), *F. subglutinans* (4%) и *F. oxysporum* (1%). Методом ВЭЖХ/МС в 36% образцов были найдены ДОН, 3-ацетилдезоксиниваленол и диацетоксисцирпенол (ДАС) в средних концентрациях 226, 17 и 16 мкг/кг соответственно, тогда как НТ-2 токсин, Т-2 токсин, Т-2 триол, Т-2 тетраол, 15-ацетилдезоксиниваленол, НИВ, НЕО, моноацетоксисцирпенол и фузаренон-Х обнаружены не были [6].

Анализ 78 образцов кукурузы из Египта методами ТСХ, УФ- и ЯМР-спектроскопии не показал наличия НТ-2 токсина, но 3 из 22 изолированных из этой кукурузы штаммов *Fusarium* при выращивании на кукурузе продуцировали НТ-2 токсин в концентрации 12,4—18,6 мг/кг [7].

В Италии в 10 из 14 исследованных образцов пшеницы был обнаружен НТ-2 токсин в концентрациях от 10 до 71 мкг/кг, тогда как Т-2 токсин лишь в трех образцах, при чем его содержание не превышало 12 мкг/кг [8].

Таким образом, анализ литературных данных относительно частоты случаев обнаружения и степени загрязненности зерна, пищевых продуктов на его основе, кормов и кормовых субстратов Т-2 и НТ-2 токсинами указывает

на их широкую распространенность в различных регионах мира. Зерно злаковых культур, выращиваемых в странах, расположенных в умеренной климатической зоне, более подвержено контаминации трихотеценами.

Цель работы состояла в оценке загрязнения кормов для сельскохозяйственной птицы трихотеценовыми токсинами в Украине.

Материалы и методы. Образцы комбикормов и кормовых субстратов (зерна, отрубей, шротов, белково-витаминных добавок и премиксов) получали из различных птицеводческих хозяйств и хлебоперерабатывающих комбинатов Украины и Российской Федерации. Были исследованы образцы кукурузы, пшеницы, тритикале, ячменя, овса, подсолнечного шрота, соевого шрота, премиксов, комбикормов. Количественное определение НТ-2 токсина и Т-2 токсина осуществляли разработанным ранее биоавтографическим методом [9]. Общую токсичность образцов определяли на рыбах *L. reticulatus* по Курманову И. А. [10]. ДОН, зеараленон и фумонизины определяли методом иммуноферментного анализа на фотометре Stat Fax 2001 с использованием тест-систем «Ridascreen DON», «Ridascreen Zearalenon» и «Ridascreen Fumonisin», Германия. Отбор проб образцов осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями [11].

Результаты и обсуждение. С использованием биоавтографического метода в течение 2005—2007 гг. были исследованы 864 образца зерна, кормов, кормовых ингредиентов и добавок, поступивших из приблизительно 70 птицеводческих хозяйств и хлебокомбинатов, расположенных в 14 областях Украины (Винницкой, Днепропетровской, Донецкой, Запорожской, Киевской, Луганской, Николаевской, Полтавской, Сумской, Тернопольской, Харьковской, Херсонской, Хмельницкой и Черкасской), Автономной республике Крым и двух областях Российской Федерации (Белгородской и Ростовской) (табл. 1).

Таблица 1 - Контаминированность кормов для с.-х. птицы НТ-2 токсином и Т-2 токсином в различные годы

Год	2005		2006		2007		Всего	
Количество исследованных образцов	357		247		258		862	
Микотоксин	НТ-2	Т-2	НТ-2	Т-2	НТ-2	Т-2	НТ-2	Т-2
Количество контаминированных образцов	39	161	6	114	10	87	55	362
Доля контаминированных образцов, %	10,92	45,10	2,43	46,15	3,88	33,72	6,38	42,00

Из таблицы 1 видно, что частота обнаружения НТ-2 токсина была наивысшей в первом полугодии 2005 г., т. е. в образцах зерна урожая 2004 г.

По данным официального сайта Гидрометеорологического научно-исследовательского центра Российской Федерации [12] количество осадков в Европе и Украине в летние месяцы 2004 г. в 2—3 раза превышало показатели предшествующих лет. О значимости влияния сезонных условий на концентрации микотоксинов в зерне говорят данные анализа 98 образцов кукурузы, собранных в штате Висконсин (США) в ноябре 1992 — январе 1993 гг., которые указывают на наличие ТТМТ типа А, ТТМТ типа В и зеараленона в средних концентрациях 306, 238 и 904 мкг/кг соответственно. Так, в образцах, поступивших в декабре и январе, общая концентрация ТТМТ была значительно выше, чем в образцах, полученных в ноябре; ситуация с зеараленоном была противоположной. Кроме того, концентрация микотоксинов в початках была выше, чем в зернах [13].

Абсолютная и относительная частоты случаев обнаружения НТ-2 токсина в образцах за весь период исследований были в 6,58 раз ниже, чем Т-2 токсина. Это может быть связано с более высокой чувствительностью метода именно к Т-2 токсину. В пользу этого предположения говорят средние значения концентраций НТ-2 токсина и Т-2 токсина, которые составляют соответственно 133 ± 14 и 45 ± 2 мкг/кг. Кроме того, кривые распределения абсолютных частот случаев обнаружения НТ-2 токсина и Т-2 токсина в зависимости от их концентраций имеют вид графиков нисходящей степенной функции, что указывает на обратную зависимость между концентрацией микотоксинов и частотой их обнаружения (рис. 1 и 2).

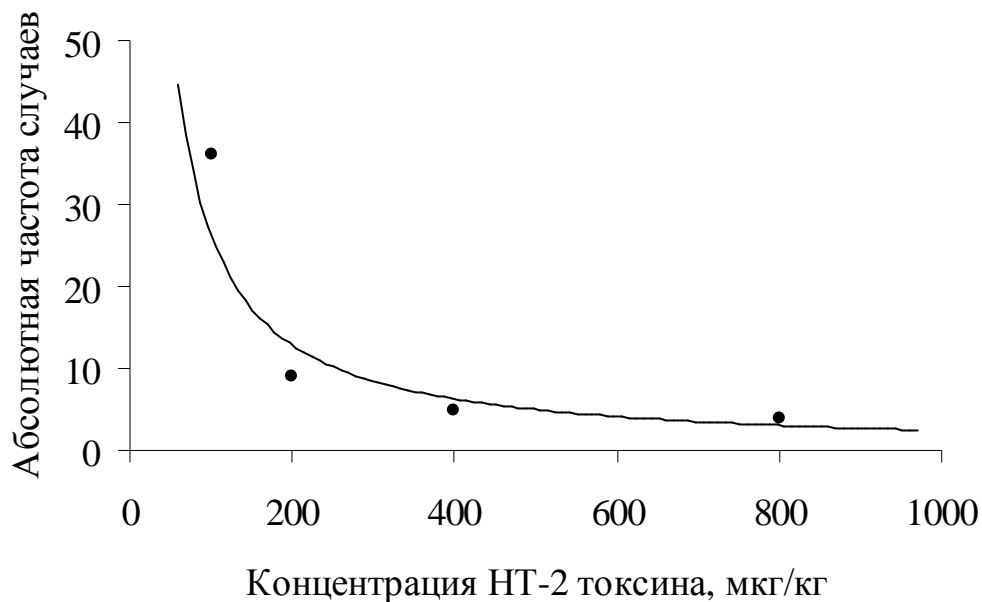


Рис. 1. Частота случаев обнаружения НТ-2 токсина в различных концентрациях.

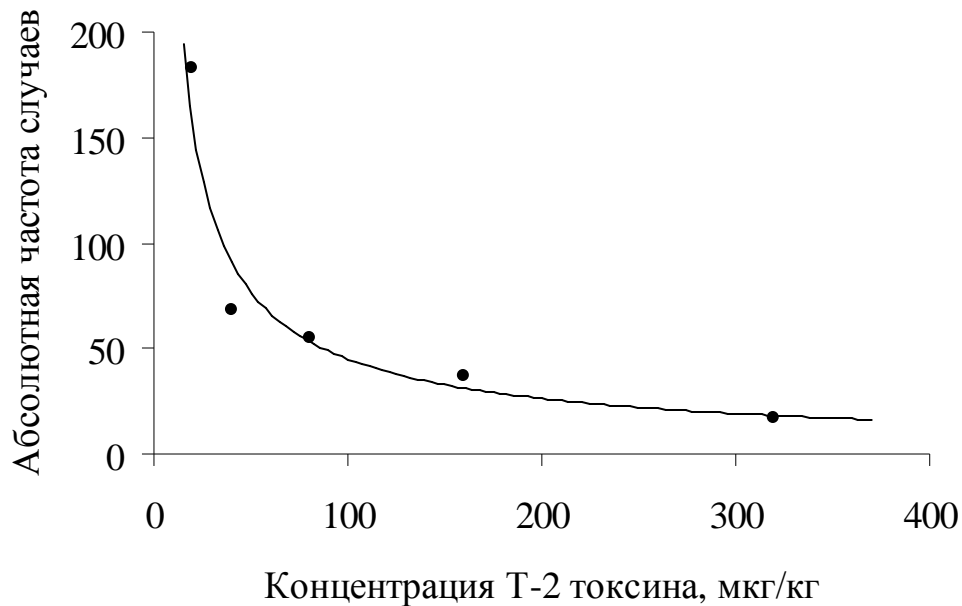


Рис. 2. Частота случаев обнаружения Т-2 токсина в различных концентрациях.

Другая вероятная причина отличия частот случаев загрязненности кормов НТ-2 токсином и Т-2 токсином заключается в особенностях климата Украины. Вероятность обнаружения НТ-2 токсина и его концентрация в зерне злаков возрастают при благоприятных для роста грибов погодных условиях. Так, в зерне, собранном в Финляндии в 1998 г., когда накануне летом и осенью часто выпадали сильные дожди, обнаруживали НТ-2 токсин, ДОН и НИВ, хотя Т-2 токсин найден не был [14]. В юго-западной Германии, климат которой характеризуется более высоким значением среднегодовой температуры и большим количеством осадков, чем климат Украины, НТ-2 токсин находили в 11% случаев при анализе 276 образцов пшеницы урожая 1989—1993 гг. Концентрация варьировала от 2 до 73 мкг/кг. Авторы отмечают, что в течение 5 лет исследований частота случаев и уровень НТ-2 токсина практически не изменялись [15].

Наивысший процент образцов, контаминированных как НТ-2 токсином, так и Т-2 токсином, характерен для образцов кукурузы и ячменя (табл. 2). Т-2 токсином было загрязнено более 40% образцов комбикорма, отрубей и тритикале. Т-2 токсин был обнаружен в соевом шроте и макухе, хотя ни один из образцов сои не был контаминирован ни Т-2 токсином, ни НТ-2 токсином. Отруби и недоброкачественное зерно были достаточно часто контаминированы Т-2 токсином, но ни разу НТ-2 токсином. Эти данные в некоторой степени согласуются с результатами анализов 1681 образца различных видов зерна, а также сои, отрубей и семян подсолнечника, собранных в Венгрии в период с 1991 по 1998 гг., в которых были выявлены ТТМТ (в том числе НТ-2 токсин), зеараленон и охратоксин А. Наибольший процент образцов, непригодных для применения в корм животным, был среди отрубей, овса и тритикале — 7,1, 6,7 и 6,3% соответственно, тогда как

аналогичный показатель для кукурузы, пшеницы, ячменя и сои составил соответственно 3,0, 2,2, 2,3 и 1,7%. Авторы отмечают, что такой уровень загрязненности является нормальным для европейских стран, но все же наносит экономический ущерб, в связи с чем необходимо регулярно контролировать наличие микотоксинов в кормовых субстратах [16].

Таблица 2 - Частота обнаружения НТ-2 токсина и Т-2 токсина в различных кормовых субстратах

Вид корма	Количество образцов	Количество контаминированных образцов			
		НТ-2 токсин	%	Т-2 токсин	%
Комбикорм	280	10	3,6	131	46,8
Кукуруза	192	31	16,2	127	66,2
Пшеница	111	4	3,6	24	21,6
Ячмень	51	7	13,7	24	47,1
Шрот соевый	47	0	0	12	25,5
Макуха соевая	39	1	2,6	4	10,3
Шрот подсолнечный	37	0	0	7	18,9
Отруби	17	0	0	7	41,2
Примеси	17	0	0	2	11,8
Тритикале	16	0	0	7	43,8
Макуха подсолнечная	16	0	0	5	31,3
Мука пшеничная	15	1	6,7	5	30
Овес	8	1	12,5	3	37,5
Соя	6	0	0	0	0
Горох	5	0	0	0	0
Другие корма *	5	0	0	4	80
Всего	862	55	6,4	362	42,0

Примечание: * другие корма — просо (1 образец), зерноотходы (2 образца), фуражное зерно (1 образец), зерновая смесь (1 образец).

В течение 2005—2007 гг. было осуществлено определение общей токсичности 587 образцов кормов и кормовых субстратов для птицы. По результатам анализа с применением метода, который базируется на использовании рыб *L. reticulatus*, токсичными (в том числе и слаботоксичными) оказались 7,84% от общего количества исследованных образцов (табл. 3).

Таблица 3 - Результаты определения общей токсичности различных кормовых субстратов

Результат анализа	„Токсичный”	„Слаботоксичный”	„Нетоксичный”	Всего
Количество образцов	35	11	541	587
Процент	5,96	1,87	92,16	100

Из 46 образцов, которые были определены как „токсичные” или „слаботоксичные”, 31 образец, то есть около двух третей, был контаминирован микотоксинами. Среди этих образцов в 26 случаях был найден Т-2 токсин; НТ-2 токсин, зеараленон и ДОН были идентифицированы только в „токсичных образцах” в 6, 5 и 4 случаях соответственно. Известно, что рыбы *L. reticulatus* чувствительны к Т-2 токсину и патулину [17]. О чувствительности этого тест-организма к зеараленону, ДОН и другим микотоксинам не сообщалось.

С целью прогнозирования частоты и степени контаминации зерна и зерносодержащих продуктов НТ-2 и Т-2 токсинами можно использовать данные о зависимости этих показателей от погодно-климатических условий выращивания злаковых растений. Особенное внимание следует уделять анализу тех видов зерна и продуктов на их основе, которые характеризуются наивысшим процентом и уровнем загрязненности НТ-2 токсином и Т-2 токсином.

Выводы.

1. В течение 2005—2007 гг. биоавтографическим методом было проанализировано 864 образца зерна, зерновых продуктов и комбикормов. НТ-2 токсин и Т-2 токсин были обнаружены в 6,8 и 42% образцов в концентрациях 133 ± 14 и 45 ± 2 мкг/кг соответственно.

2. Наибольшим процентом случаев контаминации НТ-2 токсином характеризуются кукуруза (16,2%), ячмень (13,7%) и овес (12,5%), а Т-2 токсином — кукуруза (66,2%), ячмень (47,1%) и комбикорм (46,8%).

3. С использованием рыб *L. reticulatus* в течение 2005—2007 гг. были исследованы 587 образцов кормов и кормовых субстратов для кур. Две трети из 46 образцов, которые были определены как „токсичные” или „слаботоксичные”, оказались контаминированными микотоксинами; Т-2 токсин, НТ-2 токсин, зеараленон и ДОН были найдены в 26, 6, 5 и 4 случаях соответственно.

4. Полученные данные указывают на необходимость контроля загрязненности зерна и зернопродуктов трихотеценовыми микотоксинами и на целесообразность включения биоавтографического метода определения НТ-2 токсина и Т-2 токсина к перечню обязательных методов анализа качества зерна и комбикормов.

Список литературы

- 1) Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana* / D. Masuda, M. Ishida, K. Yamaguchi [et al.] // J. Exp. Bot. — 2007. — Vol. 58, № 7. — P. 1617—1626.
- 2) Occurrence of type A trichothecenes in conventionally and organically produced oats and oat products / C. Gottschalk, J. Barthel, G. Engelhardt [et al.] // Mol. Nutr. Food Res. — 2007. — Vol. 51, № 12. — P. 1547—1553.
- 3) Natural occurrence of *Fusarium* toxins in soy food marketed in Germany / M. Schollenberger, H. M. Müller, M. Rühle [et al.] // Int. J. Food Microbiol. — 2007. — Vol. 113, № 2. — P. 142—146.
- 4) Trichothecene mycotoxins and their determinants in settled dust related to grain production / K. C. Nordby, A. S. Halstensen, O. Elen [et al.] // Ann. Agric. Environ. Med. — 2004. — Vol. 11, № 1. — P. 75—83.
- 5) Incidence of trichothecenes and zearalenone in poultry feed mixtures from Slovakia / R. Labuda, A. Parich, F. Berthiller [et al.] // Int. J. Food Microbiol. — 2005. — Vol. 105, № 1. — P. 19—25.
- 6) Adejumo T. O. Occurrence of *Fusarium* species and trichothecenes in Nigerian maize / T. O. Adejumo, U. Hettwer, P. Karlovsky // Int. J. Food Microbiol. — 2007. — Vol. 116, № 3. — P. 350—357.
- 7) el-Maghraby O. M. Mycoflora and *Fusarium* toxins of three types of corn grains in Egypt with special reference to production of trichothecene-toxins / el-O. M. Maghraby, I. A. el-Kady, S. Soliman // Microbiol. Res. — 1995. — Vol. 150, № 3. — P. 225—232.
- 8) Analysis of T-2 and HT-2 toxins in cereal grains by immunoaffinity clean-up and liquid chromatography with fluorescence detection / A. Visconti, V. M. Lattanzio, M. Pascale [et al.] // J. Chromatogr. A. — 2005. — Vol. 1075, № 1—2. — P. 151—158.
- 9) Визначення Т-2 і НТ-2 токсинів у зерні та комбікормах: Методичні рекомендації. Затверджено Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України від 30.12.2005., № 125 / [А. М. Котик, В. О. Труфанова, О. В. Труфанов та ін.]. - 2006.- 7 с.
- 10) Курманов И. А. К методике определения токсичности комбикормов, пораженных микроскопическими грибами / И. А. Курманов, Г. А. Таланов // Микотоксины: Тез. докл. регионального симпозиума. — Оренбург, 1977. — С. 99—101.
- 11) Ображей А. Ф. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів : Затвердж. Держ. департ. вет. мед. Мін.-ва АПК України від 06.03.1998., № 15-14/73 / Ображей А. Ф., Погрібняк Л. И., Корзуненко О. Ф.— Київ, 1998. — 108 с.
- 12) Бирман Б. А. Анализ климата северного полушария в 2004 году [Электронный ресурс]: Климат. Обзоры погодно-климатических

особенностей, наблюдавшихся в северном полушарии в 2001—2008 гг. / Б. А. Бирман, Е. В. Балашова. — Гидрометцентр России (Лаборатория статистического анализа гидрометеорологических полей), 2008 г. — Режим доступа : www.meteoinfo.ru/climate-analizes-2004

13) Park J. J. Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in field samples from the 1992 Wisconsin corn crop / J. J. Park, E. B. Smalley, F. S. Chu // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1996. — Vol. 62, № 5. — P. 1642—1648.

14) Eskola M. Trichothecenes, ochratoxin A and zearalenone contamination and *Fusarium* infection in Finnish cereal samples in 1998 / M. Eskola, P. Parikka, A. Rizzo // *Food Addit. Contam.* — 2001. — Vol. 18, № 8. — P. 707—718.

15) Further survey of the occurrence of *Fusarium* toxins in wheat grown in southwest Germany / H. M. Müller, J. Reimann, U. Schumacher [et al.] // *Arch. Tierernahr.* — 2001. — B. 54, № 2. — P. 173—182.

16) Evaluation of mycotoxin-contaminated cereals for their use in animal feeds in Hungary / P. Rafai, A. Bata, L. Jakab [et al.] // *Food Addit. Contam.* — 2000. — Vol. 17, № 9. — P. 799—808.

17) Stott W. T. Patulin: a mycotoxin of potential concern in foods / W. T. Stott, L. B. Bullerman // *J. Milk. Fd. Technol.* — 1975. — Vol. 38. — P. 695—705.