СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2015, том 50, № 2, с. 255-262

## Корма: проблема санитарного качества

*УДК 636.085.19:636.086.1/.3:632.4(470)* doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.255rus

# О НАКОПЛЕНИИ ЗЕАРАЛЕНОНА В ТРАВЯНЫХ КОРМАХ И ТОКСИНООБРАЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ РОДА *Fusarium*[*]

**А.А. БУРКИН[1], Г.П. КОНОНЕНКО[1], О.П. ГАВРИЛОВА[2], Т.Ю. ГАГКАЕВА[2]**

**Загрязненность кормов зеараленоном (ЗЕН) — метаболитом грибов рода *Fusarium* с эстрогенным действием служит причиной значительного экономического ущерба во многих животноводческих отраслях. К кормам, создающим реальную угрозу интоксикаций, относят пастбищные травы и корма из высушенных луговых растений, однако причины аномально высокого накопления этого микотоксина до сих пор остаются невыясненными. В настоящей работе изучена встречаемость и содержание ЗЕН в дикорастущих травяных растениях и сене, а также способность коллекционных штаммов 13 видов грибов *Fusarium* к его биосинтезу. Средние образцы сена были взяты от 120 партий, заготовленных в хозяйствах 30 районов Московской области в 2013 году. Дикорастущие растения (вейник, гребенник, душистый колосок, двукисточник, ежа, костер, мятлик, овсяница, полевица, пырей, тимофеевка, щетинник — всего 211 образцов) отобраны в Каширском, Ногинском и Рузском районах в июне—сентябре 2014 года. Образцы луговых трав (всего 427) были собраны также в Северной Карелии, Ленинградской, Тверской и Астраханской областях с 1998 по 2014 годы с разной повторяемостью по годам и видам растений. В этих выборках, наряду с повсеместно встречающимися травами (костер, мятлик, овсяница, пырей, тимофеевка), присутствовали растения локального распространения — вейник, двукисточник, ежа, полевица, тростник, колосняк, гребенник, овес, райграс, клевер, чина, горошек, вика, рожь, пампасская трава, щетинник, люцерна. Установлено, что неоднородный характер загрязненности зеараленоном с редкими случаями сверхвысокого содержания формируется в луговых травах к концу вегетации. Для заготовленного сена наблюдалось усиление контаминации ЗЕН как по частоте встречаемости, так и по степени накопления. Микотоксин был выявлен в 54 образцах из 120, более половины положительных образцов содержали его в количестве ниже 100 мкг/кг, но у остальных оно было на порядок выше, а в 13 % образцов составляло 1000-10000 мкг/кг. Показано, что при выращивании культур *F. graminearum*, *F. equiseti* и *F. semitectum* в течение 7 сут на полусинтетической агаризованной среде более 80 % штаммов образовывали ЗЕН, при этом доля высокоактивных продуцентов, синтезирующих его в количестве более 10000 нг/мл, составила соответственно 5, 15 и 44 %. Виды *F. cerealis*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae* уступали по этим показателям, а среди представителей *F. anguioides* и *F. langsethiae*, а также *F. heterosporum*, *F. chlamydosporum* и *F. kyushuense* продуценты не были найдены. Для единственного исследованного штамма *F. flocciferum* установлена высокая биосинтетическая активность с накоплением микотоксина в количестве 15500 нг/мл. Обсуждается участие грибов *Fusarium* с повышенной метаболической отзывчивостью на изменение внешних факторов в контаминации травяных кормов ЗЕН и возможность прогнозирования загрязненности сена по результатам обследования луговых трав.**

**Ключевые слова: травы, корма, сено, зеараленон, грибы *Fusarium*.**

Зеараленон (ЗЕН) как «эстрогенный кормовой фактор», образуемый грибами *Fusarium*, представляет серьезную угрозу для здоровья животных. Ситуации с массовым повреждением репродуктивных функций жвачных, лошадей и свиней были описаны в 1970-1980-е годы (1, 2), и подобные сообщения продолжают появляться (3). Частая встречаемость ЗЕН в высушенных травах была установлена в Сербии (4) и позднее — в Ирландии (5). При этом нередко отмечали случаи очень интенсивного накопления — до нескольких тысяч микрограммов на 1 кг сухого материала (1, 4). Похожую ситуацию мы наблюдали для сена из хозяйств европейской России: в большинстве образцов количество ЗЕН было ниже 100 мкг/кг, но в отдельных случаях оно превышало 1000 мкг/кг (6). Несмотря на реальную угрозу интоксикаций скота при использовании таких кормов, выяснению

[*] Исследование частично финансировано за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-16-00114).

причин столь высокой контаминации уделялось недостаточно внимания.

Нельзя исключать, что эффект аномального накопления мог быть вызван процессом напочвенного высушивания зеленой массы. На практике его условия неодинаковы и варьируют по продолжительности от нескольких суток до недель в зависимости от погодных и хозяйственно-организационных причин. Следовательно, первым шагом к пониманию этого феномена должно стать сравнение контаминации сырья перед заготовкой и по окончании сушки.

Целью нашей работы стало изучение встречаемости и содержания зеараленона в травостоях злаковых и бобовых культур в летне-осенний период и в сене разного ботанического состава, а также сравнительная оценка токсинообразующей способности грибов *Fusarium*, инфицирующих сельскохозяйственные растения.

*Методика.* Средние образцы сена были взяты от 120 партий, заготовленных в хозяйствах из 30 районов Московской области в 2013 году. Дикорастущие растения (вейник, гребенник, душистый колосок, двукисточник, ежа, костер, мятлик, овсяница, полевица, пырей, тимофеевка, щетинник — всего 211 образцов) отбирали в Каширском, Ногинском и Рузском районах в июне—сентябре 2014 года. Образцы луговых трав (всего 427 образцов) были собраны также в Северной Карелии, Ленинградской, Тверской и Астраханской областях с 1998 по 2014 годы с разной повторяемостью по годам и видам растений. В этих выборках, наряду с повсеместно встречающимися травами (костер, мятлик, овсяница, пырей, тимофеевка), присутствовали растения локального распространения — вейник (везде, кроме Северной Карелии), двукисточник (Северная Карелия, Ленинградская обл.), ежа (Ленинградская и Тверская области), полевица (Северная Карелия, Тверская обл.), тростник (Тверская и Астраханская области), а также найденные на отдельных территориях колосняк (Северная Карелия), гребенник, овес, райграс, клевер, чина, горошек, вика (Тверская обл.), рожь, пампасская трава, щетинник, люцерна (Астраханская обл.).

Свежесобранные образцы трав высушивали при 50 °С, измельчали ножницами, а затем размалывали на лабораторной мельнице. Подготовленный материал экстрагировали смесью ацетонитрила и воды в объемном соотношении 86:14 при расходе экстрагента 10 мл на 1 г навески.

В работе использовали штаммы 13 видов грибов *Fusarium* из коллекции лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского НИИ защиты растений (г. Санкт-Петербург). Инокулюм представлял собой 10-12-суточную моноспоровую культуру гриба, выращенную на картофельно-сахарозном агаре. В стерильные стеклянные флаконы с плоским дном, закрытые ватно-марлевыми пробками, вносили 1 мл картофельно-сахарозного агара и проводили посев инокулюма гриба. Для предотвращения высыхания питательной среды пробки флаконов оборачивали пленкой Parafilm (США). Через 7 сут (по окончании культивирования) во флакон добавляли по 1 мл смеси ацетонитрила и воды в объемном соотношении 86:14 и интенсивно встряхивали в начале и конце стационарной 14-16-часовой экстракции. При сравнительной оценке токсинообразующей способности видов *Fusarium* и дифференциации культур по интенсивности токсинообразования применяли терминологию, предложенную в специальной литературе (7, 8).

Содержание ЗЕН определяли с помощью коммерческой тест-системы для непрямого конкурентного иммуноферментного анализа Зеараленон-ИФА (Россия), которая обеспечивала нижний предел определе-

ния 20 мкг/кг в растительных объектах и 4 нг/мл — в мицелиально-споровой биомассе грибов (9).

*Результаты.* В течение всего периода наблюдений с июня по сентябрь в вегетирующих луговых травах ЗЕН встречался с частотой 18 % (38 образцов из 211) и в основном в количествах ниже 100 мкг/кг. Тем не менее, в 18 % образцов от числа положительных его содержание было существенно выше с предельно достигаемым значением 5760 мкг/кг (табл. 1). Интересно, что по месяцам сбора при варьировании частоты встречаемости этого микотоксина от 10,6 до 27,3 % наблюдалось его постепенное накопление. Так, в июне содержание ЗЕН было ниже 100 мкг/кг. В июле отмечали единичные случаи, когда значения превышали 100 мкг/кг, а в августе и сентябре появились образцы, содержащие более 1000 мкг/кг этого фузариотоксина. Иными словами, неоднородный характер загрязненности ЗЕН с редкими случаями сверхвысокого накопления формировался в луговых травах к концу вегетации. Значительное содержание ЗЕН было выявлено у пырея, тимофеевки и мятлика, что свидетельствует в пользу микогенной, а не фитогенной природы этого феномена.

1. **Встречаемость и содержание зеараленона в луговых травах и заготовленном сене** (Московская обл., 2013-2014 годы)

| Объект, время сбора, число образцов | *n*+ | *n*+, содержание зеараленона | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 20-100 мкг/кг | > 100 мкг/кг | > 1000 мкг/кг |
| Луговые травы (*n* = 211): | 38 | 31<br>(25-99) | 3<br>(117-146) | 4<br>(1060-5750) |
| июнь, *n* = 92 | 16 | 16<br>(27-56) | – | – |
| июль, *n* = 55 | 15 | 12<br>(52-99) | 3<br>(117, 126, 146) | – |
| август, *n* = 47 | 5 | 2<br>(25, 26) | – | 3<br>(1060, 2000, 5760) |
| сентябрь, *n* = 17 | 2 | 1<br>79 | – | 1<br>1520 |
| Сено, *n* = 120 | 54 | 30<br>(20-89) | 17<br>(100-870) | 7<br>(1320-10000) |

Примечание. *n* — число проанализированных образцов, *n*+ — число образцов, содержащих токсин. Прочерк означает, что положительных проб не обнаружили. В скобках указано содержание зеараленона (минимум-максимум).

Характер контаминации сена, судя по результатам анализа образцов от 120 производственных партий, оказался аналогичным описанному ранее на сборной выборке с разных территорий (6). В основном загрязнение микотоксином было умеренным, но сопровождалось отдельными случаями высокого накопления токсина. Всего ЗЕН выявили в 45 % образцов, при этом более половины из них содержали меньше 100 мкг/кг, в остальных количество микотоксина было на порядок больше, а в 13 % оно превышало 1000 мкг/кг. В одной пробе сена из многолетних трав этот показатель достигал 10000 мкг/кг. Случай такого же сверхвысокого загрязнения сена ЗЕН ранее описан финскими учеными (1). В Словении при обследовании высушенного травостоя кукурузы этот токсин встречался в количествах 200-700 мкг/кг, изредка — более 10000 мкг/кг (4).

Результаты, полученные на материале с одной и той же территории в разные сезоны, свидетельствовали о том, что в целом характер контаминации вегетирующих и заготовленных на корм трав имел черты сходства: при средних показателях встречаемости преобладало низкое содержание ЗЕН, сопровождавшееся накоплением значительного количества микотоксина в некоторых образцах.

Состояние травостоев во второй половине вегетации на конкретной территории может служить ориентиром в оценке риска загрязнения

токсином сухих травяных кормов. В этой связи интересны результаты, полученные по другим ареалам. Так, при анализе дикорастущих злаков из Северной Карелии и Ленинградской области ($n$ = 177) не было зафиксировано ни одного случая обнаружения ЗЕН. В Тверской области в июле 2011 года, а также в июле и сентябре 2014 года контаминация оказалась слабо выраженной — только в 12 пробах из 100 при количестве 45-105 мкг/кг. Напротив, в Астраханской области ($n$ = 150) уже в первых сборах в сентябре 1999-2000 годов отмечали высокую загрязненность тростника — 767, 3020 и 10000 мкг/кг. В 2005 и 2009 годы были выявлены единичные положительные образцы. К сожалению, мы не имели возможности провести подобные обследования в Брянской области, где впервые установлена высокая загрязненность сена — до 2000 мкг/кг (6). Отметим, что для прогнозирования конкретной ситуации по каждой территории необходимы репрезентативные выборки растений, составляющих основу естественных местных травостоев.

Несмотря на явное сходство между вегетирующими и высушенными на корм растениями, в сене наблюдалось возрастание частоты выявления ЗЕН, а также доли образцов с высокой степенью контаминации и предельным накоплением. Вероятно, это связано с активацией метаболизма грибов, способных к биосинтезу микотоксина, в процессе провяливания и высушивания. В частности, L.E. Taffarel с соавт. показали (10), что содержание ЗЕН выше в траве, высушенной на солнце при резкой смене дневных и ночных температур, а не в тени (10).

В заражении растений может участвовать значительное число видов *Fusarium*. Изучению их токсигенности посвящено много работ (11, 12), однако в отношении потенциала образования ЗЕН полной ясности пока нет и какие-либо однозначные выводы делать преждевременно. Оценочные эксперименты проведены в основном при выращивании грибов на стерилизованных зерновых субстратах при 15-27 °С в течение нескольких недель. Установлено, что этот токсин с разной интенсивностью продуцировали представители 8 видов: *F. graminearum* Schwabe, *F. culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *F. sporotrichioides* Sherb., *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. arthrosporioides* Sherb., *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. langsethiae* Torp et Nirenberg, *F. tricinctum* (Corda) Sacc., наиболее распространенных в зерне в Финляндии (13, 14). Тем не менее, среди штаммов *F. culmorum*, *F. equiseti* (Corda) Sacc. и *F. avenaceum*, выделенных из всходов озимой пшеницы в Московской области, продуценты выявлены не были (15). У видов, инфицирующих зерно в том же регионе, ЗЕН в небольших количествах найден только у 3 изолятов *F. culmorum* из 11, а среди *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae* продуцентов не оказалось (16). *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. acuminatum* Ellis et Everh. в составе микобиоты зерна из других областей характеризовались низким накоплением этого метаболита (17, 18). Среди 76 изолятов *F. graminearum*, которые были получены из фузариозного зерна, выращенного в Краснодарском крае, более половины образовывали ЗЕН (19).

В последние годы для сравнительной оценки токсинообразования грибов все чаще используется новый альтернативный подход, состоящий в краткосрочном культивировании штаммов на жидких или агаризованных средах (8). Один из вариантов (выращивание в течение 7 сут на картофельно-сахарозном агаре при 23-24 °С) использован в настоящей работе. Для исследования были отобраны 13 видов *Fusarium*, для 9 из которых объем выборки составил от 14 до 74 штаммов. Результаты показали, что большинство представителей *F. graminearum* (61 из 74) продуцировали ЗЕН в количестве 23-41200 нг/мл среды (табл. 2). В пределах этого диапа-

зона они распределялись неравномерно, и доля изолятов с накоплением микотоксина более 10000 нг/г оказалась равной 5 %. Потенциал токсинообразования у *F. equiseti* составил 100 % с интенсивностью 50-39810 нг/мл и увеличением числа высокоактивных штаммов до 15 %. Вид *F. semitectum* Berk. & Ravenel [син. *F. incarnatum* (Desm.) Sacc.] с примерно таким же потенциалом, как у *F. graminearum* (90,0 % в сравнении с 82,4 %), характеризовался значительно большей долей высокоактивных продуцентов (44 %), которые могли образовавывать микотоксин в количестве более 100000 нг/мл.

**2. Количество зеараленона, продуцируемое коллекционными штаммами *Fusarium* при 7-суточном культивировании на картофельно-сахарозном агаре при 23-24 °С** (лабораторный опыт)

| Вид *Fusarium* | *n*+/*n* | *n*+, количество зеараленона | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 10 нг/мл | 100 нг/мл | 1000 нг/мл | 10000 нг/мл |
| *F. graminearum* | 61/74 | 12 (2-70) | 32 (105-813) | 14 (1100-7080) | 3 (11480, 12880, 41200) |
| *F. equiseti* | 14/14 | 1 50 | 4 (170-830) | 7 (1050-3470) | 2 (12590, 39810) |
| *F. semitectum* | 27/30 | - | 11 (130-880) | 4 (1260-5125) | 12 (16220-181970) |
| *F. cerealis* | 18/26 | 4 (30-80) | 13 (100-795) | 1 (1260) | – |
| *F. culmorum* | 15/16 | 5 (40-80) | 10 (157-616) | – | – |
| *F. sporotrichioides* | 3/43 | 2 (11, 19) | 1 (190) | – | – |
| *F. poae* | 3/46 | 3 (10, 12, 40) | – | – | – |

Примечание. *n* — число проанализированных образцов мицелиально-споровой биомассы гриба, *n*+ — число образцов, содержащих зеараленон. Прочерк означает, что положительных образцов не обнаружили. В скобках указано содержание зеараленона (минимум-максимум).

У *F. cerealis* (Cooke) Sacc. и *F. culmorum* частота обнаружения ЗЕН была достаточно высокой при его содержании в основном от 100 до 1000 нг/мл. В сопоставимых по объемам выборках *F. sporotrichioides* и *F. poae* лишь редкие штаммы образовывали этот токсин и, как правило, в низких концентрациях (10-40 нг/мл). Среди представителей видов *F. anguioides* Sherb. ($n$ = 20) и *F. langsethiae* ($n$ = 17) продуцентов не оказалось.

В немногих доступных для обследования культурах *F. heterosporum* Nees et T. Nees ($n$ = 6), *F. chlamydosporum* Wollenw. & Reinking ($n$ = 2) и *F. kyushuense* O'Donnell & T. Aoki ($n$ = 2) ЗЕН не обнаружили. Для единственного исследованного штамма *F. flocciferum* Corda была установлена высокая активность биосинтеза этого метаболита (15500 нг/мл).

Исходя из полученных результатов, к числу возможных источников накопления ЗЕН в травах могут быть отнесены *F. graminearum*, *F. equiseti* и *F. semitectum.* Интересно заметить, что из тростника в Астраханской области, интенсивно контаминированного ЗЕН, были получены изоляты *Fusarium* sp., предположительно принадлежащие к виду *F. graminearum* и активно продуцирующие этот метаболит как на зерновом субстрате, так и на агаризованной среде. При микологическом анализе пробы сена из Брянской области, содержащей токсин в количестве 2000 мкг/кг, также получили изолят того же вида. Ранее было показано, что при понижении температуры инкубации до 22 °С способность к накоплению ЗЕН у *F. graminearum* существенно возрастает (20). Возможно, он особенно подвержен изменению метаболических путей под влиянием условий развития. Ясность в эту проблему может внести изучение генных механизмов регуляции биосинтеза ЗЕН у *F. graminearum*, проводимое в последнее время (21, 22).

Уточнение видового состава и биосинтетических возможностей

грибов *Fusarium,* представленных в микобиоте травяных культур, остается задачей будущих исследований. В этой связи большое значение имеет идентификация составляющих ее организмов с учетом последних достижений в области хемотаксономической и молекулярно-генетической дифференциации грибов (23, 24), а также изучение факторов, под влиянием которых возможна активация соответствующих участков геномов.

Таким образом, для вегетирующих луговых растений и сена установлены черты сходства и различия по частоте встречаемости и содержанию зеараленона — фузариотоксина с эстрогенным действием, а также обозначены основные методологические подходы, необходимые для выяснения причин, вызывающих интенсивное накопление микотоксина в травяных кормах. Решение этой проблемы позволит устранить или существенно снизить угрозу микогенных интоксикаций, приводящих к нарушению репродуктивной функции животных.

*Авторы выражают признательность руководству Главного управления ветеринарии Московской области и сотрудникам районных станций по борьбе с болезнями животных за организацию отбора образцов сена для исследования.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kallela K., Ettala E. The estrogenic fusarium toxin (zearalenone) in hay as a cause of early abortions in the cow. Nordisk Veterinaermedicin, 1984, 36(9/10): 305-309.
2. Di Menna M.E., Lauren D.R., Poole P.R., Mortimer P.H., Hills R.A., Agnew M.P. Zearalenone in New Zealand pasture herbage and the mycotoxins-producing potential of *Fusarium* spp. from pasture. New Zealand J. Agric. Res., 1987, 30(4): 499-504 (doi: 10.1080/00288233.1987.10417963).
3. Wallgren P., Sjölund M., Hulten C., Nordkvist E., Häggblom P. Increased occurrence of *Fusarium* mycotoxins in this year's harvest. Svensk Veterinärtidning, 2011, 63(15): 35-37.
4. Kordic B., Panin M., Kandic S., Lončarevic A., Muntaňola-Cvetkovic M. Results of a three year microbiological and mycotoxicological examination of feeds in SR of Serbia. Proc. II Simpozijum o mikotoksinima. Sarajevo, 1986: 17-28.
5. Buckley T., Creighton A., Fogarti U. Analysis of Canadian and Irish forage, oats and commercially available equine concentrate feed for pathogenic fungi and mycotoxins. Ir. Vet. J., 2007, 60: 231-236 (doi: 10.1186/2046-0481-60-4-231).
6. Кононенко Г.П., Буркин А.А. О контаминации микотоксинами партий сена в животноводческих хозяйствах. Сельскохозяйственная биология, 2014, 4: 120-126 (doi: 10.15389/agrobiology.2014.4.120rus, 10.15389/agrobiology.2014.4.120eng).
7. Varga J., Rigo K., Lamper C., Teren J., Szabo G. Kinetics of ochratoxin A production in different *Aspergillus* species. Acta Biologica Hungarica, 2002, 53(3): 381-388.
8. Кононенко Г.П., Буркин А.А. Совершенствование методологии оценки токсинообразования у микроскопических грибов. Иммунология, аллергология, инфектология, 2010, 1: 195-196.
9. Буркин А.А., Кононенко Г.П., Соболева Н.А. Получение и аналитические свойства антител с высокой специфичностью к зеараленону. Прикладная биохимия и микробиология, 2002, 38(3): 305-311.
10. Taffarel L.E., Mesquita E.E., Castagnara D.D., Costa P.B., Neres M.A., Horn M.B., Oliveira P.S.R., Meinerz C.C. Dehydration curve, fungi and mycotoxins in Tifton 85 hay dehydrated in the field and in shed. Revista Brasileira de Zootecnia, 2013, 42(6): 395-403 (doi: 10.1590/S1516-35982013000600003).
11. Marasas W.F.O. Toxigenic fusaria. In: Mycotoxins and animal foods /J.E. Smith, R.S. Henderson (eds.). Boca Raton, USA, 1991: 119-139.
12. Leslie J.F., Summerell B.A. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, 2006.
13. Jestoi M., Paavanen-Huhtala S., Uhlig S., Rizzo A., Yli-Mattila T. Mycotoxins and cytotoxicity of Finnish *Fusarium* strains grown on rice cultures. Proc. 2nd Int. Symp. on *Fusarium* head blight incorporating the 8th European Fusarium Seminar /S.M. Canty, T. Boring, J. Wardell, R.W. Ward (eds.). Orlando, FL, USA, 2004: 405-409.
14. Jestoi M., Paavanen-Huhtala S., Parikka P., Yli-Mattila T. In vitro and in vivo mycotoxin production of *Fusarium* species isolated from Finnish grains. Arc. Phytopath. Plant Protect., 2008, 41(8): 545-558 (doi: 10.1080/03235400600881547).
15. Кононенко Г.П., Малиновская Л.С., Пирязева Е.А., Соболева Н.А. Видовой состав и токсигенность возбудителей фузариоза всходов пшеницы в Москов-

ской области. Микология и фитопатология, 1998, 32(4): 37-41.
16. Кононенко Г.П., Малиновская Л.С., Соболева Н.А., Пирязева Е.А., Зотова Е.В., Шалыганова О.Н. Распространенность и токсинообразующие свойства грибов рода *Fusarium*, поражающих зерно хлебных злаков в Московской области. Микология и фитопатология, 1999, 33(2): 118-124.
17. Кононенко Г.П. Система микотоксикологического контроля объектов ветеринарно-санитарного и экологического надзора. Автореф. докт. дис. М., 2005.
18. Токарев С.В., Кононенко Г.П., Соболева Н.А., Буркин А.А. Токсинообразование популяций *Fusarium poae*, поражающих зерно хлебных злаков в Уральском и Западно-Сибирском регионах. Сельскохозяйственная биология, 2009, 1: 89-92.
19. Леонов А.Н., Малиновская Л.С., Соболева Н.А., Кононенко Г.П. Токсигенность изолятов *Fusarium graminearum* Schw. из зерна фузариозной пшеницы в Краснодарском крае. Доклады ВАСХНИЛ, 1990, 11: 21-26.
20. Леонов А.Н., Кононенко Г.П., Соболева Н.А., Малиновская Л.С. Изучение токсиногенеза *Fusarium graminearum* Schwabe при пониженной температуре культивирования. Микология и фитопатология, 1994, 28(1): 60-63.
21. Kim J.E., Han K.H., Jin J., Kim H., Kim J.C., Yan S.H., Lee Y.W. Two different polyketide synthase genes are required for synthesis of zearalenone in *Gibberella zeae*. Mol. Microbiol., 2005, 58: 1102-1113.
22. Lisøe E., Klemsdal S.S., Bone K.R., Flandsen R.J.N., Johansen T., Thrane U., Giese H. The PKS4 gene of *Fusarium graminearum* is essential for zearalenone production. Appl. Environ. Microbiol., 2006, 72(6): 3924-3932 (doi: 10.1128/AEM.00963-05).
23. Kosiak E.B., Holst-Jensen A., Rundberget T., Gonzalez J.M.T., Torp M. Morphological, chemical and molecular differentiation of *Fusarium equiseti* isolated from Norwegian cereals. Int. J. Food Microbiol., 2005, 99: 195-206.
24. Гагкаева Т.Ю. Классификация грибов рода *Fusarium* — дискуссия длиною в двести лет. В сб.: Микология сегодня. Т. 2. М., 2011: 14-29.

*[1]ФГБНУ Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии,*
123022 Россия, г. Москва, Звенигородское ш., 5,
e-mail: kononenkogp@mail.ru;
*[2]ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений,*
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин,
ш. Подбельского, 3,
e-mail: t.gagkaeva@mail.ru

*Поступила в редакцию 3 сентября 2014 года*

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya/Agricultural Biology*, 2015, V. 50, № 2, pp. 255-262

# ABOUT ZEARALENONE LEVELS IN GRASS FODDERS AND TOXINE PRODUCING ACTIVITY OF *Fusarium* FUNGI

*A.A. Burkin[1], G.P. Kononenko[1], O.P. Gavrilova[2], T.Yu. Gagkaeva[2]*

[1]*All-Russian Research Institute of Sanitary, Hygiene and Ecology,* Federal Agency of Scientific Organizations, 5, Zvenigorodskoe sh., Moscow, 123022 Russia, e-mail kononenkogp@mail.ru;
[2]*All-Russian Research Institute of Plant Protection,* Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail t.gagkaeva@mail.ru
Supported in part by Russian Science Foundation (project № 14-16-00114)
*Received September 3, 2014* doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.255eng

## Abstract

Zearalenone, the *Fusarium* fungi metabolite with an estrogenic effect, can lead to significant economic losses in livestock due to fodder contamination. Pasture herbage and fodders from dried pasture plants can really cause intoxication. However, the reasons and mechanism of abnormally high accumulation of zearalenone in these fodders are not still found out. In this article we summarized the data on investigation of frequency and the level of zearalenone contamination in wild herbage and in hay. Also the ability to produce this mycotoxin was studied in vitro in 13 *Fusarium* strains from laboratory collection. Hay samples from different farms of 30 regions in Moscow Province were prepared from 120 hay batches in 2013. A total of 211 samples of wild herbage including (*Calamagrostis*, dogstail grass, *Anthoxanthum*, reed canary grass, hedgehog, fire, bluegrass, fescue, bentgrass, bluegrass, timothy, foxtail) were collected in Kashirskii, Noginskii and Ruzskii regions of Moscow Province in 2014 from June to September. A total of 427 samples of pasture grasses were also repeatedly collected in North Karelia, Leningradskaya, Tverskaya and Astrakhanskaya provinces from 1998 to 2014 at different frequency for different plant species. In these samples,

along with commonly grown grasses such as *Bromus*, bluegrass, fescue, bluegrass, timothy, some local plants were found, particularly reed, reed canary grass, hedgehog, bent grass, reeds, Leymus, dogtail grass, oats, ryegrass, clover, rank, peas, vetch, rye, pampasskaya grass, foxtail, alfalfa. An uneven zearalenone contamination of pasture grasses with rare overcontamination cases was shown to occur to the end of vegetation. In hay an increased frequency and more high level of contamination were found. The mycotoxin was detected in 54 samples of 120 those tested, and more than a half of them contained zearalenone at the level below 100 μg/kg, while the rest samples contained toxin at 1000 μg/kg, and in 13 % of the samples tested the contamination reached 1000 to 10000 μg/kg. After 7 day cultivation of *F. graminearum*, *F. equiseti* and *F. semitectum* on semi-synthetic agar medium more that 80 % of strains produced zearalenone, and the rate of strains with the high production reaching more than 10000 ng/ml was 5, 15 and 44 %, respectively. *F. cerealis*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae* seemed to be less active producers, and among *F. anguioides* and *F. langsethiae*, as well as *F. heterosporum*, *F. chlamydosporum* and *F. kyushuense* the zearalenone producers were not found. In a strain of *F. flocciferum* which was tested a high biosynthetic ability and accumulation of zearalenoine at 15 500 ng/ml were detected. An involvement of *Fusarium* fungi having more pronounced metabolic response to environment changes in contamination of grass fodder with zearalenone is discussed. Also the possibility of forecasting hay contamination basing on pasture survey is under consideration.

Keywords: grasses, fodders, hay, zearalenone, *Fusarium* fungi.

---

***Адрес сайта журнала в Интернете — www.agrobiology.ru***
***Статьи, события, информация — 7500 просмотров за месяц***
***73 % — посетители из России, около 7 % — из США и Канады, 20 % — из других стран***