

ПРИЧИНЫ КОНТАМИНАЦИИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПАРТИЙ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА (*Helianthus annuus* L.) МИКОТОКСИНАМИ**А.А. БУРКИН, М.И. УСТЮЖАНИНА, Е.В. ЗОТОВА, Г.П. КОНОНЕНКО**

В последние годы в нашей стране отчетливо прослеживается тенденция к устойчивому росту масштабов производства подсолнечного масла. Для побочной продукции маслобойных и маслоэкстракционных отраслей — жмыхов и шротов, которые традиционно востребованы как ценное сырье для комбикормов, в процессе многолетнего мониторинга установлены высокие риски контаминации микотоксинами (Г.П. Кононенко с соавт., 2018). В числе возможных причин чаще всего называют нарушения технологии производства и хранения конечной продукции, однако проблема санитарного качества масляных семян, поступающих от сельхозпроизводителей, остается без внимания. Целью работы стало сравнение контаминации микотоксинами основных семян и сорной примеси в производственных партиях, предназначенных для выработки подсолнечного масла. Средние образцы масляных семян из хозяйств Белгородской, Воронежской, Курской и Липецкой областей урожая 2016 года фракционировали на семена и сорную примесь (по ГОСТ 22391-2015) для отдельного изучения характера их контаминации. Также обследовали партию семян, складированную после уборки в два отсека, в одном из которых произошло отключение вентиляционной системы и, как следствие, возникли очаги самосогревания. Кроме того, анализировали вегетирующие растения подсолнечника, отобранные в июне-сентябре 2016 и 2017 годов в подсобных хозяйствах Московской, Тверской, Воронежской и Ростовской областей. Наземные части ($n = 65$) срезали на высоте 5 см от поверхности почвы, высушивали в затененном проветриваемом помещении и размельчали цельными. Другую часть растений ($n = 29$) перед разломом разделяли на листья, стебли и корзинки. В группе микотоксинов, определяемых методом иммуноферментного анализа, были Т-2 токсин (Т-2), дицетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зерареленон (ЗЕН), фумонизины (ФУМ), альтернариол (АОЛ), афлатоксин В₁ (АВ₁), стеригматоцистин (СТЕ), циклопиазоновая кислота (ЦПК), эмодин (ЭМО), охратоксин А (ОА), шитринин (ЦИТ), микофеноловая кислота (МФК), PR-токсин (PR) и эргоалкалоиды (ЭА). В семенах практически повсеместно встречался АОЛ, несколько реже — МФК и ЭМО, остальные микотоксины не обнаружены. Напротив, в примесях, наряду с АОЛ, ЭМО и МФК, достаточно часто содержались фузариотоксины (Т-2, ДАС, ЗЕН), несколько реже — ЦПК и ЦИТ, в немногих случаях — ДОН, СТЕ, ЭА и PR. Диапазоны содержания АОЛ, ЭМО и МФК были заметно шире и средние значения по выборке достоверно превышали найденные в семенах. Впервые описанный факт множественной и интенсивной контаминации сорной примеси имеет важное практическое значение, поскольку экспериментально обосновывает необходимость тщательной очистки семян подсолнечника, поставляемых на дальнейшую переработку. В дополнительных экспериментах с вегетирующими растениями подсолнечника показано наибольшее содержание микотоксинов в листьях и корзинках по сравнению со стеблями. Установлено резкое возрастание накопления микотоксинов как в семенах, так и в примесях в условиях самосогревания, обсуждается роль грибов родов *Alternaria* и *Penicillium* в процессах порчи собранного урожая.

Ключевые слова: *Helianthus annuus*, подсолнечник, семена, сорная примесь, микотоксины, *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, иммуноферментный анализ.

Семена подсолнечника масличного (*Helianthus annuus* L.), возделываемого во многих странах, широко используются для получения пищевого масла. В то же время в разных ареалах на основе обобщенных данных о контаминации микотоксинами семян и продуктов их переработки подтверждены реальные риски воздействия этих токсикантов на организм человека (1-4). Учитывая частую встречаемость и высокое содержание альтернариотоксинов, обладающих генотоксическим эффектом, семена и подсолнечное масло относят к продуктам, создающим серьезную угрозу здоровью населения (5-7).

В России, где сосредоточено около 70 % мировых посевов подсолнечника, масштабы производства подсолнечного масла в последние годы демонстрируют тенденцию к устойчивому росту. Для жмыхов и шротов — побочной продукции предприятий маслобойных и маслоэкстракционных отраслей, которые традиционно востребованы как ценное сырье при произ-

водстве комбикормов, в процессе многолетнего мониторинга установлена значительная загрязненность микотоксинами (4). В числе ее возможных причин чаще всего называют нарушения технологических схем при переработке семян, транспортировке и хранении конечной продукции на предприятиях, однако проблема санитарного качества масличных семян, поступающих от сельхозпроизводителей, остается без внимания.

В настоящей работе при микотоксикологической оценке производственных партий масличных семян подсолнечника мы впервые определили характер контаминации основных семян и выявили повышенное накопление микотоксинов в сорной примеси. Эксперимент с вегетирующим подсолнечником перед уборкой урожая позволил показать, что основной вклад в контаминацию примеси вносят фрагменты корзинок и листьев растений. Новые данные по резкому усилению загрязненности микотоксинами партий семян, подвергшихся самосогреванию, представляют особый интерес, поскольку информация о степени реализации потенциала токсинообразования грибами-продуцентами в таких условиях весьма ограничена.

Целью работы стало сравнение контаминации микотоксинами основных семян и сорной примеси в производственных партиях, предназначенных для выработки подсолнечного масла.

Методика. Исследование выполняли на средних образцах от 19 партий масличных семян подсолнечника (*Helianthus annuus* L.), произведенных на сельхозпредприятиях Белгородской, Воронежской, Курской и Липецкой областей в 2016 году. Перед анализом образцы от каждой партии фракционировали на основные семена и сорную примесь, разделяя мелкую часть (весь проход через сито с отверстиями диаметром 3,0 мм) и органическую примесь (лузгу, остаток листьев, стеблей, корзинок) из остатка на сите (8).

При микологическом анализе образцов из партии семян, складированной после уборки в два отсека, в одном из которых были нарушены условия хранения, инкубировали поверхностно стерилизованные семена и размол нестерилизованных семян на питательной среде с последующим выделением и видовой идентификацией грибов *Alternaria* и *Penicillium* по культурально-морфологическим признакам (9, 10). Токсинообразование у типичных штаммов оценивали после культивирования на агаризованной среде с экстрактом солода (malt extract agar, МЕА, «Liofilchem», Италия) (11) в темноте при 25 °С в течение 7 сут.

Для анализа вегетирующих растений подсолнечника их отбирали в июне-сентябре 2016 и 2017 годов в подсобных хозяйствах Московской, Тверской, Воронежской и Ростовской областей. Наземные части ($n = 65$) срезали на высоте 5 см от поверхности почвы, высушивали в затененном проветриваемом помещении и размельчали цельными. Другую часть растений ($n = 29$) перед размолом разделяли на листья, стебли и корзинки.

В группе микотоксинов, определяемых методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих и аттестованных исследовательских тест-систем (12, 13), были Т-2 токсин (Т-2), диацетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон (ЗЕН), фумонизины (ФУМ), альтернариол (АОЛ), афлатоксин В₁ (АВ₁), стеригматоцистин (СТЕ), циклопиазоновая кислота (ЦПК), эмодин (ЭМО), охратоксин А (ОА), цитринин (ЦИТ), микофеноловая кислота (МФК), PR-токсин (PR) и эргоалкалоиды (ЭА).

Статистическую обработку результатов количественного определения микотоксинов проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (14) с использованием программы R version 3.4.3 (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.4.3/>) (15). Различия между средними (M)

оценивали по уровню значимости $p = 0,05$.

Результаты. Средние образцы от производственных партий семян подсолнечника были фракционированы на основные семена и сорные примеси для раздельного изучения характера их контаминации (табл. 1).

1. Встречаемость (n^+) и содержание микотоксинов (мкг/кг) в основных семенах и сорной примеси в партиях масличных семян подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) (Белгородская, Воронежская, Курская, Липецкая обл., 2016 год)

Микотоксин	Основные семена ($n = 19$)	Сорная примесь	
		органическая примесь ($n = 19$)	мелкая часть ($n = 18$)
Т-2	—	15 (3-11-100) ^a	18 (2-12-100) ^a
ДОН	—	1 (1000)	2 (79, 1000)
ДАС	—	14 (145-250-395) ^a	15 (130-305-935) ^a
ЗЕН	1 (15)	15 (25-34-50) ^a	16 (25-37-63) ^a
ФУМ	1 (79)	—	—
ЭА	—	1 (6)	4 (2-7-16)
АОЛ	15 (21-450-3080) ^a	19 (40-2390-7940) ^b	18 (44-1800-5620) ^b
АВ ₁	—	—	—
СТЕ	—	2 (9, 12)	1 (20)
ЦПК	1 (200)	9 (77-145-250) ^a	7 (64-135-250) ^a
ЭМО	8 (12-42-125) ^a	17 (130-825-1620) ^b	17 (50-415-795) ^c
ОА	—	—	1 (9)
ЦИТ	—	12 (25-44-94)	6 (21-32-43)
МФК	6 (12-28-53) ^a	16 (16-245-2400) ^b	15 (27-260-1050) ^b
PR	—	4 (230-360-645)	2 (235, 300)

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диацетоксицирпенол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ₁ — афлатоксин В₁, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопизоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микофеноловая кислота, PR — PR-токсин; n — число исследованных проб. Число положительных проб n^+ указано перед скобками, в скобках приведено минимальное-среднее-максимальное содержание микотоксинов в положительных пробах. Прочерк означает, что положительных проб не обнаружили. В одной строке для значений с неодинаковыми надстрочными индексами (a, b, c) различия статистически значимы при $p = 0,05$.

Из 15 исследуемых микотоксинов в семенах практически повсеместно встречался АОЛ, реже — МФК и ЭМО, в единичных пробах — ЗЕН, ФУМ и ЦПК. Напротив, в сорной примеси, наряду с АОЛ, ЭМО и МФК, достаточно часто содержались фузариотоксины (Т-2, ДАС, ЗЕН), несколько реже — ЦПК и ЦИТ, в немногих случаях — ДОН, СТЕ, ЭА и PR. Существенных различий по характеру контаминации органической примеси и мелкой части у большинства микотоксинов не отмечалось. Диапазоны содержания АОЛ, ЭМО и особенно МФК в примесях были заметно шире и по средним значениям достоверно превышали показатели у семян. Впервые описанный факт множественной и интенсивной контаминации сорной примеси имеет важное практическое значение, поскольку экспериментально обосновывает необходимость тщательной очистки семян подсолнечника, поставляемых на дальнейшую переработку.

Представляло интерес выявить, какие части растений, попадающие к семенам при уборке, вносят основной вклад в контаминацию. Для этого мы изучили компонентный состав микотоксинов в наземных частях, а также листьях, корзинках и стеблях вегетирующего подсолнечника (табл. 2). Контаминация растений была множественной, чаще всего встречались ЦПК, ЭА, АОЛ, ЭМО, далее следовали СТЕ, ЦИТ, МФК, реже других — ОА и PR, из фузариотоксинов были выявлены Т-2 и ДАС с частотой 14/65 и 24/65. Если к накоплению Т-2, ДАС и АОЛ вполне могли быть причастны фитопатогенные грибы *Fusarium* и *Alternaria*, то практически постоянное обнаружение в образцах ЦПК, ЭА и ЭМО, по-видимому, связано с представителями родов *Aspergillus* и *Penicillium* (16-18). Они нередко сопутствуют возбудителям грибных заболеваний подсолнечника в весьма незначительном количестве (19), однако их роль в продуцировании токсинов еще предстоит оценить.

2. Встречаемость (n^+) и содержание микотоксинов (мкг/кг) в листьях, корзинках, стеблях и целых растениях подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) (Московская, Тверская, Воронежская, Ростовская обл., 2016 и 2017 годы)

Микотоксин	Целые растения ($n = 65$)	Части растений ($n = 29$)		
		листья	корзинки	стебли
Т-2	14 (2-6-20)	23 (2-3-6) ^a	16 (2-15-145) ^a	1 (2)
ДАС	24 (97-165-265)	25 (130-265-645) ^a	9 (130-205-315) ^a	—
ДОН	—	2 (76, 100)	—	—
ЗЕН	—	4 (28-34-39) ^a	5 (26-29-33) ^a	—
ФУМ	—	—	—	—
ЭА	52 (2-14-60)	22 (2-14-100)	—	2 (2, 3)
АОЛ	42 (14-32-91)	23 (12-40-100) ^a	14 (15-110-775) ^a	3 (20-200-415)
АВ ₁	—	1 (2)	1 (4)	—
СТЕ	17 (12-14-25)	11 (10-16-27)	1 (25)	—
ЦПК	64 (89-235-500)	29 (130-415-980) ^a	20 (50-150-400) ^b	4 (115-130-140)
ЭМО	27 (19-37-10)	26 (25-47-100) ^a	17 (20-61-225) ^a	2 (26, 30)
ОА	7 (4-5-7)	3 (5-5-6)	1 (6)	—
ЦИТ	12 (32-42-50)	16 (29-44-63)	4 (21-42-60)	—
МФК	15 (15-52-225)	11 (13-21-35) ^a	11 (13-42-215) ^a	2 (13, 36)
PR	9 (150-180-265)	20 (130-300-500)	4 (135-195-260)	—

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диацетоксицирипеннол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ₁ — афлатоксин В₁, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — ократоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микофеноловая кислота, PR — PR-токсин; n — число исследованных проб. Число положительных проб n^+ указано перед скобками, в скобках приведено минимальное-среднее-максимальное содержание микотоксинов в положительных пробах. Прочерк означает, что положительных проб не обнаружили. В одной строке для значений с неодинаковыми надстрочными индексами (a, b) существенно различаются при $p = 0,05$.

В листьях и корзинках комплекс основных контаминантов в целом соответствовал установленному для целых растений, а в стеблях токсичные метаболиты обнаруживались крайне редко (см. табл. 2). Эти результаты соответствовали опубликованным ранее для меньшей выборки (20). Неоднородный характер распределения микотоксинов по органам растений рассматривается как проявление сложных ассоциативных связей этих организмов с микроскопическими грибами, главным образом эндوفитами (21, 22). Согласно полученным данным, в корзинках в сравнении с листьями содержание всех токсинов, кроме ЗЕН и МФК, было меньше. При этом наблюдалось статистически достоверное снижение содержания ЦПК. Появившиеся за последние годы обширные сведения о составе и содержании метаболитов грибов в слоевищах лишайников (23), а теперь и в подсолнечнике, стали важным вкладом в понимание биохимических механизмов регуляции ценологических взаимодействий. Особенно перспективными представляются углубленные комплексные исследования эндогенных грибов и метаболического профиля, формируемого в растениях с участием всего ассоциированного сообщества организмов.

Нам представилась возможность проанализировать образцы от партии, складированной после уборки в разные отсеки, в одном из которых технические неполадки привели к появлению очагов самосогревания. В основных семенах неблагополучной части было выявлено гораздо большее количество АОЛ и МФК (табл. 3). По результатам микологического анализа в семенах из этих отсеков наблюдались как сходства, так и различия. Пораженность представителями рода *Alternaria* оказалась одинаково обширной (85-95 %), а встречаемость грибов *Penicillium* spp. в неблагополучной части партии — значительно выше (248×10^3 КОЕ/г против 7×10^3 КОЕ/г), кроме того, с частотой 10 % им сопутствовал один из видов, относящихся к *Aspergillus glaucus* Gt. Судя по морфологическим признакам, видовой состав грибов *Alternaria* и *Penicillium* в обеих частях партии был достаточно однородным. Типичные штаммы *A. tenuissima* (Nees & T. Nees: Fr.) Wiltshire и *P. stoloniferum* Thom в лабораторных экспресс-тестах оказались высокоак-

тивными и образовывали АОЛ и МФК в количествах более 10000 нг/мл среды. Способность *A. tenuissima* продуцировать АОЛ описана ранее (24), а для вида *P. stoloniferum*, подвергнутого многократным таксономическим перемещениям (25) и в настоящее время признанного синонимом *P. brevicompactum*, возможность биосинтеза МФК неоднократно подтверждена работами зарубежных и российских исследователей (26–28). Кроме того, *A. pseudoglaucus* Blochwitz из *Aspergillus glaucus* Gr. также относится к продуцентам МФК (26). Судя по общей тенденции возрастания количества АОЛ и МФК в семенах подсолнечника при изменении внешних условий, между этими видами не возникало эффектов торможения роста и ингибирования биосинтеза специфических токсинов. Сообщения о взаимном влиянии токсигенных грибов разных родов, сосуществующих на одном биологическом субстрате, пока немногочисленны. Тем не менее, показано, что скорость колонизации зерновок пшеницы грибом *A. tenuissima* и количество образуемого АОЛ существенно увеличивались после предварительной обработки фузариотоксинами ДОН или ЗЕН (29). Недавно отношения между агрессивными продуцирующими трихотецены видами *Fusarium* и грибами *Alternaria* в зерне овса были охарактеризованы как симбиотические (30).

3. Содержание микотоксинов (мкг/кг) в основных семенах подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) и сорной примеси в одной партии при соблюдении (отсек 1) и нарушении условий хранения (отсек 2 с очагами самосогревания) (Курская обл., 2016 год)

Микотоксин	Основные семена	Сорная примесь	
		органическая примесь	мелкая часть
Т-2	–/–	–/3	3/5
ДАС	–/–	–/–	215/400
ДОН	–/–	–/–	–/–
ЗЕН	–/–	–/–	49/45
ФУМ	–/–	–/–	–/–
ЭА	–/–	–/–	–/–
АОЛ	26/240	955/245	480/390
АВ ₁	–/–	–/–	–/–
СТЕ	–/–	–/–	–/15
ЦПК	–/–	–/–	–/250
ЭМО	–/41	735/600	355/1000
ОА	–/–	–	–/–
ЦИТ	–/–	26/–	–/–
МФК	53/2630	125/1000	345/6310
PR	–/–	–/–	–/–

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диацетоксисцирпенол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зезараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ₁ — афлатоксин В₁, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микофеноловая кислота, PR — PR-токсин. Через косую черту указаны значения отсек 1/отсек 2. Прочерк означает, что микотоксин не обнаружен.

На растительных остатках в примесях в результате самосогревания произошло усиление контаминации МФК и появление СТЕ и ЦПК, однако такой же отчетливой тенденции в отношении АОЛ, ЭМО и фузариотоксинов (Т-2, ДАС, ЗЕН) не наблюдалось (см. табл. 3). Возможно, интенсификация накопления МФК на отмерших тканях подсолнечника связана с тем, что в этих условиях *P. stoloniferum* получает шанс реализовать потенциал микофильного гриба из физиологической группы некротрофов (27). Описан факт его обитания на стромах фитопатогена *Helminthosporium sativum* Ram. и подавляющий эффект против возбудителей распространенных заболеваний подсолнечника *Botrytis cinerea* Fr. и *Verticillium dahliae* (31).

Резкое накопление микотоксинов не только в семенах, но и в сорной примеси, служит еще одним аргументом в пользу повышенного внимания к процедуре очистки партий перед хранением и переработкой.

При обследовании производственных партий семян, а также об-

разцов из очагов самосогревания мы не отметили ни одного случая обнаружения АВ₁ при достаточно высокой чувствительности использованного метода (0,002 мг/кг). Тем не менее, АВ₁ официально признан единственным показателем безопасности (не более 0,005 мг/кг) для семян масличных культур пищевого назначения (в том числе подсолнечника), а также для нерафинированных растительных масел всех видов и продуктов их переработки (32-34). Явные несоответствия между микотоксикологическими критериями контроля подсолнечных жмыхов и шротов и пространственностью реальных носителей угрозы для здоровья животных подробно рассмотрены нами ранее (4).

Таким образом, в масличных семенах подсолнечника основные контаминанты микогенного происхождения представлены альтернариолом, микофеноловой кислотой и эмодином. Для сорной примеси, попадающей в партии при уборке и содержащей остатки зеленой массы растений, характерно более интенсивное накопление этих микотоксинов и появление ряда других — фузариотоксинов, а также циклопиазоновой кислоты и цитринина. При нарушении правил хранения в условиях повышенной влажности и температуры в основных семенах может резко возрасти накопление альтернариола и микофеноловой кислоты, обладающих токсическим действием, включая генотоксичность и иммунодепрессивную активность. Впервые полученные сведения о характере контаминации микотоксинами производственных партий масличных семян подсолнечника, несомненно, представляют собой важный шаг к созданию российской пополняемой информационной базы данных для совершенствования гигиенических и санитарных требований безопасности пищевых продуктов и кормов.

Авторы выражают признательность Е.А. Пирязевой за помощь в оценке состава микобиоты семян и выделении чистых культур грибов.

Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН
123022 Россия, г. Москва, Звенигородское ш., 5,
e-mail: kononenkogp@mail.ru ✉, aaburkin@mail.ru, ustpuma@list.ru,
ezotova63@gmail.com

Поступила в редакцию
14 января 2018 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 5, pp. 969-976

REASONS OF CONTAMINATION OF PRODUCTION LOTS OF SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) SEEDS BY MYCOTOXINS

A.A. Burkin, M.I. Ustyuzhanina, E.V. Zotova, G.P. Kononenko

All-Russian Research Institute of Sanitary, Hygiene and Ecology — Branch of Federal Science Center Kovalenko All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 5, Zvenigorodskoe sh., Moscow, 123022 Russia, e-mail kononenkogp@mail.ru (✉ corresponding author), aaburkin@mail.ru, ustpuma@list.ru, ezotova63@gmail.com

ORCID:

Burkin A.A. orcid.org/0000-0002-5674-2818

Ustyuzhanina M.I. orcid.org/0000-0001-7405-7577

Zotova E.V. orcid.org/0000-0002-1479-8602

Kononenko G.P. orcid.org/0000-0002-9144-615X

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

The authors are grateful to Dr E.A. Piryazeva for help in assessing the composition of seed mycobiota and isolation of pure cultures of fungi

Received January 14, 2018

doi: 10.15389/agrobiol.2018.5.969eng

Abstract

In recent years, in our country there has been a clear trend towards sustainable growth in the production of sunflower oil. During long-term monitoring high risks of contamination with mycotoxins are established for the by-products of oil and oil-extracting industries, oil cakes and meals, which are traditionally in demand as valuable raw materials for mixed fodders (G.P. Kononenko et al., 2018). Among the possible reasons of contamination are the violations of the technology of pro-

duction and storage of the final products, but the problem of the sanitary quality of oil seeds coming from the farms remains without attention. The purpose of our work was to survey the lots destined for the production of oil by comparing the contamination with mycotoxins of the main seeds and typical accompanying impurities. The average samples of sunflower oil seeds from the farms of the Belgorod, Voronezh, Kursk and Lipetsk regions of the 2016 year crop were fractionated into seeds and impurities (according to GOST 22391-2015) for separate study of their contamination. We also examined a batch of seeds stored after cleaning in two compartments, in one of which there was a shutdown of the ventilation system and, as a result, self-warming foci arose. In addition, sunflower growing plants that were collected in June-September 2016 and 2017 in the subsidiary farms of the Moscow, Tver, Voronezh and Rostov regions were analyzed for mycotoxins. Ground parts ($n = 65$) were cut at a height of 5 cm from the soil surface, dried in a shaded ventilated room and crushed whole. Another part of the plants ($n = 29$) was divided into leaves, stems and baskets before grinding. The mycotoxins group containing T-2 toxin (T-2), diacetoxycirpenol (DAS), deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEN), fumonisins (FUM), alternariol (AOL), aflatoxin B₁ (AB₁), sterigmatocystin (STE), cyclopiazonic acid (CPA), emodin (EMO), ochratoxin A (OA), citrinin (CIT), mycophenolic acid (MPA), PR toxin (PR) and ergot alkaloids (EA) were determined by the enzyme immunoassay. Our tests show that in seeds AOL is almost universally encountered, MPA and EMO are somewhat less frequent, the remaining mycotoxins are not detected. In contrast, in impurities, in addition to AOL, EMO and MPA, fusariotoxins (T-2, DAS, ZEN) are often enough, whereas CPA and CIT are more rare, and DON, STE, EA occur in a few samples. The ranges of AOL, EMO and MPA content are significantly wider and the average values for the samples are significantly higher than those found in the seeds. The newly discovered fact of multiple and intensive contamination of impurities with mycotoxins has a great practical importance, as it is an experimental justification for the need for thorough harvest cleaning for further processing. Additional experiments with vegetating sunflower plants show the maximum content of mycotoxins in leaves and pseudanthium (sunflower head) as compared to stems. A sharp increase in the mycotoxin accumulation both in seeds and in impurities occurs under self-warming conditions. The obtained results show that fungi of the genera *Alternaria* and *Penicillium* can cause damage to the harvested crop. We will elucidate their role in more detail in further studies.

Keywords: *Helianthus annuus*, sunflower, seeds, impurities, mycotoxins, *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, enzyme immunoassay.

REFERENCES

1. Chulze S.N., Torres A.M., Dalcero A.M., Etcheverry M.G., Ramirez M.L., Farnochi M.C. *Alternaria* mycotoxins in sunflower seeds: incidence and distribution of the toxins in oil and meal. *J. Food Prod.*, 1995, 58: 1133-1135.
2. Suganthi M.P.F., Ravi R., Purushothaman M.R., Mohan B., Vasanthakumar P. Occurrence of ochratoxin A in sunflower cake and evaluation of detoxified sunflower cake in poultry. *Indian Journal of Poultry Science*, 2003, 38(1): 37-41.
3. Mmongoyo J.A., Wu F., Linz J.E., Nair M.G., Mugula J.K., Tempelman R.J., Strasburg G.M. Aflatoxin levels in sunflower seeds and cakes collected from micro- and small-scale sunflower oil processors in Tanzania. *PLoS ONE*, 2017, 12(4): 1-14 (doi: 10.1371/journal.pone.0175801).
4. Kononenko G.P., Ustyuzhanina M.I., Burkin A.A. The problem of safe sunflower (*Helianthus annuus* L.) use for food and fodder purposes (review). *Agricultural Biology*, 2018, 53(3): 485-498 (doi: 10.15389/agrobiol.2018.3.485eng).
5. Ostry V. *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin J.*, 2008, 1(2): 175-188 (doi: 10.3920/WMJ2008.x013).
6. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal*, 2011, 9(10): 2407 (doi: 10.2903/j.efsa.2011.2407).
7. Arcella D., Escola M., Ruiz J.A.G. Dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population. *EFSA Journal*, 2016, 14(12): 4654 (doi: 10.2903/j.efsa.2016.4654).
8. GOST 22391-2015. *Podsolnechnik. Tekhnicheskie usloviya* [RF State Standard 22391-2015. Sunflower]. Moscow, 2015 (in Russ.).
9. Raper K.B., Thom C., Fennell D.I. *A manual of the Penicillia*. Williams & Wilkins Company, USA, Baltimore, 1949.
10. Simmons E.G. *Alternaria. An identification manual*. CBS, Utrecht, 2007.
11. *Introduction to food- and airborne fungi*. 6th edition. R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, O. Filtenborg (eds.). CBS, Utrecht, 2000.
12. GOST 31653-2012 *Korma. Metod immunofermentnogo opredeleniya mikotoksinov* [RF State Standard. Feeds. Mucotoxin analysis by ELISA test]. Moscow, 2012 (in Russ.).

13. Burkin A.A., Kononenko G.P. Mycotoxin contamination of reindeer moss. *Russian Agricultural Science*, 2011, 37(2): 182-184.
14. McDonald J.H. *Handbook of biological statistics*. 3rd edition. Sparky House Publishing, USA, Baltimore, 2014. Available dostupa: <http://www.biostathand-book.com>. No date.
15. *The R project for statistical computing*. Available <http://www.r-project.org>. No date.
16. Chang P.-K., Erlich K.C., Fujii I. Cyclopiazonic acid biosynthesis of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*. *Toxins*, 2009, 1: 74-99 (doi: 10.3390/toxins1020074).
17. Gerhards N., Neubauer L., Tudzynski P., Li S.-M. Biosynthetic pathways of ergot alkaloids. *Toxins*, 2014, 6: 2381-2395 (doi: 10.3390/toxins6123281).
18. Izhaki I. Emodin — a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. *New Phytologist*, 2002, 155(2): 205-217 (doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00459.x).
19. Vypritskaya A.A. *Mikobiota podsolnechnika v Tambovskoi oblasti* [Mycobiota of sunflower plants in the Tambov region]. Tambov, 2015 (in Russ.).
20. Zotova E.V., Kononenko G.P., Burkin A.A. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*, 2017, 7: 202-204 (in Russ.).
21. Rodriguez R.J., White J.F. Jr., Arnold A.E., Redman R.S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.*, 2009, 182(2): 314-330 (doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x).
22. Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X. Biology and chemistry of endophytes. *Nat. Prod. Rep.*, 2006, 23(5): 753-771 (doi: 10.1039/b609472b).
23. Kononenko G.P., Burkin A.A. Distribution of mycotoxins and usnic acid in the thalli of epigeous lichens. *Biology Bull.*, 2015, 42(3): 213-219 (doi: 10.1134/S1062359015030036).
24. Tralamazza S.M., Piacentini K.C., Tadashi Iwase C.H., de Olivera Rocha L. Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 23: 57-63 (doi: 10.1016/j.cofs.2018.05.002).
25. Scott J.A., Wong B., Summerbell R.C., Untereiner W.A. A survey of *Penicillium brevicompactum* and *P. bialowiezense* from indoor environments, with commentary on the taxonomy of the *P. brevicompactum* group. *Botany*, 2008, 86(7): 732-741 (doi: 10.1139/B08-060).
26. Burkin A.A., Kononenko G.P. Producers of mycophenolic acid in ensiled and grain feeds. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2010, 46(5): 545-550 (doi: 10.1134/S0003683810050145).
27. Frisvad J.C., Filtenborg O. Terverticillate *Penicillia*: chemotaxonomy and mycotoxin production. *Mycologia*, 1989, 81(6): 837-861 (doi: 10.2307/3760103).
28. Overy D.P., Frisvad J.C. Mycotoxin production and postharvested storage rot of ginger (*Zingiber officinale*) by *Penicillium brevicompactum*. *J. Food Protect.*, 2005, 68(3): 607-609.
29. Müller M.E.H., Urban K., Köppen R., Siegel D., Korn U., Koch M. Mycotoxins as antagonistic or supporting agents in the interaction between phytopathogenic *Fusarium* and *Alternaria* fungi. *World Mycotoxin J.*, 2015, 8(3): 311-321 (doi: 10.3920/WMJ2014.1747).
30. Orina A.S., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu., Loskutov I.G. Symbiotic relationships between aggressive *Fusarium* and *Alternaria* fungi colonizing oat grain. *Agricultural Biology*, 2017, 52(5): 986-994 (doi: 10.15389/agrobiol.2017.5.986eng).
31. Rudakov O.L. *Mikofil'nye griby, ikh biologiya i prakticheskoe znachenie* [Mycophilic fungi, their biology and practical significance]. Moscow, 1981 (in Russ.).
32. *Gigienicheskie trebovaniya bezopasnosti i pishchevoi tsennosti pishchevykh produktov. Sanitarno-epidemiologicheskie pravila i normativy. SanPiN 2.3.2.1078-01* [Hygienic requirements for safety and nutritional value of food. Sanitary and epidemiological rules and regulations. SanPiN 2.3.2.1078-01]. Moscow, 2008 (in Russ.).
33. *TR TS 021/2011 Tekhnicheskii reglament Tamozhennogo soyuza «O bezopasnosti pishchevoi produktsii»*. Utverzhden resheniem Komissii Tamozhennogo soyuza ot 9 dekabrya 2011 g. № 880 [TR TS 021/2011 Technical regulations of the Customs Union "On food safety" of December 9, 2011 No 880] (in Russ.).
34. *TR TS 015/2011 Tekhnicheskii reglament Tamozhennogo soyuza «O bezopasnosti zerna»*. Utverzhden resheniem Komissii Tamozhennogo soyuza ot 9 dekabrya 2011 g. № 874 [TR TS 015/2011 Technical Regulations of the Customs Union "On the safety of grain" of December 9, 2011 No 874] (in Russ.).