

Микотоксины

УДК 633.85:581.192.6:579.222:543.9

doi: 10.15389/agrobiology.2022.5.992rus

**КОМПЛЕКС МИКОТОКСИНОВ В РАСТЕНИЯХ РАПСА И СУРЕПИЦЫ  
В ВЕСЕННЕ-ЛЕТНИЙ ПЕРИОД\***А.А. БУРКИН<sup>1</sup>, Г.П. КОНОНЕНКО<sup>1</sup> ✉, В.Т. ВОЛОВИК<sup>2</sup>, С.Е. СЕРГЕЕВА<sup>2</sup>

Масличные культуры рапс и сурепица используются для получения семян и зеленой массы (Т.А. Егорова с соавт., 2015; А.В. Валитов с соавт., 2018; В.Т. Воловик, 2020). Как сидераты они насыщают почву калием, фосфором и азотом, а их введение в севооборот положительно влияет на урожайность зерновых. Недавно у вегетирующей посевной горчицы белой и луговых трав семейства Крестоцветные были изучены состав и содержание микотоксинов с оценкой сезонной изменчивости и органотропности (А.А. Буркин с соавт., 2019; А.А. Буркин, Г.П. Кононенко, 2022). В настоящем исследовании впервые установлено, что циклопиазоновая кислота, эргоалкалоиды, альтернариол и эмодин входят в группу основных контаминантов рапса и сурепицы до начала зацветания, а также получены сведения о расширении комплекса микотоксинов в процессе бутонизации и неоднородном распределении этих веществ по органам растений. Целью настоящей работы было микотоксикологическое обследование озимой сурепицы *Brassica campestris* fr. *biennis*, озимого и ярового рапса *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metz.) Sinsk в весенне-летний период роста (от фазы розетки до завершения бутонизации), а также вегетативных и генеративных органов этих растений в фазы цветения и формирования стручков. Объектами исследования были вегетирующие растения с опытных участков ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса. Озимые рапс и сурепицу (посев 8 сентября 2020 года) отбирали еженедельно, начиная с 23 апреля 2021 года, яровой рапс (посев 21 мая 2021 года) — с 25 июня 2021 года. Надземные части срезали на расстоянии 3-5 см от поверхности почвы, в фазы цветения и формирования плодов растения разделяли на листья, стебли, цветки и стручки. После высушивания и измельчения в лабораторной мельнице было проанализировано 349 образцов. Содержание Т-2 токсина (Т-2), дезоксиниваленола (ДОН), зеараленона (ЗЕН), фумонизинов группы В (ФУМ), эргоалкалоидов (ЭА), альтернариола (АОЛ), роридина А (РОА), афлатоксина В<sub>1</sub> (АВ<sub>1</sub>), стеригматоцистина (СТЕ), циклопиазоновой кислоты (ЦПК), эмодина (ЭМО), охратоксина А (ОА), цитринина (ЦИТ), микрофеноловой кислоты (МФК), PR-токсина (PR) определяли по унифицированной методике (ГОСТ 31653-2012. М., 2012) с помощью панели из 15 аттестованных коммерческих и исследовательских иммуноферментных тест-систем. Для экстракции размолотых образцов использовали смесь ацетонитрила и воды в объемном соотношении 84:16 при расходе 10 мл на 1 г навески. Непрямой конкурентный иммуноферментный анализ выполняли после 10-кратного разведения экстрактов фосфатно-солевым буферным раствором pH 7,4 с Tween 20. Во всей выборке образцов были обнаружены 14 микотоксинов из 15, РОА выявлен не был. У озимых культур в фазы розетка—стеблевание в части образцов были детектированы ЭА, АОЛ, ЦПК и ЭМО со значениями, находящимися у пределов определения метода, в фазу бутонизации наблюдалось возрастание накопления ЭА, АОЛ, ЦПК, а также отмечались случаи обнаружения ЭМО, АВ<sub>1</sub>, СТЕ, ОА, МФК и появление фузариотоксинов ЗЕН, ФУМ. Яровой рапс был контаминирован слабее, чем озимый. В период цветения и созревания плодов у растений отмечались общие признаки в распределении микотоксинов по органам: большее накопление в листьях в сравнении со стеблями и понижение содержания в созревающих стручках. В цветках у всех культур была выявлена частая контаминация МФК, как правило, в сочетании с ЭМО, а у озимых обнаружены микотоксины, отсутствовавшие в начальный период роста, — ЦИТ, PR, Т-2 и ДОН. В статье обсуждается возможность участия потенциально токсигенных микроорганизмов родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* в контаминации растений.

**Ключевые слова:** сурепица озимая, рапс озимый, рапс яровой, микотоксины, иммуноферментный анализ.

Масличные рапс и сурепицу относят к числу универсальных кормовых культур: кроме отходов от переработки семян (жмыхов и шротов), широко используются их травостой и силос (1). Благодаря интенсивным темпам формирования урожая, хорошему отрастанию после скашивания в ранние фазы и возможности высева через каждые 10-15 сут может быть обеспечен непрерывный зеленый конвейер (2). Обе культуры важны и для агротехнической практики. Как сидераты они насыщают почву калием, фос-

\* Работа выполнена в рамках договора о сотрудничестве ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса и ВНИИВСГЭ — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН от 17 марта 2021 года.

фором и азотом, а их введение в севооборот положительно влияет на урожайность зерновых. Для них пригодны почти все виды почв и зоны, зеленую массу можно получать с ранней весны до поздней осени, вплоть до установления снежного покрова (3, 4). Из всего многообразия хозяйственно ценных посевных крестоцветных растений характер контаминации микотоксинами изучен только для горчицы белой (5). Для вегетирующих растений рапса и сурепицы подобная оценка не проводилась.

В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в изучении биоразнообразия и функциональной роли микроскопических грибов, обитающих внутри растений (6, 7). Информация о филогенетическом положении, генетическом потенциале и метаболических возможностях этих организмов имеет важное значение для накопления информации об их участии в процессах развития и адаптации растений (8, 9). Изучение низкомолекулярных метаболитов, появление которых связано с ассоциированными токсигенными грибами, у представителей семейства Крестоцветные началось совсем недавно. Для луговых трав 13 родов описан состав микотоксинов, выявлены особенности сезонной динамики и распределения по вегетативным и генеративным органам (10). Продолжение работ в этом направлении на культурных растениях представляет особый интерес из-за их устойчивого приспособления к климатическим условиям ареалов длительного разведения и формирования озимых или яровых форм.

В настоящем исследовании впервые установлено, что циклопиазоновая кислота, эргоалкалоиды, альтернариол и эмодин входят в группу основных контаминантов рапса и сурепицы до начала зацветания, а также получены сведения о расширении комплекса микотоксинов в процессе бутонизации и неоднородном распределении этих веществ по органам растений.

Целью настоящей работы было микотоксикологическое обследование озимой сурепицы, озимого и ярового рапса в весенне-летний период роста (от фазы розетки до завершения бутонизации), а также вегетативных и генеративных органов этих растений в фазы цветения и формирования стручков.

*Методика.* Объектами исследования были вегетирующие растения озимой сурепицы *Brassica campestris* fr. *biennis*, озимого и ярового рапса *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk разной сортовой принадлежности с опытных участков ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса.

Озимые рапс и сурепицу (посев 8 сентября 2020 года) отбирали, начиная с 23 апреля 2021 года, яровой рапс (посев 21 мая 2021 года) — с 25 июня 2021 года еженедельно. Надземные части срезали на расстоянии 3–5 см от поверхности почвы, в фазах цветения и формирования плодов растения разделяли на листья, стебли, цветки и стручки. После высушивания и измельчения в лабораторной мельнице было проанализировано 349 образцов.

Содержание Т-2 токсина (Т-2), дезоксиниваленола (ДОН), зеараленона (ЗЕН), фумонизинов группы В (ФУМ), эргоалкалоидов (ЭА), альтернариола (АОЛ), роридина А (РОА), афлатоксина В<sub>1</sub> (АВ<sub>1</sub>), стеригматоцистина (СТЕ), циклопиазоновой кислоты (ЦПК), эмодина (ЭМО), охратоксина А (ОА), цитринина (ЦИТ), микофеноловой кислоты (МФК), PR-токсина (PR) определяли по унифицированной методике (ГОСТ 31653-2012. Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов. М., 2012) с помощью панели из 15 аттестованных коммерческих и исследовательских иммуноферментных тест-систем (СТО 00494143.01-2015 «Тест-системы для непрямого конкурентного иммуноферментного анализа. Общие технические условия», ВНИИВСГЭ). Нижние пределы количественных измерений соответствовали 85 % связывания антител и составили 1 (АВ<sub>1</sub>, ЭА),

2 (Т-2, ОА, СТЕ), 5 (РОА), 10 (АОЛ, МФК, ЗЕН, ЭМО, ЦИТ, ЦПК), 40 (ДОН, ФУМ), 100 мкг/кг (РР).

Для экстракции размолотых образцов использовали смесь ацетонитрила и воды в объемном соотношении 84:16 при расходе 10 мл на 1 г навески. Непрямой конкурентный иммуноферментный анализ выполняли после 10-кратной разведения экстрактов фосфатно-солевым буферным раствором рН 7,4 с Tween 20.

**Результаты.** В 349 образцах надземных частей растений сурепицы и рапса, а также вегетативных и генеративных органов этих растений при цветении и созревании было обнаружено 14 из 15 микотоксинов, хотя и с разной частотой и нередко спорадически (из-за фоновых содержаний). РОА выявлен не был.

В начале весеннего отрастания в фазу розетка—стебление у обеих озимых культур были выявлены ЭА, АОЛ, ЦПК, а у сурепицы — ЭМО, но только в части образцов и со значениями, находящимися у пределов определения метода. АВ<sub>1</sub> был детектирован в одном образце рапса (табл. 1). Наступление фазы бутонизации сопровождалось появлением фузариотоксинов ЗЕН, ФУМ и возрастанием накопления ЭА и ЦПК, их удалось определить во всех образцах. Средние значения накопления микотоксинов у сурепицы и рапса были сопоставимыми: ЭА — 21 и 32 мкг/кг, ЦПК — 270 и 360 мкг/кг. ЭМО, АВ<sub>1</sub>, СТЕ, ОА обнаруживали редко, МФК — в одном из образцов озимого рапса.

**1. Частота обнаружения ( $n^+$ ) и содержание микотоксинов в растениях озимой сурепицы *Brassica campestris* fr. *biennis*, озимого и ярового рапса *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk разной сортовой принадлежности в фазе розетка—стебление (1) и бутонизация (2) (Московская обл., 2021 год)**

Микотоксин	Озимая сурепица		Озимый рапс		Яровый рапс
	1 ( $n = 15$ )	2 ( $n = 6$ )	1 ( $n = 30$ )	2 ( $n = 24$ )	2 ( $n = 8$ )
ЗЕН	—	5 10-22-26	—	2 19, 24	—
ФУМ	—	4 305-325-340	—	2 315, 390	—
ЭА	4 4-7-10	6 15-21-30	9 2-3-6	24 12-32-84	7 5-19-33
АОЛ	1 30	6 30-25-46	3 16-20-25	8 26-32-37	4 (16-19-21)
АВ <sub>1</sub>	—	2 1, 1	1 3	1 1	—
СТЕ	—	2 10, 20	—	1 9	—
ЦПК	3 135-150-170	6 190-270-400	15 89-120-160	24 160-360-980	8 83-135-200
ЭМО	3 28-31-33	2 30, 40	—	4 32-34-37	1 38
ОА	—	1 9	—	1 9	—
МФК	—	—	—	1 33	—

**Примечание.** ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — ократоксин А, МФК — микофеноловая кислота;  $n$  — число исследованных образцов. Верхняя цифра в строках — число положительных образцов ( $n^+$ ), содержащих микотоксин в количестве, превышающем нижний предел измерений; под ним указано содержание соответствующего микотоксина (мкг/кг, минимальное-среднее-максимальное). Прочерк означает, что микотоксин не обнаружен.

АОЛ находили во всех образцах сурепицы (среднее содержание 25 мкг/кг) и лишь в 8 образцах рапса из 24 в сопоставимых количествах. Неодинаковое возрастание загрязненности АОЛ у озимых сурепицы и рапса при смене фаз могло быть обусловлено различиями видового состава грибов *Alternaria*. К сожалению, доступные сведения по этому вопросу пока огра-

ничен. Изоляты потенциально токсигенного эндофитнообитающего вида *A. alternata* получены из стеблей и листьев рапса (11). В работе М.Ж. Kelman с соавт. (12) установлено, что у канадской популяции *Alternaria* на рапсе доля видов — продуцентов АОЛ невелика, гораздо чаще встречаются представители группы *A. infectoria*, не образующие этот токсин.

Яровой рапс в фазу бутонизации был контаминирован слабее, чем озимые рапс и сурепица (см. табл. 1). Так, накопление ЭА, АОЛ и ЭМО здесь не превышало 50 мкг/кг, ЦПК — 200 мкг/кг, другие токсины отсутствовали. Напротив, у обеих озимых культур были обнаружены 10 из 15 микотоксинов. Возможно, увеличенное относительно ярового рапса число детектированных микотоксинов стало результатом продолжительного весенне-весеннего периода роста, при котором более значительная часть токсигенных грибов смогла накопить массу.

У всех обследованных растений типичными контаминантами, наряду с АОЛ, были ЦПК и ЭА. Эти же микотоксины доминировали у вегетирующих горчицы белой и луговых трав (5, 10). По-видимому, у крестоцветных в сообществах ассоциированных грибов непременно присутствуют микромицеты, способные к их биосинтезу и начинающие активно функционировать с самого начала роста.

Какое-либо участие эндофитных грибов в биосинтезе микотоксинов должно быть подтверждено идентификацией потенциально токсигенных видов в составе глубинной микобиоты после поверхностной дезинфекции тканей. Данных, которые позволили бы высказать обоснованные предположения об источниках появления микотоксинов, обнаруженных нами у крестоцветных, крайне мало. Так, у вегетирующего рапса в стеблях был найден *Aspergillus flavipes*, в листьях — *Fusarium proliferatum* (11). Для *A. flavipes* и родственных видов описана способность к биосинтезу СТЕ (13), *F. proliferatum* продуцирует ФУМ (14). К сожалению, пока интерес исследователей к эндофитам крестоцветных связан в основном с поиском биологических средств защиты этих растений от возбудителей грибных заболеваний (11, 15-17).

Продуцирование ЦПК и ЭА известно для микромицетов многих таксонов (18). У отдельных видов показана принадлежность к сообществу эндофитов, например у *Aspergillus fumigatus* (19), *Penicillium chrysogenum*, *P. commune*, *Mucor hiemalis* (20). Среди эндофитнообитающих грибов идентифицированы также *A. versicolor* (21), *P. chrysogenum* (20) и *P. brevicompactum* (7), способные к биосинтезу СТЕ (22), производных ЭМО и МФК (23). Случаи обнаружения ОА у рапса и сурепицы при бутонизации могут быть связаны с грибами *P. verrucosum* var. *cyclopium* и *P. chrysogenum*, которые ранее были найдены в семенах рапса и продуцировали этот токсин (24). Кроме уже известных потенциально токсигенных видов, следует рассматривать роль других микромицетов, которые, как недавно удалось выяснить, обладают соответствующими кластерами генов (25), а также обширных ассоциаций некультивируемых форм грибов, присутствие которых в составе микробиомов растений подтверждено молекулярными методами.

От начала цветения до созревания растений сурепицы и рапса мы выполняли анализ содержания микотоксинов в разных органах — стеблях, листьях, цветках и стручках (табл. 2-4). В этот период у всех растений наблюдалось большее накопление микотоксинов в листьях в сравнении со стеблями и снижение содержания в созревающих стручках.

**2. Частота обнаружения ( $n^+$ ) и содержание микотоксинов в разных органах растений озимой сурепицы *Brassica campestris* fr. *Biennis* в фазах цветения, развития плодов и созревания (Московская обл., 2021 год)**

Микотоксин	Стебли ( $n = 21$ )	Листья ( $n = 11$ )	Цветки ( $n = 5$ )	Зеленые стручки ( $n = 15$ )	Желтые стручки ( $n = 10$ )
Т-2	—	—	—	—	—
ДОН	—	—	4	—	—
			79-82-89		
ЗЕН	—	—	4	—	—
			12-13-17		
ФУМ	—	—	2	—	—
			105, 125		
ЭА	18	11	4	15	3
	6-19-40	10-15-26	10-13-20	5-19-42	6-13-25
АОЛ	4	4	5	—	1
	26-32-48	18-28-33	30-4-49		54
АВ <sub>1</sub>	—	—	3	—	—
			1-1-2		
СТЕ	—	—	—	—	—
ЦПК	18	11	5	13	1
	63-145-350	100-195-295	155-185-240	79-115-235	50
ЭМО	—	4	3	1	5
		38-47-58	32-34-39	31	30-42-59
ОА	—	—	1	—	—
			8		
ЦИТ	—	—	2	—	—
			16, 18		
МФК	—	—	3	1	3
			40-41-42	40	13-16-21
PR	—	—	—	—	—

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, МФК — микрофеноловая кислота, PR — PR-токсин;  $n$  — число исследованных проб;  $n$  — число исследованных образцов. Верхняя цифра в строках — число положительных образцов ( $n^+$ ), содержащих микотоксины в количестве, превышающем нижний предел измерений; под ним указано содержание соответствующего микотоксина (мкг/кг, минимальное-среднее-максимальное). Прочерк означает, что микотоксин не обнаружен.

**3. Частота обнаружения ( $n^+$ ) и содержание микотоксинов в разных органах растений озимого рапса *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk в фазы цветения, развития плодов и созревания (Московская обл., 2021 год)**

Микотоксин	Стебли ( $n = 36$ )	Листья ( $n = 25$ )	Цветки ( $n = 16$ )	Зеленые стручки ( $n = 27$ )	Желтые стручки ( $n = 28$ )
Т-2	—	—	1	—	—
			6		
ДОН	—	—	8	—	—
			83-105-130		
ЗЕН	—	—	13	—	—
			9-16-24		
ФУМ	—	—	1	—	—
			100		
ЭА	31	25	16	27	10
	4-13-30	8-83-710	6-10-16	3-21-63	4-10-20
АОЛ	3	19	16	6	1
	21-23-26	17-36-50	30-42-56	12-24-30	24
АВ <sub>1</sub>	—	—	10	—	—
			1-1-2		
СТЕ	—	1	—	—	—
		18			
ЦПК	25	22	15	22	3
	54-130-245	105-205-415	100-145-200	100-150-245	79-87-91
ЭМО	3	4	10	2 (30, 30)	—
	30-31-32	31-33-39	31-37-48		
ОА	—	3	3	—	—
		8	9-10-10		
ЦИТ	—	1	1	—	—
		16	16		
МФК	—	1	12	3	—
		62	30-37-52	32-37-40	
PR	—	—	4	—	—
			320-380-400		

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины,

ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ1 — афлатоксин В1, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, МФК — микрофеноловая кислота, PR — PR-токсин;  $n$  — число исследованных образцов. Верхняя цифра в строках — число положительных образцов ( $n^+$ ), содержащих микотоксины в количестве, превышающем нижний предел измерений; под ним указано содержание соответствующего микотоксина (мкг/кг, минимальное-среднее-максимальное). Прочерк означает, что микотоксин не обнаружен.

#### 4. Частота обнаружения ( $n^+$ ) и содержание микотоксинов в разных органах растений ярового рапса *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk в фазы цветения, развития плодов и созревания (Московская обл., 2021 год)

Микотоксин	Стебли ( $n = 19$ )	Листья ( $n = 12$ )	Цветки ( $n = 5$ )	Зеленые стручки ( $n = 19$ )	Желтые стручки ( $n = 17$ )
Т-2	—	—	—	—	—
ДОН	—	—	—	—	—
ЗЕН	—	—	—	—	—
ФУМ	—	—	—	—	—
ЭА	4 3-5-6	10 4-8-20	5 4-5-6	3 4-5-6	1 5
АОЛ	—	2 21, 26	3 20-24-26	—	—
АВ1	—	—	2 2, 3	—	—
СТЕ	—	—	1 7	—	—
ЦПК	4 84-160-250	10 94-255-300	4 105-185-290	4 79-195-315	—
ЭМО	2 43, 50	3 36-45-50	3 41-44-51	1 48	—
ОА	—	—	2 6, 7	—	—
ЦИТ	—	—	—	—	—
МФК	—	3 16-18-20	5 15-25-38	5 15-20-29	—
PR	—	—	—	—	—

Пр и м е ч а н и е. Т-2 — Т-2 токсин, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, АВ1 — афлатоксин В1, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, МФК — микрофеноловая кислота, PR — PR-токсин;  $n$  — число исследованных образцов. Верхняя цифра в строках — число положительных образцов ( $n^+$ ), содержащих микотоксины в количестве, превышающем нижний предел измерений; под ним указано содержание соответствующего микотоксина (мкг/кг, минимальное-среднее-максимальное). Прочерк означает, что микотоксин не обнаружен.

Такие же закономерности ранее были отмечены у посевной горчицы белой и дикорастущих трав (5, 10), что, очевидно, указывает на общие направления переформирования их внутреннего микробиома, которые пока остаются неизвестными. Крайне слабая контаминация созревающих стручков, особенно у ярового рапса, согласуется с отсутствием микотоксинов в семенах этого растения (неопубликованные данные авторов).

В цветках у озимых растений (см. табл. 2, 3) наблюдалось увеличение числа детектированных метаболитов. Цветки озимого рапса и озимой сурепицы содержали фузариотоксины, которых не было в генеративную фазу ни в вегетативных органах (листья, стебли), ни в стручках. Подобное было описано у посевных и дикорастущих однолетников — горчицы белой и капусты полевой (5, 10). Формально озимые растения причисляют к группе однолетних, поскольку весь период развития не превышает одного года, хотя он начинается осенью, прерывается на период зимнего покоя, и возобновляется весной. В цветках у ярового рапса фузариотоксинов обнаружено не было (см. табл. 4). Возможно, это связано с укороченной начальной фазой розетка—стеблевание и быстрым переходом к бутонизации и цветению.

Явное различие в накоплении фузариотоксинов в цветках у озимых и яровых форм определенно указывает на неодинаковую вовлеченность токсинообразующих грибов *Fusarium* в процессы онтогенеза. При этом может происходить либо направленное перемещение патогена по тканям, либо перенос образовавшихся метаболитов из удаленных точек локализации продуцентов.

Судя по доступным сведениям, второй путь представляется более реальным. Так, показано, что фитотоксины распространяются по всему растению, тогда как патогены рода *Fusarium* поднимаются по стеблю только на несколько сантиметров над уровнем почвы или остаются в корневой шейке.

В цветках у всех культур (см. табл. 2-4) была выявлена частая контаминация МФК, как правило, в сочетании с ЭМО, а у озимых обнаружены микотоксины, отсутствовавшие в начальный период роста, — ЦИТ, PR, фузариотоксины Т-2 и ДОН. В литературе есть указания на то, что некоторые виды *Penicillium* и *Fusarium*, способные к биосинтезу МФК (*P. brevicompactum*), PR (*P. chrysogenum*) (23), Т-2 (*F. sporotrichioides*), ДОН (комплекс видов, родственной *F. graminearum*) (26), присутствуют во внутренней микобиоте растений (20, 27). Сведений по принадлежности к эндофитам гриба *Aspergillus pseudoglaucus*, для которого характерно совместное образование МФК и ЭМО (неопубликованные данные авторов), найти не удалось. Тот факт, что в тканях обследованных нами растений были обнаружены практически все проанализированные микотоксины, кроме РОА, указывает на многообразие токсигенных грибов, представленных в составе микробиома.

Таким образом, для озимой сурепицы, озимого и ярового рапса установлена слабая контаминация микотоксинами с наиболее частым обнаружением циклопиазоновой кислоты в количествах не более 360 мкг/кг, альтернариола и эмолина — соответственно 32 и 34 мкг/кг, эргоалкалоидов — от 3 до 32 мкг/кг. Больше накопление компонентов основного комплекса и появление зеараленона и фумонизинов, а также афлатоксина В<sub>1</sub>, стеригматоцистина, охратоксина А и микофеноловой кислоты, отмеченное у озимых культур в фазу бутонизации, по окончании начального периода роста также носило слабовыраженный характер. Следовательно, обе хозяйственно ценные культуры относятся к группе с пониженным риском негативного действия на животных. В генеративную фазу у растений как озимой, так и яровой форм наблюдалось увеличенное содержание микотоксинов в листьях по сравнению со стеблями, ослабление контаминации созревающих стручков и накопление в цветках микофеноловой кислоты и эмолина. При этом появление токсинов фузариогенной природы и цитринина отмечали только в цветках у озимых растений. Признаки однотипных смещений и различий в комплексе микотоксинов у крестоцветных культур озимого и ярового типов, установленные впервые, свидетельствуют о сложных разнонаправленных процессах вовлеченности токсинообразующих микромицетов в развитие этих организмов. Полученные данные могут стать важной информационной основой для дальнейшего изучения механизмов, регулирующих совместное обитание растений и ассоциированных грибов.

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии,  
гигиены и экологии — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН,  
123022 Россия, г. Москва, Звенигородское ш., 5, стр. 1,  
e-mail: aaburkin@mail.ru, kononenkogp@mail.ru ✉;

<sup>2</sup>ФГБНУ ФНЦ кормопроизводства и агроэкологии  
им. В.Р. Вильямса,

141055 Россия, Московская обл., г. Лобня, Научный городок, корп. 1.  
e-mail: vik\_volovik@mail.ru, mesvetlanka@mail.ru

Поступила в редакцию  
11 апреля 2022 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2022, V. 57, № 5, pp. 992-1000

## THE COMPLEX OF MYCOTOXINS IN OILSEED RAPE AND TURNIP RAPE DURING SPRING AND SUMMER SEASONS

A.A. Burkin<sup>1</sup>, G.P. Kononenko<sup>1</sup> ✉, V.T. Volovik<sup>2</sup>, S.E. Sergeeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Sanitary, Hygiene and Ecology — Branch of FSC ARRIEV RAS, 5, Zvenigorodskoe sh., Moscow, 123022 Russia, e-mail aaburkin@mail.ru, kononenkogp@mail.ru (✉ corresponding author);

<sup>2</sup>Williams Federal Research Center for Fodder Production and Agroecology, 1, Nauchnii Gorodok, Lobnya, Moscow Province, 141055 Russia, e-mail vik\_volovik@mail.ru, mesvetlanka@mail.ru

ORCID:

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

Volovik V.T. orcid.org/0000-0002-8966-4457

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

Sergeeva S.E. orcid.org/0000-0002-4244-8183

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

The work was carried out within the framework of the cooperation agreement between the Federal Scientific Center Williams VIK and VNIIVSGE — Branch of the Federal Scientific Center VIEV RAS (dated March 17, 2021).

Received April 11, 2022

doi: 10.15389/agrobiology.2022.5.992eng

## Abstract

Oilseed rape and turnip rape crops are widely used to produce seeds and green mass (T.A. Egorova et al., 2015; A.V. Valitov et al., 2018; V.T. Volovik, 2020). The plants are also considered promising siderates that saturate the soil with potassium, phosphorus and nitrogen, and their introduction into crop rotation has a positive effect on grain yields. Recently, the composition and content of mycotoxins were studied in vegetating white mustard and meadow grasses of the Cruciferous family with an assessment of seasonal variability and organotropy (A.A. Burkin et al., 2019; A.A. Burkin, G.P. Kononenko, 2022). In this study, it was established for the first time that cyclopiazonic acid, ergot alkaloids, alternariol and emodin are included in the group of the main contaminants of oilseed rape and turnip rape before flowering, as well as data on the expansion of the composition of the mycotoxin complex during budding and the heterogeneous distribution of these substances by plant organs has been received. The aim of this work was mycotoxicological examination of winter turnip rape *Brassica campestris* fr. *biennis* and winter and spring oilseed rape *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk in the spring-summer growth period — from the rosette phase to the completion of budding, as well as in vegetative and generative organs of plants during flowering and formation of siliques. Vegetating plants were collected from the experimental plots of the Williams Federal Research Center VIC. Winter oilseed rape and turnip rape (sown on September 8, 2020) were collected starting from April 23, 2021, spring rapeseed (sown on May 21, 2021) — from June 25, 2021 weekly. The aboveground parts of whole plants were cut at a height of 3–5 cm from the soil surface, in the phases of flowering and silique formation, the plants were divided into leaves, stems, flowers and siliques. After drying and grinding in a laboratory mill, 349 samples were analyzed. The content of T-2 toxin (T-2), deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEN), fumonisins of group B (FUM), ergot alkaloids (EA), alternariol (AOL), roridin A (ROA), aflatoxin B<sub>1</sub> (AB<sub>1</sub>), sterigmatocystin (STE), cyclopiazonic acid (CPA), emodin (EMO), ochratoxin A (OA), citrinin (CIT), mycophenolic acid (MPA), PR-toxin (PR) were determined according to a unified methodology (GOST 31653-2012. Feed. Method of enzyme immunoassay of mycotoxins. M., 2012) using a panel of 15 certified commercial and research enzyme immunoassay systems. The ground samples were extracted with a mixture of acetonitrile and water, 84:16 v/v, at 10 ml per 1 g sample. Indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed after tenfold dilution of extracts with phosphate-salt buffer solution (pH 7.4) with Tween 20. In the entire sample of samples, 14 analytes out of 15 were detected (no POA was found). In winter crops in the rosette-stemming phases, EA, AOL, CPA and EMO were detected in part of the samples with the values located near the limits of the method definition, in the budding phase, an increase in the accumulation of EA, AOL, CPA was observed with cases of detection of EMO, AB<sub>1</sub>, STE, OA, MPA and the appearance of fusariotoxins ZEN, FUM. Spring oilseed rape was less contaminated than winter form. During flowering and maturation of siliques, plants showed common patterns of the distribution of mycotoxins by organs, i.e., a greater accumulation in leaves compared to stems and a decrease in the content in ripening siliques. In the flowers of all crops, frequent contamination of MPA was detected, and, as a rule, in combination with EMO, and mycotoxins were found in winter crops that were absent during the initial growth period (CIT, PR, T-2, and DON). The possibility is discussed of participation of potentially toxigenic micromycetes of the genera *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* in plant contamination.

Keywords: winter turnip rape, winter oilseed rape, spring oilseed rape, mycotoxins, enzyme immunoassay.

## REFERENCES

1. Egorova T.A., Lenkova T.N. Rapeseed (*Brassica napus* L.) and its prospective useage in poultry diet (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, 50(2): 172-182 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.172eng).
2. Valitov A.V., Kuznetsov I.Yu., Abdul'manov R.I., Abdullin M.M., Akhiyarov B.G. *Permskiy agrarnyy vestnik*, 2018, 2 (22): 36-43 (in Russ.).
3. Volovik V.T. *Adaptivnoe kormoproizvodstvo*, 2020, 4: 67-88 (doi: 10.33814/AFP-2222-5366-2020-4-67-88) (in Russ.).



4. Volovik V.T., Shpakov A.S. *Kormoproizvodstvo*, 2020, 10: 3-8 (in Russ.).
5. Burkin A.A., Kononenko G.P., Mosina L.V. The first mycotoxicological investigation of white mustard (*Sinapis alba*). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2019, 54(1): 186-194 (doi: 10.15389/agrobiology.2019.1.186eng).
6. Zhang H.W., Song Y.C., Tan R.X. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 2006, 23(5): 753-771 (doi: 10.1039/b609472b).
7. Mishra Y., Singh A., Batra A., Sharma M.M. Understanding the biodiversity and biological applications of endophytic fungi: a review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 2014, S8: 004 (doi: 10.4172/1948-5948.S8-004).
8. Rana K.L., Kour D., Sheikh I., Dhiman A., Yadav N., Yadav A.N., Rastegari A.A., Singh K., Saxena A.K. Endophytic fungi: biodiversity, ecological significance, and potential industrial applications. In: *Recent advancement in white biotechnology through fungi*. A.N. Yadav, S. Mishra, S. Singh, A. Gupta (eds.). Fungal Biology, Springer Nature Switzerland AG, 2019: 1-62 (doi: 10.1007/978-3-030-10480-1\_1).
9. Harrison J.G., Griffin E.A. The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? *Environmental Microbiology*, 2020, 22(6): 2107-2123 (doi: 10.1111/1462-2920.14968).
10. Burkin A.A., Kononenko G.P. *Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya*, 2022, 3: 237-245 (in Russ.).
11. Zhang Q., Zhang J., Yang L., Jiang D., Chen W., Li G. Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in *Brassica napus*. *Biological Control*, 2014, 72: 98-108 (doi: 10.1016/j.biocontrol.2014.02.018).
12. Kelman M.J., Renaud J.B., Seifert K.A., Mack J., Yeung K.K.-C., Sumarah M.W. Chemotaxonomic profiling of Canadian *Alternaria* populations using high-resolution mass spectrometry. *Metabolites*, 2020, 10(6): 238 (doi: 10.3390/metabo10060238).
13. Hubka V., Nováková A., Kolařík M., Jurjević Ž., Peterson S.W. Revision of *Aspergillus* section *Flavipedes*: seven new species and proposal of section *Juni* sect. nov. *Mycologia*, 2015, 107(1): 169-208 (doi: 10.3852/14-059).
14. Opinion of the scientific panel on contaminants in food chain on a request from the commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. *The EFSA Journal*, 2005, 235: 1-32.
15. Chen L.J., Sun G.Y., Zhang R., Guo J.Q. Isolation and identification of endophytic fungi on *Brassica napus*. *Journal of Shihezi University (Natural Science Edition)*, 2004, S1: 66-68.
16. Chen L.J., Shi H.Z., Chen Y.H. Preliminary study of the antifungal action of *Chaetomium globosum* from endophytic fungi of rapeseed. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2005, 7: 54-56.
17. Lan N., Qi G.F., Yu Z.N., Zhao X.Y. Isolation, identification and antifungal action of endophytic fungi of rapeseed. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2011, 30(3): 270-275.
18. Kozlovskiy A.G. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1994, 35(5): 536-545 (in Russ.).
19. Kusari S., Lamshöft M., Spitteller M. *Aspergillus fumigatus* Fresenius, an endophytic fungus from *Juniperus communis* L. Herstmann as source of the anticancer pro-drug deoxypodophyllotoxin. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107(3): 1019-1030 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04285.x).
20. Jin H., Yan Z., Liu Q., Yang X., Chen J., Qin B. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, 104: 849-963 (doi: 10.1007/s10482-013-0014-2).
21. Chadha N., Prasad R., Varma A. Plant promoting activity of fungal endophytes associated with tomato roots from central Himalaya, India and their interaction with *Piriformospora indica*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2015, 6(1): 333-343.
22. Mills J.T., Abramson D. Production of sterigmatocystin by isolates of *Aspergillus versicolor* from western Canadian stored barley and rapeseed/canola. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1986, 8(2): 151-153 (doi: 10.1080/07060668609501819).
23. Frisvad J.C., Smedsgaard J., Larsen T.O., Samson R.A. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 2004, 49: 201-241.
24. Mills J.T., Abramson D. Ochratoxigenic potential of *Penicillium* spp. isolated from stored rapeseed and cereals in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1982, 4(1): 37-41 (doi: 10.1080/07060668209501334).
25. Månsson M., Klejnstrup M.L., Phipps R.K., Nielsen K.F., Frisvad J.C., Gottfredsen C.H., Larsen T.O. Isolation and NMR characterization of fumonisin B<sub>2</sub> and a new fumonisin B<sub>6</sub> from *Aspergillus niger*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(2): 949-953 (doi: 10.1021/jf902834g).
26. Shi W., Tan Y., Wang S., Gardiner D.M., De Saeger S., Liao Y., Wang C., Fan Y., Wang Z., Wu A. Mycotoxigenic potentials of *Fusarium* species in various culture matrices revealed by mycotoxin profiling. *Toxins*, 2017, 9(1): 6 (doi: 10.3390/toxins9010006).
27. Lofgren L.A., LeBlank N.R., Certano A.K., Nachtigall J., LaBine K.M., Riddle J., Broz K., Dong Y., Bethan B., Kafer C.W., Kissler H.C. *Fusarium graminearum*: pathogen or endophyte of North American grasses? *New Phytologist*, 2018, 217(3): 1203-1212 (doi: 10.1111/nph.14894).