

## Санитарное качество кормов, кормовые добавки

УДК 636.085.19:633.2.03:632.4(470)

doi: 10.15389/agrobiology.2015.4.503rus

КОНТАМИНАЦИЯ МИКОТОКСИНАМИ ЛУГОВЫХ ТРАВ  
В ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

А.А. БУРКИН, Г.П. КОНОНЕНКО

Токсическое действие растений, поедаемых животными на выпасе, — сложная проблема с многообразием причин и клинических проявлений. Кроме фитотоксинов и так называемых «инфекционных» факторов, попадающих на растения с насекомыми (например, коринетоксинов бактерий), значительная роль принадлежит токсичным метаболитам эндофитных и эпифитных грибов. В нашей стране, согласно начатым в 1930-е годы исследованиям, для крупного рогатого скота, овец и лошадей в пастбищный и стойловый периоды основные риски связаны с эрготизмом, миротецио- и фузариотоксикозами. Однако в последние годы микотоксикологическая оценка травяных кормов не проводилась, и лишь в одном случае было указано на различия в контаминации дикорастущих злаков и возделываемых зерновых культур (А.А. Буркин с соавт., 2010). Целью настоящей работы стало исследование 517 образцов луговых трав с естественных пастбищ и сенокосов в европейской части России на загрязненность микотоксинами, проведенное нами впервые. Колосья овсяницы *Festuca* sp., пырея ползучего *Elytrigia repens* (L.), тимopheевки *Phleum* sp. и других локально встречающихся злаков отбирали в июле-октябре 2011 года в Северной Карелии, Тверской, Ленинградской и Астраханской областях. Летом и осенью 2014 года сборы наземных частей злаков и бобовых растений проводили в Московской, Тверской, Астраханской областях и в Северной Карелии. Средние образцы от производственных партий сена были предоставлены сельхозпредприятиями Московской области в период с декабря 2013 года по апрель 2014 года. Была установлена множественная сочетанная контаминация микотоксинами луговых злаковых и бобовых трав, в которой участвовали метаболиты грибов родов *Fusarium* — Т-2 токсин (Т-2), диацетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон (ЗЕН), фумонизины (ФУМ); *Alternaria* — альтернариол (АОЛ); *Myrothecium* — роридин А (РоА); так называемых «грибов хранения» — афлатоксин В<sub>1</sub> (АВ<sub>1</sub>), стеригматоцистин (СТЕ), циклопиазоновая кислота (ЦПК), эмодин (ЭМО), охратоксин А (ОА), цитринин (ЦИТ), микрофеноловая кислота (МФК), PR-токсин (PR), а также эргоалкалоиды (ЭА). В сборах из Московской и Тверской областей за период июнь—сентябрь для злаковых трав (вейник *Calamagrostis* sp., гребенник обыкновенный *Cynosurus cristatus* L., душистый колосок *Anthoxanthum odoratum* L., ежа сборная *Dactylis glomerata* L., костер *Bromus* sp., мятлик *Poa* sp., овес посевной *Avena sativa* L., овсяница, полевица *Agrostis* sp., пырей ползучий, тимopheевка, щетинник *Setaria* sp.) выявлена общая тенденция — изменение компонентного состава и содержания микотоксинов. Уже на ранних сроках развития (в июне) в растениях формировался комплекс, включающий все анализируемые микотоксины, при этом АОЛ, СТЕ, ЦПК и ЭМО встречались практически повсеместно (в 80-98 % образцов) и несколько реже (с частотой 50-70 %) — ДАС, ЭА, АВ<sub>1</sub>, ОА, ЦИТ и МФК. Этот период, в отличие от всех последующих, характеризовался низкими количествами Т-2 ( $\leq 40$  мкг/кг), ЗЕН ( $\leq 56$  мкг/кг), ЭА ( $\leq 64$  мкг/кг), АОЛ ( $\leq 200$  мкг/кг) и ЭМО ( $\leq 315$  мкг/кг) и незначительным, в пределах одного порядка, варьированием концентраций всех микотоксинов, за исключением РоА. Во втором сборе (июль) АОЛ и ЭМО сохраняли значительную степень контаминации (89 и 100 %) при возрастании встречаемости Т-2, ДОН, ЗЕН и расширении диапазона содержания этих фузариотоксинов, а также ЦПК и ЭА. Продолжение вегетации (август-сентябрь) сопровождалось стабильно высокими показателями распространенности и накопления Т-2 (до 795 мкг/кг), АОЛ (до 10000 мкг/кг), ЭМО (до 5620 мкг/кг), снижением частоты обнаружения АВ<sub>1</sub>, ЦПК, ОА, ЦИТ, МФК, PR, фузариотоксинов ДАС, ДОН, ФУМ, ЗЕН и случаями сверхвысокой аккумуляции ЗЕН (до 5750 мкг/кг). Обсуждаются особенности контаминации бобовых растений (клевер луговой *Trifolium pratense* L., клевер ползучий *Trifolium repens* L., чина луговая *Lathyrus pratensis* L., вика *Vicia* sp., горошек лесной *Vicia sylvatica* L.), а также луговых трав и сена разного ботанического состава. Впервые описана разная контаминация СТЕ травостоев и сена. Данные, полученные по РоА, представляют особую ценность, поскольку сведения о его распространенности очень ограничены.

Ключевые слова: луговые травы, злаки, бобовые культуры, сено, микотоксины.

Токсическое действие растений, поедаемых животными на выпасе, давно признано сложной проблемой с многообразием причин и клинических проявлений. Кроме фитотоксинов и так называемых «инфекцион-

ных» факторов, попадающих на растения с насекомыми (например, коринетоксинов бактерий), значительная роль принадлежит токсичным метаболитам эндофитных и эпифитных грибов (1). Эндофиты луговых трав, продуцирующие эргоалкалоиды, причиняли существенный ущерб животноводству в США и других странах (2, 3). Справиться с этой проблемой удалось лишь в последние годы благодаря успешному внедрению технологии сортозамещения (4-7). Токсины эпифитных грибов, инфицирующие вегетирующие кормовые растения, достаточно многообразны — фомопсины (*Phomopsis leptostromiformis*), диплодиатоксин (*Diplodia maydis*), слафрамины (*Rhizoctonia liguminiicola*), паспалинины (*Claviceps paspali*), эргоалкалоиды (*Claviceps purpurea*), трихотецены, зеараленон (8-10).

Изучение этиологии микогенных интоксикаций животных, начатое в нашей стране в 1930-е годы, показало, что для крупного рогатого скота (КРС), овец и лошадей в пастбищный и стойловый периоды основные риски связаны с эрготизмом, миротецио- и фузариотоксикозами. При первых симптомах отравлений было рекомендовано проверять пастбища на зараженность спорыньей и грибами рода *Myrothecium*, а также не допускать выпаса животных осенью по стерне и ранней весной на лугах с остатками перезимовавших злаков и молодой травой, поврежденной заморозками. При этом специалисты отмечали резкие изменения в накоплении микотоксинов под влиянием неизвестных причин. Нередко обширная пораженность грибами еще не означала опасности и, наоборот, при отсутствии видимых признаков инфицирования растений могли возникать острые интоксикации (11, 12). Эти наблюдения до сих пор остаются самым убедительным аргументом в пользу необходимости проведения токсикологического мониторинга травяных кормов.

Первое обследование луговых трав было предпринято нами в августе 2009 года в Северной Карелии на границе арктической зоны вдоль побережья Белого моря на участке протяженностью около 150 км между биостанциями Санкт-Петербургского государственного университета и Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Верхние части колосняка песчаного, пырея и тимфеевки, собранные от нескольких близко расположенных растений, были свободны от охратоксина А, цитринина и фузариотоксинов Т-2 токсина, дезоксиниваленола, зеараленона, однако содержали редко встречающиеся в зерне альтернариол (один из токсичных метаболитов грибов рода *Alternaria*) и диацетоксицирпенол (фузариотоксин трихотеценового ряда) (13). Так ранее было получено первое подтверждение различий в контаминации дикорастущих злаков и возделываемых зерновых культур.

Продолжая исследования, мы впервые в России выполнили выборочную микотоксикологическую оценку луговых травостоев, результаты которой представлены в настоящей статье. Полученные при этом данные в отношении клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) принципиально изменяют представления о локальных рисках, связанных с ним как с пространственной пастбищной культурой. Впервые описана разная контаминация травостоев и сена стеригматоцистином. Особый интерес представляют данные по роридину А, поскольку сведения о его распространенности очень ограничены.

Целью нашей работы стало обследование вегетирующих луговых трав с естественных пастбищ и сенокосов в европейской части России на загрязненность микотоксинами.

*Методика.* В июле-октябре 2011 года отбирали колосья овсяницы *Festuca* sp., пырея ползучего *Elytrigia repens* (L.), тимфеевки *Phleum* sp.

и других локально встречающихся злаков: в Северной Карелии (Лоухский р-н) — двукисточника тростникового *Phalaroides arundinacea* (L.) Rauschert, колосняка песчаного *Leymus arenarius* (L.) Hochst.; в Тверской области (Вышневолоцкий р-н) — веиника *Calamagrostis* sp., ежи сборной *Dactylis glomerata* L., костра *Bromus* sp., мятлика *Poa* sp., тростника обыкновенного *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., в Ленинградской (Лужский, Приозерский, Пушкинский районы) — веиника, двукисточника тростникового, ежи сборной, костра, мятлика, ржи *Secale* sp., в Астраханской (Енотаевский р-н) — костра, мятлика, пампасской травы *Cortaderia* sp., тростника обыкновенного. Летом и осенью 2014 года сборы надземных частей злаков (вейник, гребенник обыкновенный *Cynosurus cristatus* L., душистый колосок *Anthoxanthum odoratum* L., двукисточник тростниковый, ежа сборная, костер, колосняк песчаный, лисохвост *Alopecurus* sp., мятлик, овес посевной *Avena sativa* L., овсяница, полевица *Agrostis* sp., пырей ползучий, райграс *Lolium* sp., рожь, тимофеевка, щетинник *Setaria* sp.) и бобовых растений (вика *Vicia* sp., горошек лесной *Vicia sylvatica* L., клевер луговой *Trifolium pratense* L., клевер ползучий *Trifolium repens* L., чина луговая *Lathyrus pratensis* L.) проводили в Московской (Каширский, Ногинский, Рузский районы; июнь-сентябрь), Тверской (Вышневолоцкий р-н; июль, сентябрь), Астраханской областях (Енотаевский р-н, берег р. Волги; октябрь) и в Северной Карелии (Лоухский р-н, побережье Белого моря; август). Растения срезали на расстоянии 3-5 см от поверхности почвы и высушивали при 50 °С. Средние образцы от производственных партий сена были предоставлены сельхозпредприятиями Московской области в период с декабря 2013 года по апрель 2014 года.

Измельченный воздушно-сухой растительный материал экстрагировали смесью ацетонитрила и воды в объемном соотношении 86:14 при расходе экстрагента 10 мл на 1 г навески. Экстракты после 10-кратного разбавления буферным раствором использовали для непрямого конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА). Содержание Т-2 токсина (Т-2), диацетоксисцирпенола (ДАС), дезоксиниваленола (ДОН), зеараленона (ЗЕН), фумонизинов (ФУМ), эргоалкалоидов (ЭА), альтернариола (АОЛ), роридина А (РоА), афлатоксина В<sub>1</sub> (АВ<sub>1</sub>), стеригматоцистина (СТЕ), циклопиазоновой кислоты (ЦПК), эмодаина (ЭМО), охратоксина А (ОА), цитринина (ЦИТ), микофеноловой кислоты (МФК) и PR-токсина (PR) оценивали с помощью аттестованных иммуноферментных тест-систем (14). Нижний предел количественных измерений определяли по 85 % уровню связывания антител.

**Результаты.** В колосьях злаков, собранных в июле-октябре 2011 года, повсеместно обнаруживали АОЛ. ДАС был найден только в одном образце из Тверской области (табл. 1).

### 1. Контаминация фузариотоксинами, альтернариолом и эргоалкалоидами колосьев дикорастущих злаков в разных регионах европейской части России (сбор 2011 года)

Микотоксин	<i>n</i> <sup>+</sup> /минимальное-максимальное содержание, мкг/кг			
	Тверская обл., июль ( <i>n</i> = 29)	Северная Карелия, август ( <i>n</i> = 19)	Ленинградская обл., сентябрь ( <i>n</i> = 65)	Астраханская обл., октябрь ( <i>n</i> = 48)
Т-2	23/14-450	1/10	19/8-125	5/8-60
ДАС	1/100	—	—	—
ДОН	2/126, 225	—	1/150	—
ЗЕН	—	—	—	—
ЭА	19/10-69000	9/19-16980	27/17-5250	2/10, 80
АОЛ	11/40-560	5/343-8310	52/40-1320	39/45-1260

П р и м е ч а н и е. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диацетоксисцирпенон, ДОН — дезоксиниваленон, ЗЕН — зеараленон, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол; *n* — число исследованных проб, *n*<sup>+</sup> — число положительных проб. Прочерк означает, что положительных проб не обнаружили.

В двух местах произрастания (Северная Карелия, Астраханская обл.) злаки содержали Т-2 редко и в малых количествах, в остальных (Тверская, Ленинградская области) — достаточно часто и в количествах более 100 мкг/кг, а ДОН — в редких случаях. В Тверской, Ленинградской областях и в Северной Карелии, входящих в ареал спорыньи, наблюдалась обширная контаминация колосьев эргоалкалоидами (ЭА), сверхвысокое накопление которых могло быть следствием завершения созревания склероциев. Последующий расширенный анализ 29 образцов из Тверской области (на 16 микотоксинов) показал обширную контаминацию колосьев ЭМО (24 образца, 80-4680 мкг/кг) и не столь частую — ОА, СТЕ (по 7 образцов, 8-25 мкг/кг) и ЦПК (3, 125-160 мкг/кг). Это означало, что в инфицировании вегетирующих растений участвовали не только токсинообразующие виды грибов *Fusarium*, *Alternaria* и продуценты эргоалкалоидов, но и представители других микромицетов, предположительно относящихся к родам *Aspergillus*, *Penicillium* или, возможно, целому ряду других родов.

Дальнейшее обследование луговых трав проводили с использованием панели из 16 аналитических тест-систем, в большинство сборов наряду со злаками включали бобовые травы. В Московской области уже в начале вегетации (июнь) отмечалась множественная сочетанная загрязненность злаков с участием всех анализируемых микотоксинов (табл. 2). Количество ЭА было невелико (до 64 мкг/кг). Практически повсеместно встречались АОЛ, СТЕ, ЦПК и ЭМО, распространенность ДАС, ОА, ЦИТ, МФК, АВ<sub>1</sub> и ЭА была близка к 50 %, для РоА и РР этот показатель составлял соответственно 35 и 23 %. Т-2, ЗЕН, ДОН по частоте обнаружения уступали ДАС, а ФУМ был найден всего в 2 % образцов.

## 2. Встречаемость и содержание микотоксинов в луговых злаках в разных регионах европейской части России в зависимости от сроков вегетации (сбор 2014 года)

Микотоксин	Встречаемость, %/минимальное-максимальное содержание, мкг/кг							
	Московская обл.				Тверская обл.		Северная Карелия	Астраханская обл.
	июнь (n = 92)	июль (n = 55)	август (n = 46)	сентябрь (n = 17)	июль (n = 21)	сентябрь (n = 16)	август (n = 22)	октябрь (n = 18)
Т-2	32/3-40	65/4-760	70/4-795	65/4-630	86/4-2510	69/5-540	23/3-630	33/3-220
ДАС	52/104-500	22/89-500	2/125	—	29/117-400	6/220	—	6/160
ДОН	15/126-315	31/117-930	2/125	12/78,400	24/79-400	6/120	5/570	6/500
ЗЕН	17/27-56	27/52-145	11/25-5750	12/79, 1520	29/49-100	—	—	—
ФУМ	2/66, 85	4/126, 215	—	—	—	—	—	—
ЭА	70/2-64	53/2-52200	35/3-2000	24/2-870	67/4-33000	31/2-125	100/2-10000	—
АОЛ	98/19-200	89/28-830	100/28-2240	100/31-10000	86/25-135	94/24-9770	100/40-4680	83/40-2510
РоА	35/8-265	20/2-80	—	—	24/21-50	—	5/7	—
АВ <sub>1</sub>	51/2-16	15/4-10	2/5	—	10/6, 8	—	23/4-10	6/3
СТЕ	80/10-53	33/9-95	59/8-190	71/13-80	29/32-70	75/13-135	68/12-45	44/12-40
ЦПК	95/151-660	49/115-1380	11/166-330	—	76/200-515	—	18/132-280	11/155, 158
ЭМО	87/33-315	100/73-3890	100/56-5620	100/72-5130	86/59-330	100/59-5370	95/63-870	94/51-2500
ОА	55/8-28	36/8-21	13/7-9	—	57/6-20	—	14/9-13	17/10-370
ЦИТ	50/33-160	27/66-295	9/42-70	—	19/91-175	—	—	—
МФК	60/14-84	40/14-80	15/10-150	24/12-25	67/18-45	—	41/20-170	28/23-35
РР	23/105-400	24/120-430	2/165	—	19/200-250	—	—	—

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — дицетоксисцирпенол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, РоА — роридин А; АВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — оксратоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микрофеноловая кислота, РР — РР-токсин; n — число исследованных проб. Прочерк означает, что положительных проб не обнаружили.

Для большинства микотоксинов варьирование их количества было незначительным: оставалось в пределах одного порядка для ДАС, ДОН, ЗЕН, ФУМ, СТЕ, ЦПК, МФК, РР или составляло один порядок у всех остальных, за исключением РоА. По-видимому, в начальной стадии развития растений разные злаки сходным образом реагируют на инфицирова-

ние грибами-продуцентами. Эту же особенность наблюдали в Ленинградской области в сеяных злаковых травостоях перед первым укосом (15).

Через месяц, в июле, для ДАС, РоА, АВ<sub>1</sub>, СТЕ, ЦПК, ОА, ЦИТ и МФК показатель встречаемости снижался. При этом наблюдалось расширение диапазона содержания как фузариотоксинов (наиболее резкое у Т-2), так и ЭА, АОЛ, СТЕ, ЦПК и ЭМО. Именно в этот период в растениях отмечалось сверхвысокое количество ЭА, вплоть до 52200 мкг/кг.

В августе и сентябре характер контаминации растений Т-2 сохранялся, тогда как ДАС обнаруживался еще реже. Чрезвычайно важно отметить случаи накопления ЗЕН в количествах, превышающих 1000 мкг/кг, поскольку в этом предположительно могли участвовать виды *Fusarium*, склонные к изменению метаболического ответа под действием факторов внешней среды (16). Распространенность АОЛ и ЭМО оставалась повсеместной, интенсивность накопления АОЛ плавно прогрессировала, и в сентябре количество этого токсина могло достигать 10000 мкг/кг. Содержание ЭМО было стабильным с предельным значением около 5000 мкг/кг. Встречаемость многих других токсинов снижалась. Так, в августе в злаках не удалось обнаружить РоА, гораздо реже по сравнению с июлем выявляли АВ<sub>1</sub>, ОА, ЦИТ, ЦПК, МФК и РР. В сентябре АВ<sub>1</sub>, ОА, ЦИТ, ЦПК и РР не находили вовсе.

Динамика распространенности и содержания ДОН и СТЕ носила неустойчивый характер. Наибольшее количество ДОН составило 930 мкг/кг. Для СТЕ типичным было содержание ниже 100 мкг/кг, превышения этого значения случались редко и только на поздних сроках вегетации растений (август, сентябрь).

Некоторые тенденции, описанные для злаков в Московской области, сохранялись и в Тверской (см. табл. 2). Так, в сентябре по сравнению с июлем встречаемость большинства микотоксинов снижалась, увеличивался диапазон содержания АОЛ и ЭМО, сверхвысоких содержаний ЭА и ЗЕН отмечено не было. В Северной Карелии (август) и Астраханской области (октябрь) злаки имели обедненный состав микотоксинов с доминирующим распространением АОЛ и ЭМО, но в меньших количествах, чем в сентябре в Московской и Тверской областях. Причиной этого могла быть низкая инфекционная нагрузка в местах произрастания.

Сезонная изменчивость в контаминации злаковых растений, разная по направленности для отдельных групп микотоксинов, вероятнее всего, была следствием процессов, происходящих в составе их микобиоты. Она могла иметь закономерный характер, однако нельзя исключать и влияние климатических или экологических факторов. Получение статистически достоверной информации о характере загрязненности луговых и пастбищных трав микромицетами и микотоксинами в течение всего периода их хозяйственного использования по расширенной базе данных — важнейшая задача для исследователей на будущее. Результаты, изложенные в настоящей работе, — это первая попытка микотоксикологической оценки злаков естественных травостоев, которая позволит в дальнейшем перейти к изучению отдельных наиболее распространенных видов растений.

В образцах клевера лугового, отобранных в Московской, Тверской областях и Северной Карелии, комплекс микотоксинов, как правило, состоял из 12-15 компонентов (табл. 3). АОЛ, ЭМО, ОА, РР, ЦИТ и МФК имели повсеместную или близкую к ней распространенность, РоА — достаточно значительную (в половине образцов). Сверхвысокое содержание ЭМО (до 27540 мкг/кг) отмечали у этой культуры в разных местах обитания в июле, августе и сентябре.

### 3. Контаминированность образцов луговых бобовых трав микотоксинами по Московской, Тверской областям и Северной Карелии (2014 год)

Микотоксин	$n^+$ /минимальное-максимальное содержание в образце, мкг/кг				
	клевер луговой ( $n = 35$ )	клевер ползучий ( $n = 5$ )	вика ( $n = 11$ )	горошек лесной ( $n = 12$ )	чина луговая ( $n = 6$ )
Т-2	29/3-108	4/3-4	8/3-50	3/5-6	1/6
ДАС	19/122-550	—	2/132, 133	—	—
ДОН	11/89-405	—	—	3/126-140	1/67
ЗЕН	15/31-190	1/90	—	—	—
ФУМ	18/42-300	3/56-245	—	2/56, 56	1/100
ЭА	35/2-490	5/4-9	5/3-62	12/2-15	3/3-8
АОЛ	35/30-830	5/129-400	11/19-310	12/23-100	6/20-540
РоА	17/7-185	1/100	3/35-125	—	1/4
АВ <sub>1</sub>	29/3-22	4/5-15	3/5	4/2-6	5/2-6
СТЕ	28/18-200	4/42-115	10/25-2320	11/15-45	6/10-70
ЦПК	35/190-2455	5/176-540	6/158-525	9/107-560	2/155, 165
ЭМО	35/260-27540	5/155-5500	11/63-1585	11/51-1000	6/50-150
ОА	35/7-105	4/10, 11	5/11-15	4/8-16	1/10
ЦИТ	30/42-340	3/72-90	3/91-125	—	—
МФК	33/14-130	5/22-40	3/28-40	2/16, 16	—
PR	35/148-910	3/158-315	3/176-400	2/133, 150	—

Примечания. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диаетоксисцирпенол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зеараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, РоА — роридин А; АВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — охратоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микрофеноловая кислота, PR — PR-токсин;  $n$  — число исследованных проб,  $n^+$  — число положительных проб. Проверк означает, что положительных проб не обнаружили.

Полученные нами данные принципиально изменяют существующее представление о локальных рисках, связанных с этой важнейшей пастбищной культурой. Ранее к экономически значимым относили встречающуюся в отдельных регионах мира (в частности, в США) зараженность клевера грибом *Rhizoctonia leguminicola* и синдром «слюнявости» у рогатого скота и лошадей, вызванный слафрамином и свайнсоином (17). Обширная множественная контаминация микотоксинами, свойственными значительному многообразию видов грибов, не вполне согласуется с развитой системой биохимической защиты этих растений от инфицирования грибами (18).

Несмотря на меньшую выборку клевера ползучего, в целом у него сохранялись те же признаки обширной контаминации, что и у клевера лугового. Прослеживалась повсеместная или близкая к ней встречаемость той же группы микотоксинов, но предельные их накопления не достигали значений, характерных для клевера лугового.

Число образцов вики, чины луговой и горошка лесного также было небольшим (от 6 до 12). В этих растениях практически повсеместно встречались только АОЛ, СТЕ, ЭМО, по содержанию остальных микотоксинов они уступали обоим видам клевера. У вики наблюдалось сходство с клеверами по частой встречаемости Т-2, а также, хоть и редко, обнаружению ДАС и ЦИТ. К особенности *Vicia* sp. можно отнести и возможность интенсивной контаминации СТЕ (до 2320 мкг/кг).

В целом у бобовых в отличие от злаков даже на поздних сроках вегетации не наблюдалось накопления Т-2 в количествах, превышающих 100 мкг/кг. К сожалению, малые по объему выборки этих растений позволяют получить лишь общее представление о загрязненности микотоксинами. Для уточнения данных и оценки сезонной изменчивости контаминации бобовых трав необходимо располагать более обширным биоматериалом. Важно расширить видовой состав изучаемых культур, включив в него такие хозяйственно значимые растения, как люцерна, эспарцет, люцерна, козлятник, донник и др.

Выявив отчетливую сезонную динамику контаминации у злаков и

межвидовые различия по содержанию микотоксинов у бобовых, мы посчитали целесообразным обобщить результаты по Московской области, полученные за весь период наблюдений, и сопоставить их с данными по загрязненности сухих травяных кормов, заготовленных на той же территории годом ранее. В контаминации трав в летне-осенний период участвовали все 16 микотоксинов, обеспечивая многокомпонентную загрязненность с варьированием количеств Т-2, ЗЕН, ЭА, АОЛ и ЭМО в пределах двух-трех порядков (табл. 4).

#### 4. Встречаемость и содержание микотоксинов в образцах луговых трав и сена в Московской области (сбор 2014 года)

Микотоксин	Встречаемость, %/минимальное-максимальное содержание, мкг/кг	
	луговые травы ( $n = 227$ )	сено ( $n = 120$ )
Т-2	54/3-795	94/3-1410
ДАС	32/89-550	19/100-1445
ДОН	19/78-930	28/87-1620
ЗЕН	21/25-5750	45/20-10000
ФУМ	4/66-300	8/97-250
ЭА	57/2-52200	83/2-3160
АОЛ	96/19-0000	98/21-10000
РоА	23/2-265	13/5-65
АВ <sub>1</sub>	30/2-6	25/2-25
СТЕ	64/8-200	88/6-7940
ЦПК	60/115-2455	67/63-5130
ЭМО	95/33-27540	100/33-17780
ОА	41/7-105	14/5-30
ЦИТ	35/33-340	33/28-515
МФК	46/10-150	88/15-10000
PR	23/105-790	26/50-1070

Примечание. Т-2 — Т-2 токсин, ДАС — диаетоксисцирпенол, ДОН — дезоксиниваленол, ЗЕН — зезараленон, ФУМ — фумонизины, ЭА — эргоалкалоиды, АОЛ — альтернариол, РоА — роридин А; АВ<sub>1</sub> — афлатоксин В<sub>1</sub>, СТЕ — стеригматоцистин, ЦПК — циклопиазоновая кислота, ЭМО — эмодин, ОА — ократоксин А, ЦИТ — цитринин, МФК — микофеноловая кислота, PR — PR-токсин;  $n$  — число исследованных проб.

Частое обнаружение в травах (20-96 %) фузариотоксинов, а также ЭА, АОЛ и РоА можно объяснить распространением «полевых» грибов. Напротив, высокие значения этого показателя для всех остальных микотоксинов (23-90 %) были весьма неожиданными, необходимо специальное исследование по идентификации микромицетов, обеспечивающих биосинтез этих веществ. До сих пор принято считать, что в вегетирующих растениях вероятность накопления микотоксинов, свойственных типичным «грибам хранения», в частности ОА, крайне невелика (19).

Для большинства микотоксинов частота обнаружения в травах и сене была вполне сопоставимой, но для Т-2, ЗЕН и МФК в сене наблюдалось значительное (примерно 2-кратное) возрастание этого показателя и диапазон содержаний отчетливо смещался в сторону больших значений. Возможные источники и причины накопления значительного количества ЗЕН в вегетирующих травах и сене уже обсуждались нами (16). При выборочной токсикологической оценке сена из разных областей европейской части страны верхние пороговые значения для Т-2 и МФК превышали 2000 мкг/кг (20). В трех образцах сена многолетних трав и разнотравья СТЕ встречался в аномально высоких количествах — 2510, 3550 и 7940 мкг/кг. Различия вегетирующих травостоев и сена по интенсивности контаминации СТЕ обнаружены впервые. К их обоснованной интерпретации можно будет переходить только после завершения поиска микромицетов, ответственных за биосинтез СТЕ. Очевидно, что эти грибы не только продолжают развиваться в фазе высушивания, но и интенсифицируют токсинообразование в этих условиях. Кроме того, причины значительного накопления СТЕ, возможно, связаны с особенностями бо-

танического состава корма.

Загрязненность сена АОЛ сохранялась высокой, в отношении ДОН, ФУМ, АВ<sub>1</sub>, ОА, ЦИТ ситуация кардинально не менялась, для ЭА и РоА предельные количества оказались ниже, чем в травах. Ситуацию с ЭА можно объяснить осыпанием склероциев спорыньи при ворошении, укладке сена в стога или тюки, а также при транспортировке. Снижение частоты встречаемости РоА с 23 % в растениях до 13 % в сене сопровождалось уменьшением среднего показателя накопления с 48 до 20 мкг/кг. Эти результаты представляют особую ценность, поскольку сведения по распространенности РоА очень ограничены. В сеяных травах на полях с многоукосным использованием встречаемость и содержание РоА были низкими (8). В луговых травах случаи накопления РоА в количествах 100 мкг/кг и выше оказались редкими. Из всех образцов, содержащих этот токсин ( $n^+ = 51$ ), только в семи его количество составляло от 100 до 265 мкг/кг. В этой связи возможность появления миротецитотоксикозов жвачных на территориях обследования вызывает сомнения.

Напротив, высокие предельные содержания Т-2, ДАС, ЗЕН, ЭА в луговых растениях из ряда областей европейской России, а также в сухих зеленых кормах, несомненно, представляют угрозу здоровью животных, а следовательно, фузариотоксикоз и эрготизм можно рассматривать как реальную проблему. Действительно, в конце 1990-х годов в Курской области при выпасе телят на подмороженном травостое кукурузы с интенсивным поражением *F. sporotrichioides* в нескольких районах был диагностирован массовый острый токсикоз с появлением язв в ротовой полости. Случаев эрготизма, клавицепсо- и зеараленонтоксикоза крупного рогатого скота, овец и лошадей в нашей стране не зафиксировано, но подобные примеры описаны в других странах (21-24). К сожалению, негативные последствия от поступления в организм АОЛ, ЭМО, СТЕ, ЦПК, МФК и РР с кормами в количестве тысяч или десятков тысяч микрограммов в расчете на 1 кг пока экспериментально не оценивались, но угроза может оказаться весьма серьезной из-за сочетания у каждого из них разных форм непосредственного и отдаленного токсического действия (25).

Таким образом, многие виды злаковых и бобовых кормовых трав служат источником поступления в организм животных сложного комплекса микотоксинов, который подвержен изменениям в процессе вегетации и у разных культур имеет свои особенности состава и соотношения отдельных компонентов. Контаминация травостоев Т-2 токсином, зеараленоном, микофеноловой кислотой и стеригматоцистином перед высушиванием может приводить к сверхинтенсивной загрязненности сена. Выборочная оценка загрязненности луговых трав микотоксинами, выполненная в нашей стране впервые, свидетельствует о необходимости расширения мониторинговых исследований, их распространения на другие растительные объекты, а также проведения токсикологических экспериментов, позволяющих оценить опасность сочетанного воздействия на животных микотоксинов, поступающих в организм с травяными злаковыми и бобовыми кормами. В перспективе чрезвычайно важно также уделить внимание микологической и микотоксикологической оценке луговых сложноцветных растений, имеющих хозяйственное значение, осоковых трав, составляющих в северных районах лесной зоны основную массу сена (осока стройная, осока водяная и др.), а также растений других ботанических семейств, широко представленных на природных кормовых угодьях.

*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.*



## MYCOTOXIN CONTAMINATION OF MEADOW GRASSES IN EUROPEAN RUSSIA

A.A. Burkin, G.P. Kononenko

All-Russian Research Institute of Sanitary, Hygiene and Ecology, Federal Agency of Scientific Organizations,  
5, Zvenigorodskoe sh., Moscow, 123022 Russia, e-mail kononenkopp@mail.ru

Acknowledgements:

The authors thank the Head of Central Veterinary Office for Moscow Province and the staff of Territorial Offices  
for Animal Health Control for assistance in sampling hay

Received May 19, 2015

doi: 10.15389/agrobiology.2015.4.503eng

### Abstract

A toxicity of plants eaten by animals at grazing land is shown to be complicated with various causes and clinical manifestations. In addition to phytotoxins and «infection» factors carried onto the plants by the insects (e.g., bacterial corynetoxins), the toxic metabolites of endophytic and epiphytic fungi are considered to play the significant role. Based on early understanding, the local risks for cattle, sheep and horses during grazing and stable periods were caused mainly by ergotism, myrothecio- and fusariotoxicoes. Then, for a long time a mycotoxicological evaluation of local grass feeds was not carried out. To date, there is the only one study indicating differences between contaminations of the wild-growing gramineous plants and cultivated cereal crops (A.A. Burkin et al., 2010). The aim of the paper was to summarize our data of assaing 517 meadow grass samples from natural pastures and haying places in European Russia undertaken for the first time to determine contamination with mycotoxins. The spikes of fescue *Festuca* sp., couch grass *Elytrigia repens* (L.), timothy *Phleum* sp., and other locally occurring gramineous plants were selected in North Karelia, Tverskaya, Leningradskaya and Astrakhanskaya regions for July-October 2011. For summer and autumn 2014 collections the aboveground parts of gramineous plants and legumes were taken from Moskovskaya, Tverskaya, Astrakhanskaya regions and North Karelia. The average samples of the field sets of hay were obtained from the animal farms of Moskovskaya region from December 2013 up to April 2014. A multiple combined contamination of grassland gramineous plants and legumes by the mycotoxins was detected, particularly we have found the *Fusarium* fungi metabolites T-2 toxin (T-2), diacetoxyscirpenol (DAS), deoxynivalenol (DON), zearalenone (ZEN), fumonisins (FUM), the *Alternaria* metabolite alternariol (AOL), the *Myrothecium* metabolite roridin A (RoA), the «storage fungi» metabolites 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), and also the ergot alkaloids (EA). The common trend to changing the component composition and content of mycotoxins was revealed for collected samples of gramineous plants from Moskovskaya and Tverskaya regions (June-September) such as reed grass *Calamagrostis* sp., crested dog's tail *Cynosurus cristatus* L., sweet vernal grass *Anthoxanthum odoratum* L., cock's foot *Dactylis glomerata* L., brome-grass *Bromus* sp., bluegrass *Poa* sp., oats *Avena sativa* L., fescue *Festuca* sp., bentgrass *Agrostis* sp., couch grass *Elytrigia repens* (L.), timothy *Phleum* sp., bristly foxtail grass *Setaria* sp. The complex of all examined mycotoxins was found to be formed in plants during early growing period (June). Moreover, AOL, STE, CPA and EMO were detected almost in all locations (80-98 % of samples), whereas DAS, EA, AB<sub>1</sub>, OA, STE and MPA occurred rarely (50-70 %). This period, in contrast to subsequent ones, was characterized by low level of T-2 ( $\leq 40$  µg/kg), ZEN ( $\leq 56$  µg/kg), EA ( $\leq 64$  µg/kg), AOL ( $\leq 200$  µg/kg) and EMO ( $\leq 315$  µg/kg) and its negligible (no more than 10-fold) variations in all mycotoxins with the exception of RoA. In the second collection of samples (July) AOL and EMO remained the significant contaminants (89 and 100 %) with an increased incidence of T-2, DON, ZEN and a wider range of the fusariotoxins, CPA and EA amounts. During continued vegetation (August-September) there were stable high indices of prevalence and accumulation of T-2 (up to 795 µg/kg), AOL (up to 10000 µg/kg), EMO (up to 5620 µg/kg), a decreasing incidence of AB<sub>1</sub>, CPA, OA, CIT, MPA, PR, DAS, DON, FUM, ZEN fusariotoxins, and super high level of ZEN (up to 5750 µg/kg) occurred occasionally. The peculiarities of contamination of the legumes, such as meadow clover *Trifolium pratense* L., white clover *Trifolium repens* L., narrow-leaved vetch *Vicia* sp., wood vetch *Vicia sylvatica* L., meadow peavine *Lathyrus pratensis* L., the meadow grasses and the hay of various botanic compositions are discussed. For the first time a contamination of herbage with STE has been shown. The data obtained on RoA are especially important due to limited information of its prevalence.

Keywords: meadow grasses, gramineous plants, pod-bearing plants, hay, mycotoxins.

## REFERENCES

1. Cheeke P.R. Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and the effects on livestock. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73(3): 909-918.
2. Powell R.G., Petroski R.J. Alkaloid toxins in endophyte-infected grasses. *Natural Toxins*, 1992, 1: 163-170 (doi: 10.1002/nt.2620010304).
3. Takach J.E., Mittal S., Swoboda G.A., Bright S.K., Trammel M.K., Hopkins A.A., Young C.A. Genotypic and chemotypic diversity of *Neotyphodium* endophytes in tall fescue from Greece. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, 78: 5501-5510 (doi: 10.1128/AEM.01084-12).
4. Porter Dzh.K. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1993, 29(1): 51-55.
5. Hopkins A., Young C., Panaccione D., Simpson W., Mittal S., Bouton J. Agronomic performance and lamb health among several tall fescue and endophyte combinations in the south-central USA. *Crop Sci.*, 2010, 50: 1552-1561 (doi: 10.2135/cropsci2009.08.0473).
6. Parish J.A., Parish J.R., Best T.F., Boland H.T., Young C.A. Effects of selected endophytes and tall fescue cultivar combinations on steer grazing performance, indicators of fescue toxicosis, feedlot performance, and carcass traits. *J. Anim. Sci.*, 2013, 91: 342-355 (doi: 10.2527/jas.2011-4725).
7. Beck P., Stewart C., Gray H., Gadberry M., Gunter S., Young C., Hopkins A.A. Using tall fescue in a complementary grazing program for spring calving beef cows in Southern Arkansas. *Prof. Anim. Sci.*, 2014, 30: 423-431 (doi: 10.15232/pas.2013-01300).
8. Wicklow D.T., Rogers K.D., Dowd P.F., Gloer J.B. Bioactive metabolites from *Stenocarpella maydis*, a stalk and ear rot pathogen of maize. *Fungal Biol.*, 2011, 115: 133-142 (doi: 10.1016/j.funbio.2010.11.003).
9. Krška R., Crews C. Significance, chemistry and determination of ergot alkaloids: A review. *Food Additives and Contaminants*, 2008, 25(6): 722-731 (doi: 10.1080/02652030701765756).
10. Skládanka J., Nedělník J., Adam V., Doležal P., Moravcová H., Dohnal V. Forage as a primary source of mycotoxins in animal diets. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2011, 8: 37-50 (doi: 10.3390/ijerph8010037).
11. Meisner A.F. *Na zashchitu uroznya*, 1934, 10: 15-16.
12. Khmelevskii B.N., Pilipets V.I., Malinovskaya L.S., Kostin V.V., Komarnitskaya N.P., Ivanov V.G. *Profilaktika mikotoksikozov zhivotnykh* [Mycotoxicosis prevention in animals]. Moscow, 1985.
13. Burkin A.A., Kononenko G.P. *Immunologiya, allergologiya, infektologiya*, 2010, 1: 186-187.
14. Burkin A.A., Kononenko G.P. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2013, 49(5): 522-530 (doi: 10.7868/S0555109913050036).
15. Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Burkin A.A., Kononenko G.P. *Fusarium* fungi and mycotoxins on cultivated forage grasses. *Book of abstracts of 13<sup>th</sup> European Fusarium seminar*. Apulia, Italy, 2015: 149.
16. Burkin A.A., Kononenko G.P., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2015, 50(2): 255-262 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.255rus, 10.15389/agrobiology.2015.2.255eng).
17. Fink-Gremmels J. V knige: *Mikotoksiny i mikotoksikozy* /Pod redaktsiei D. Diaza [In: Mycotoxins and mycotoxicoses. D. Diaz (ed.)]. Moscow, 2006: 157-178.
18. Popravko S.A., Kononenko G.P., Sokolova S.A. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1984, 20(6): 723-732.
19. Mobashar M., Hummel J., Blank R., Sudicum K.-H. Ochratoxin A in ruminants — a review on its degradation by gut microbes and effects on animals. *Toxins*, 2010, 2: 809-839 (doi: 10.3390/toxins204809).
20. Kononenko G.P., Burkin A.A. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [Agricultural Biology], 2014, 4: 120-126 (doi: 10.15389/agrobiology.2014.4.120rus, 10.15389/agrobiology.2014.4.120eng).
21. Di Menna M.E., Lauren D.R., Holland P.T. Presence of zearalenone in New Zealand pasture leaves. *New Zealand Vet. J.*, 1985, 33: 193 (doi: 10.1080/00480169.1985.35232).
22. Tyler J.W., Shelby R.A., Sartin E.A., Wolfe D.F., Steiss J.E., Sorjonen D.C., Powe T.A., Spano J.A. Naturally occurring neurologic disease in calves fed *Claviceps* sp. infected Dallis grass hay and pasture. *Progress in Veterinary Neurology*, 1992, 3(3): 101-106.
23. Zinedine A., Soriano J.M., Molty J.C., Maces J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food Chem. Toxicol.*, 2007, 45: 1-18 (doi: 10.1016/j.fct.2006.07.030).
24. Appelt M., Ellner F.M. Investigations into the occurrence of alkaloids and single sclerotia from the 2007 and 2008 harvests. *Mycotox. Res.*, 2009, 25: 95-101 (doi: 10.1007/s12550-009-0014-2).
25. Didwania N., Joshi M. Mycotoxins: a critical review on occurrence and significance. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2013, 5(3): 1014-1019.