Определение родового состава грибов и общей токсичности кормов, произведенных на территории Республики Крым

С. С. Ибрагимова¹, О. В. Прунтова², С. И. Данильченко³, Е. С. Ерофеева⁴

^{1,3,4} Филиал ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в Республике Крым, г. Симферополь, Россия

² ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0003-3886-7702, e-mail: ibragimova@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-3143-7339, e-mail: pruntova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-7796-7349, e-mail: danylchenko@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-5060-6105, e-mail: erofeeva@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Микотоксикозы животных, причиной которых является употребление загрязненных токсинообразующими микромицетами кормов, представляют серьезную проблему для сельского хозяйства и имеют большое значение при производстве сельскохозяйственной продукции. В период с 2017 по 2019 г. проведен анализ кормов и кормового сырья, произведенных на территории Республики Крым, на содержание и родовой состав плесневых грибов, изучена общая токсичность кормовой продукции методом постановки биопробы на кроликах. Для проведения исследований было отобрано 252 образца, из которых большую часть составили зерновые корма – 124 пробы; 70 проб были представлены грубыми кормами, 58 – комбикормами. В результате проведенных исследований установлено, что основными загрязнителями были представители таких родов, как: *Mucor* (67,9%), *Penicillium* (26,6%), *Aspergillus* (13,1%), *Fusarium* (9,1%), *Alternaria* (8,7%), *Stachybotrys* (3,6%) и *Rhizopus* (2,0%). Выявили, что корма подвержены загрязнению плесневыми грибами как в период вегетации и уборки, так и во время перевозки и хранения. Так, микромицетами родов *Penicillium* (37,8%) и *Stachybotrys* (6,7%) чаще были загрязнены корма весной; токсинообразующими плесневыми грибами родов *Fusarium* (14,9%), *Alternaria* (13,9%) и *Rhizopus* (3,0%) – корма, отобранные и исследованные осенью; представителей родов *Mucor* (78,0%) и *Aspergillus* (22,0%) наиболее часто выявляли в зимний период. При определении общей токсичности кормов и кормовой продукции установили, что из 124 исследуемых образцов зерновых кормов слаботоксичными были 9 (7,3%), токсичными – 10 проб (8,1%). Из 58 испытываемых образцов комбикорма слабую токсичность проявили 5 проб (8,6%), а выраженную токсичность – 2 образца (3,4%). Показано, что самый высокий процент токсичного корма выявляли в весенний период (25,0%), зимой данный показатель составил 18,2%, осенью – 13,7%, летом – 4,5%.

Ключевые слова: плесневые грибы, микологический анализ, микромицеты, загрязнение, общая токсичность.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Ибрагимова С. С., Прунтова О. В., Данильченко С. И., Ерофеева Е. С. Определение родового состава грибов и общей токсичности кормов, произведенных на территории Республики Крым. *Ветеринария сегодня*. 2020; 4 (35): 290–297. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-290-297.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ибрагимова Селиме Серверовна, аспирант, руководитель сектора Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, 295494, Россия, г. Симферополь, пос. Комсомольское, ул. Шоссейная, 21А, e-mail: ibragimova@arriah.ru.

UDC 619:615.9:636.085

Determination of fungal genera composition and total toxicity of feed produced in the Republic of Crimea

S. S. Ibragimova¹, O. V. Pruntova², S. I. Danilchenko³, Ye. S. Erofeeva⁴

^{1,3,4} Branch of FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH") in the Republic of Crimea, Simferopol city, Russia

² FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0003-3886-7702, e-mail: ibragimova@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-3143-7339, e-mail: pruntova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-7796-7349, e-mail: danylchenko@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-5060-6105, e-mail: erofeeva@arriah.ru

SUMMARY

Animal mycotoxicoses caused by ingestion of toxicogenic micromycete-contaminated feed are of major concern for agricultural industry and of great importance for production of agricultural products. In 2017–2019, feed and raw feed materials produced in the Republic of Crimea were tested for mold fungi and genera

composition thereof; the feedstuffs were tested for total toxicity by bioassay in rabbits. A total of 252 samples including 124 grain feed samples, 70 forage samples, 58 mixed feed samples were selected for testing. Tests showed that the major detected contaminants were members of the following genera: *Mucor* (67.9%), *Penicillium* (26.6%), *Aspergillus* (13.1%), *Fusarium* (9.1%), *Alternaria* (8.7%), *Stachybotrys* (3.6%) and *Rhizopus* (2.0%). It was revealed that feed were exposed to mold fungi contamination during vegetation and harvesting as well as during transportation and storage. Thus, in spring the feed were more often contaminated with micromycetes of *Penicillium* genus (37.8%) and *Stachybotrys* genus (6.7%); feed collected and tested in autumn were more often contaminated with toxigenic mold fungi of *Fusarium* genus (14.9%), *Alternaria* genus (13.9%) and *Rhizopus* genus (3.0%); in winter members of *Mucor* genus (78.0%) and *Aspergillus* genus (22.0%) were most often detected in feed. Tests for determination of total toxicity showed that 9 (7.3%) and 10 (8.1%) samples out of 124 tested grain feed samples were low toxic and evidently toxic, respectively. Tests of mixed feed samples for toxicity showed that 5 samples (8.6%) and 2 (3.4%) samples out of 58 mixed feed samples were low toxic and evidently toxic, respectively. It was shown that the proportion of contaminated feed was the highest in spring (25.0%) as compared to proportion of the contaminated feed in winter (18.2%), in autumn (13.7%) and in summer (4.5%).

Key words: fungi, mycological analysis, micromycetes, contamination, total toxicity.

Acknowledgment: The experiment was carried out at the expense of the FGBl "ARRIAH" in the framework of the research topic "Animal Welfare".

For citation: Ibragimova S. S., Pruntova O. V., Danilchenko S. I., Yerofeeva Ye. S. Determination of fungal genera composition and total toxicity of feed produced in the Republic of Crimea. *Veterinary Science Today*. 2020; 4 (35): 290–297. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-290-297.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Selime S. Ibragimova, Post-Graduate Student, Head of Sector, FGBl "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, 295494, Russia, Simferopol city, set. of Komsomolskoye, st. Shosseynaya, 21A, e-mail: ibragimova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях интенсификации животноводства и птицеводства вопрос качества кормов приобретает особую актуальность. Беспокойство вызывает загрязнение кормов плесневыми грибами, которые являются продуцентами микотоксинов – низкомолекулярных вторичных метаболитов микромицетов [1, 2]. Многообразие микотоксинов, высокие уровни их токсичности, разнообразные формы проявления микотоксикозов придают этой проблеме высокую значимость.

В настоящее время известно более 100 тысяч различных видов грибов, среди которых более 250 являются токсинообразующими [2–4]. Среди микотоксинов различают афлатоксины, трихотеценовые микотоксины, охратоксины, фумонизин, зеараленон и его производные, алкалоиды спорыньи, циклопиазоновую кислоту, патулин, цитринин и др. Наиболее распространены и опасны: охратоксин А, дезоксиниваленол, Т-2 токсин, зеараленон, афлатоксин [5, 6].

Поражение кормов и кормовой продукции микотоксинами снижает питательную ценность первых и приводит к развитию обширной группы заболеваний неинфекционного происхождения – алиментарным микотоксикозам, которые могут протекать в острой и хронической формах. Клинические признаки и течение заболеваний зависят от степени поражения кормов, физиологического состояния организма и патогенных свойств грибов, контаминирующих кормовую продукцию. При остром микотоксикозе выражены нейротоксические симптомы: возбуждение или угнетение, общая слабость, нарушение координации движений, поражение желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, ослабление рефлексов, судороги. При хроническом течении наблюдают угнетение, анемию, снижение веса и продуктивности, аборт [7, 8].

Контаминация кормов микотоксинами в невысоких концентрациях также представляет серьезную угрозу: при проникновении в организм сельскохозяйствен-

ных животных они частично накапливаются в тканях и органах и, метаболизируясь, могут попадать в продукцию животноводства (мясо, молоко, яйца). Так, афлатоксин В₁, поступивший в организм животного с кормом, трансформируется в афлатоксин М₁ и выделяется с молоком. Таким образом, продукты, полученные от животных, которым скармливали загрязненные микотоксинами корма, являются потенциальным источником токсичности для человека [1, 9].

Важно отметить, что микотоксины отличает неравномерность распределения – их концентрация в различных участках одной и той же партии корма существенно варьирует, сказываясь на результатах исследований [1].

Несоблюдение условий заготовки и хранения кормового сырья и готовых кормов является одной из основных причин развития плесневых грибов и, как следствие, приводит к изменению видового и количественного состава грибной микрофлоры. От степени поражения кормов токсинообразующими плесневыми грибами зависит уровень их контаминации микотоксинами [10].

По оценке Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), ежегодно примерно 25% мирового урожая зерновых поражается микотоксинами. В большинстве стран мира содержание микотоксинов в кормах и пищевой продукции регламентировано. В Российской Федерации максимально допустимые уровни содержания микотоксинов нормируются техническими регламентами Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» и 015/2011 «О безопасности зерна», ГОСТами и ТУ на виды продукции и кормов. Согласно литературным данным, в Российской Федерации наиболее часто выделяют дезоксиниваленол, Т-2 токсин, зеараленон и афлатоксин. Документов, регламентирующих допустимую видовую контаминацию плесневыми грибами, нет [11].

В свою очередь, микологический контроль кормов, направленный на выявление поражения плесневыми грибами, позволяет выявить контаминацию кормов и кормовой продукции токсинообразующими микромицетами на ранних стадиях. Представителями токсинообразующих микромицетов являются грибы рода *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Ustilago*, *Tilletia*, *Nigrospora* и др., которые при возникновении благоприятных условий (относительной влажности воздуха – 85–95%, температуре – 4–30 °C) способны продуцировать микотоксины [3]. В связи с этим важным этапом контроля качества кормов является микологический анализ.

Цель работы заключалась в определении родового состава плесневых грибов, контаминирующих кормовую продукцию, заготавливаемую на территории Республики Крым, изучении зависимости степени поражения плесневыми грибами от времени года, условий окружающей среды (температуры, влажности) и установлении общей токсичности кормов методом постановки биопробы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили образцы кормов и комбикормов, отобранные в фермерских и частных хозяйствах, расположенных на территории Республики Крым. Отбор проводился согласно ГОСТ ISO 6497-2014 «Корма. Отбор проб», ГОСТ 13586.3-2015 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», ГОСТ 13496.0-80 «Комбикорма, сырье. Методы отбора проб».

Реактивы и питательные среды: вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72 «Вода дистиллированная. Технические условия», среды Чапека – Докса и Сабуро (ООО «НПЦ «Биокомпас-С», Россия), бумага фильтровальная, формальдегид, поверхностно-активное вещество ОП-7, аммиак, ацетон ч.д.а. (ООО «Хлорен-Хима», Россия), масло подсолнечное рафинированное по ГОСТ 1129-2013 «Масло подсолнечное. Технические условия».

Лабораторные животные: кролики живой массой от 2,0 до 2,5 кг с целостным кожным покровом без пигментирования.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» и ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Методы пробоподготовки: микологический анализ проводили в соответствии с ГОСТ 13496.6-71 «Комбикорм. Метод выделения микроскопических грибов» и «Методическими указаниями по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов» (утв. МСХ СССР 25.02.1985) посредством посева испытуемого материала в чашки Петри на агаризованные

питательные среды для культивирования плесневых грибов. Исследования проводили в 5 повторностях. Посевы термостатировали в течение 10 сут при 25 °C. Осмотр чашек Петри осуществляли на 3, 5, 7 и 10-е сут инкубации [12, 13].

Контроль чистоты термостата и стерильности бокса выполняли согласно «Методическим указаниям по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» [14]. Перед проведением посева на рабочий стол в боксе и в термостат помещали по 2 чашки Петри с агаровой средой, открывали их на 15 мин, затем термостатировали чашки аналогично посевному материалу.

При испытаниях зерновых кормов изучали поверхностную и внутреннюю заспоренность. Поверхностную заспоренность зерен определяли, помещая испытуемый материал в чашки Петри на поверхность среды Сабуро по 10 штук таким образом, чтобы они не соприкасались друг с другом.

Определение внутренней заспоренности проводили путем посева зерен, обработанных 3%-м раствором формальдегида (время экспозиции 2 мин), после завершения экспозиции промывали однократно 0,2%-м раствором аммиака, затем дистиллированной водой и раскладывали на поверхность агара Сабуро по 10 зерен в чашку. Количество параллелей – 5 чашек Петри на исследование.

Грубые корма измельчали на части длиной по 2 см в стерильную чашку Петри, затем стерильным пинцетом переносили кусочки на поверхность агара Чапека по 10 отрезков корма в 5 чашек Петри [13].

Гранулированные комбикорма измельчали на лабораторной мельнице ЛЗМ-1, отбирали 10 г и заливали 100 мл 0,1%-го водного раствора поверхностно-активного вещества ОП-7, получая таким образом первичную взвесь. Методом последовательных разведений готовили взвесь 1:1000 для доброкачественного корма и 1:10 000 для корма с признаками порчи (наличие видимых поражений плесневыми грибами, характерного запаха и др.). При разведении 1:1000 посев осуществляли на 5 чашках Петри с агаровой средой, при 1:10 000 – на 8 чашках [12, 13].

Определение родовой принадлежности грибов проводили по морфологическим характеристикам колоний, строению мицелия и спорангиев [15].

Определение общей токсичности кормов. Для определения общей токсичности испытуемые образцы измельчали и просеивали через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Измельченный образец в количестве 50 г переносили в коническую колбу с прилифовой пробкой вместимостью 500 см³ и приливали 150 см³ ацетона. Колбу помещали на орбитальный шейкер и экстрагировали в течение 3 ч. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр и переносили в чашку для выпаривания. Концентрировали до полного удаления запаха растворителя и получения маслянистого остатка. Если объема экстракта после выпаривания было недостаточно для проведения исследования, к нему добавляли растительное масло и доводили общий объем пробы до 1 см³ [13].

Биопробу ставили на кроликах без признаков шелушения, пигментирования и нарушения целостности кожных покровов. Растительное масло, используемое для разбавления экстракта, предварительно проверяли на токсичность путем двукратного нанесения на

выстриженный участок кожи с интервалом в 24 ч. Учет кожной реакции осуществляли на следующий день после повторного нанесения и продолжали в течение 3 сут. Растительное масло не вызвало покраснения эпидермиса животных и было признано пригодным к применению.

Затем на предварительно выстриженный в области бедра или лопатки участок кожи размером 6 × 6 см стеклянной лопаткой, слегка втирая, наносили половину экстракта. Вторую половину экстракта наносили на следующий день. До повторного нанесения маслянистый экстракт испытуемого корма хранили в холодильной камере. Кожную реакцию учитывали на следующий день после повторного нанесения экстракта и продолжали наблюдение в течение 3 сут.

В качестве контроля использовали один оголенный участок кожи размером 6 × 6 см, на который не наносили экстракт. На одном кролике одновременно ставили не более 4 проб.

Оценку результатов исследования токсичности кормов проводили по наличию или отсутствию воспалительной реакции. При появлении выраженной гиперемии, болезненности, отека, проявляющейся сильным утолщением кожи, а также появлении язв и сплошного струпа на участке кожи образец корма признавался токсичным [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом работы было установление степени зараженности кормов микромицетами и определение родового состава плесневых грибов, контаминирующих заготавливаемую на территории Республики Крым кормовую продукцию.

Исследования проводили на базе филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым в период с 2017 по 2019 г.

Образцы кормов и кормовой продукции отбирали в частных и фермерских хозяйствах, расположенных на территории Белогорского, Красногвардейского, Ленинского и Сакского районов Республики Крым. Средняя масса проб составила 2,0 кг (для каждого отдельно отобранного образца). Количество отобранных образцов и период отбора отображены в таблице 1.

Для проведения исследований по выявлению токсикообразующих плесневых грибов и определению микологического пейзажа кормов, заготавливаемых на территории Республики Крым, было отобрано 252 образца, из которых большую часть составили зерновые корма – 124 пробы; 70 проб были представлены грубыми кормами, 58 – комбикормами. Для изучения зависимости степени контаминации кормовой продукции плесневыми грибами от условий окружающей среды (температуры воздуха и относительной влажности) отбор и исследование образцов проводили в разное время года.

Дифференциацию и определение родовой принадлежности плесневых грибов проводили с учетом морфологии выросших колоний, строение мицелия и спорангиев изучали методом световой микроскопии.

Результаты исследований по изучению плесневых грибов, контаминирующих заготавливаемые на территории Республики Крым корма, представлены в таблице 2.

В результате проведенных исследований по определению родового состава грибов, контаминирующих кормовую продукцию, микромицеты рода *Mucor* были обнаружены в 171 образце (67,9%), *Penicillium* – в 67 об-

Таблица 1
Характеристика исследуемых образцов корма

Table 1
Characterization of tested feed samples

Период отбора проб	Средняя масса отобранного образца	Количество отобранных образцов	Наименование образца
Зимний	2,0 кг	23	зерновые корма (ячмень, пшеница, овес)
		17	грубые корма (сено, солома)
		10	комбикорма
Весенний	2,0 кг	22	зерновые корма (ячмень, пшеница, овес)
		13	грубые корма (сено, солома)
		10	комбикорма
Летний	2,0 кг	30	зерновые корма (ячмень, пшеница, овес)
		12	грубые корма (сено, солома)
		14	комбикорма
Осенний	2,0 кг	49	зерновые корма (ячмень, пшеница, овес)
		28	грубые корма (сено, солома)
		24	комбикорма

разцах (26,6%), *Aspergillus* – в 33 образцах (13,1%), *Fusarium* – в 23 образцах (9,1%), *Alternaria* – в 22 образцах (8,7%), *Stachybotrys* – в 9 образцах (3,6%), *Rhizopus* – в 5 образцах (2,0%).

В зимний период было отобрано 50 образцов корма. При проведении микологических исследований в 39 образцах (78,0%) обнаружили плесневые грибы рода *Mucor*, в 11 образцах (22,0%) – *Aspergillus*, в 7 образцах (14,0%) – *Penicillium*, в 6 образцах (12,0%) – *Fusarium*, в 5 образцах (10,0%) – *Alternaria*, в 2 образцах (4,0%) – *Stachybotrys*, в 1 образце (2,0%) – *Rhizopus*.

В весенний период было отобрано 45 проб кормов, в 33 из них (73,3%) обнаружили плесневые грибы рода *Mucor*, в 17 (37,8%) – *Penicillium*, в 9 (20,0%) – *Aspergillus*. На микромицеты родов *Alternaria* и *Stachybotrys* пришлось по 3 случая выявления, что составляет 6,7% для каждого. В 1 образце исследуемых кормов (2,2%) обнаружили *Rhizopus*.

Летом для исследования было отобрано 56 образцов корма. Контаминацию плесневыми грибами рода *Mucor* обнаружили в 43 образцах (76,8%), *Penicillium* – в 20 образцах (35,7%), на *Aspergillus* и *Fusarium* пришлось по 2 случая выявления (по 3,6%). Плесневые грибы родов *Stachybotrys* были выявлены в одном образце (1,8%).

В осенние месяцы для исследования отобрали 101 пробу, 56 из них (55,4%) были контаминированы грибами рода *Mucor*, 23 (22,8%) – *Penicillium*, 15 (14,9%) – *Fusarium*. В 14 образцах (13,9%) были выявлены грибы рода *Alternaria*, в 11 (10,9%) – *Aspergillus*, на микромицеты родов *Stachybotrys* и *Rhizopus* пришлось по 3 случая выявления (по 3,0%).

Таблица 2
Родовое разнообразие грибов, контаминирующих исследуемые корма

Table 2
Generic diversity of the fungi contaminating tested feed

Род выявленного микромицета	Наименование образца	Количество контаминированных образцов в различные периоды года				
		зимний	весенний	летний	осенний	всего выявлено
<i>Mucor</i>	зерновые корма	18	16	22	23	79
	грубые корма	13	10	9	17	49
	комбикорм	8	7	12	16	43
<i>Penicillium</i>	зерновые корма	4	9	14	12	39
	грубые корма	1	2	2	6	11
	комбикорм	2	6	4	5	17
<i>Alternaria</i>	зерновые корма	2	3	0	5	10
	грубые корма	0	0	0	4	4
	комбикорм	3	0	0	5	8
<i>Aspergillus</i>	зерновые корма	4	6	2	5	17
	грубые корма	4	3	0	3	10
	комбикорм	3	0	0	3	6
<i>Stachybotrys</i>	зерновые корма	1	1	1	0	3
	грубые корма	1	2	0	3	6
	комбикорм	0	0	0	0	0
<i>Fusarium</i>	зерновые корма	6	0	2	10	18
	грубые корма	0	0	0	2	2
	комбикорм	0	0	0	3	3
<i>Rhizopus</i>	зерновые корма	0	0	0	0	0
	грубые корма	1	0	0	1	2
	комбикорм	0	1	0	2	3

Согласно литературным данным, доминирующую роль в контаминации растительных кормов в Российской Федерации и странах Европы также играют грибы из родов *Rhizopus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Stachybotrys* и другие, родовое и видовое разнообразие которых зависит от климатических условий окружающей среды [3, 16, 17].

В результате проведенных исследований установили, что корма подвергаются контаминации плесневыми грибами как в период вегетации и уборки, так и во время перевозки и хранения. Часть представителей токсинообразующих микромицетов быстро растут и размножаются при температуре до 20 °С, другие – при 30–50 °С. Благоприятные условия для развития фитопатогенных микромицетов на стадии выращивания и несоблюдение технологии заготовки кормов могут привести к накоплению в продукции микотоксинов. Степень поражения токсинообразующими микромицетами кормов

напрямую влияет на уровень их контаминации микотоксинами и, как следствие, на безопасность сельскохозяйственной продукции и вероятность возникновения микотоксикозов у животных.

Анализ полученных результатов показал, что в зависимости от сезона года меняется микологический пейзаж кормов. Так, микромицетами родов *Penicillium* (37,8%) и *Stachybotrys* (6,7%) чаще были контаминированы корма весной; токсинообразующими плесневыми грибами *Fusarium* (14,9%), *Alternaria* (13,9%) и *Rhizopus* (3,0%) – осенью; представители родов *Mucor* (78,0%) и *Aspergillus* (22,0%) наиболее часто встречались в зимний период.

Учитывая прямое влияние степени поражения кормов токсинообразующими плесневыми грибами на уровень загрязнения кормов микотоксинами, следующим этапом работы было определение общей токсичности контаминированных микромицетами образцов кормов и кормовой продукции.

Таблица 3
Результаты исследований общей токсичности кормов

Table 3
Results of tests of feed for total toxicity

Период	Токсичность образцов					
	зерновые корма			комбикорм		
	нетоксичный	слаботоксичный	токсичный	нетоксичный	слаботоксичный	токсичный
Зимний	18	2	3	9	1	0
Весенний	16	2	4	8	1	1
Летний	29	1	0	13	1	0
Осенний	42	4	3	21	2	1

Методом постановки биопробы на кроликах устанавливали токсичность 124 образцов зерновых и 58 образцов комбикорма. Оценку результатов исследования проводили по наличию или отсутствию воспалительной реакции и классифицировали по 3 категориям: токсичный, слаботоксичный и нетоксичный [13]. При появлении выраженной гиперемии, язв, отеков, проявлявшейся сильным утолщением кожи, сплошного струпа и болезненности на участке кожи с ранее нанесенным экстрактом испытуемого образца корма данный образец признавался токсичным. Экстракт слаботоксичного корма вызывал сохраняющуюся в течение 2–3 сут гиперемию, шелушение кожи, болезненность и отечность, проявлявшуюся незначительным утолщением кожи с последующим образованием отдельных корочек. При отсутствии признаков воспалительной реакции или наличии гиперемии, сохраняющейся не более 2 сут после нанесения экстракта и не сопровождающейся шелушением кожи, образец признавался нетоксичным.

Результаты исследований общей токсичности кормов приведены в таблице 3.

В результате проведенных исследований установили, что из 124 образцов зерновых кормов слаботоксич-

ными были 9 (7,3%), токсичными – 10 (8,1%). Из 58 испытуемых образцов комбикорма слаботоксичными признали 5 (8,6%), выраженную токсичность проявили 2 образца (3,4%).

В зимний период было исследовано 33 образца, из них токсичными были признаны 3 образца зерновых кормов (9,1%), слаботоксичными – 2 образца зерновых кормов (6,1%) и 1 образец комбикорма (3,0%).

В весенний период протестировали 32 образца, из которых токсичными были признаны 4 образца зерновых кормов (12,5%) и 1 образец комбикорма (3,1%), слаботоксичными – 2 образца зерновых кормов (6,3%) и 1 образец комбикорма (3,1%).

В летний период проанализировали 44 образца, из которых слабую токсичность выявили в 1 образце зерновых кормов (2,3%) и в 1 образце комбикорма (2,3%).

В осенний период было исследовано 73 образца, из них токсичными были признаны 3 пробы зерновых кормов (4,1%) и 1 образец комбикорма (1,4%), слаботоксичными – 4 образца зерновых кормов (5,5%) и 2 образца комбикорма (2,7%).

На рисунке показано, что самый высокий процент токсичного корма выявляли в весенний период (15,6%).

Рис. Общая токсичность кормов и кормовой продукции в зависимости от сезона года

Fig. Total toxicity of feed and feed products in different seasons of the year

Токсичность разной степени устанавливали в кормах и кормовой продукции на протяжении всех сезонов. Так, в осенний период было исследовано 73 образца, из которых токсичными признали 4 (5,5%), слаботоксичными – 6 (8,2%). Зимой из 33 исследуемых образцов слаботоксичными и токсичными признали по 3 образца, что составило по 9,1% выявлений. В весенний период из 32 образцов испытуемых кормов 5 образцов (15,6%) были признаны токсичными, 3 образца (9,4%) – слаботоксичными. Из 44 образцов, отобранных и исследованных в летний период, токсичного корма выявлено не было, слабую токсичность наблюдали только в 2 образцах, что составило 4,5%.

Корма и кормовую продукцию, признанные по результатам лабораторных исследований слаботоксичными и токсичными, скармливать сельскохозяйственным животным не допускается [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было показано, что в зависимости от сезона года меняется микологический пейзаж кормов. Так, микромицетами родов *Penicillium* (37,8%) и *Stachybotrys* (6,7%) чаще были контаминированы корма весной; токсинообразующими плесневыми грибами *Fusarium* (14,9%), *Alternaria* (13,9%) и *Rhizopus* (3,0%) – корма, отобранные и исследованные осенью; представителей родов *Mucor* (78,0%) и *Aspergillus* (22,0%) наиболее часто выявляли в зимний период.

При определении общей токсичности кормов установили, что из 124 исследуемых образцов зерновых кормов слаботоксичными были 9 (7,3%), токсичными – 10 проб (8,1%). Из 58 испытуемых образцов комбикорма слаботоксичными признали 5 (8,6%), выраженную токсичность проявили 2 образца (3,4%).

Слабую токсичностью обладали корма на протяжении всех четырех сезонов: летом (4,5%), осенью (8,2%), зимой (9,1%) и весной (9,4%). Токсичными признаны образцы кормов, отобранные в осенний (5,5%), зимний (9,1%) и весенний (15,6%) периоды. Из 44 отобранных и исследованных в летний период образцов токсичного корма выявлено не было.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 4, 17 см. REFERENCES)

1. Иванов А. В., Трмасов М. Я., Папуниди К. Х., Чулков А. К. Микотоксикозы животных (этиология, диагностика, лечение, профилактика). М.: Колос; 2008. 133 с.
2. Попова О. М. Иммунобиологические, биохимические и микробиологические показатели коров при ассоциированном T-2 и аспергиллотоксикозе и их коррекция: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Казань; 2016. 40 с.
3. Якимова Э. А. Видовой состав и количественное содержание микроскопических грибов в кормах и кормовом сырье для животных. *Биотика*. 2015; 6 (7): 3–12. eLIBRARY ID: 26591267.
5. Трмасов М. Я., Папуниди К. Х., Семенов Э. И., Тарасова Е. Ю. Актуальные проблемы ветеринарной токсикологии. *Вестник ветеринарии*. 2012; 4 (63): 16–18. eLIBRARY ID: 18258778.
6. Коцаев А. Г., Хмара И. В. Особенности сезонной контаминации микотоксинами зернового сырья и комбикормов в Краснодарском крае. *Ветеринария Кубани*. 2013; 2: 29–30. eLIBRARY ID: 19008503.
7. Иванов И. И. Источники, распространение микотоксинов и профилактика микотоксикозов животных в Республике Марий Эл: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань; 2002. 18 с.
8. Папуниди К. Х., Трмасов М. Я., Фисинин В. И., Никитин А. И., Семенов Э. И. Микотоксины (в пищевой цепочке): монография. 2-е изд., доп. Казань: ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИИВ»; 2017. 158 с.
9. Медетханов Ф. А., Хайруллин Д. Д., Муллакаева Л. А., Овсянников А. П. Учебно-методическое пособие по ветеринарной токсикологии. Казань: ФГБОУ «КГАВМ»; 2017. 133 с.

10. Байбакова Ю. П., Хусаинов И. Т., Крючкова М. А., Трмасов М. Я., Ахметов Ф. Г. Санитарно-микологическая оценка качества кормов. *Ветеринарная медицина*. 2010; 94: 296–297.

11. Абакин С. С. Микотоксины: диагностика и профилактика. В кн.: *Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства*. 2006; 2: 89–97. eLIBRARY ID: 17244251.

12. ГОСТ 13496.6–71. Комбикорм. Метод выделения микроскопических грибов (с Изменением № 1, 2). М.: Стандартинформ; 2011. 4 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200024325>.

13. Методические указания по санитарно-микологической оценке и улучшению качества кормов. М.: ГУВ МСХ СССР; 1985. 68 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200108240>.

14. МУ-287-113. Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 1998. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200031410>.

15. ГОСТ 10444.12–2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. М.: Стандартинформ; 2014. 7 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200107308>.

16. Потехина Р. М., Ермолаева О. К., Сагдеева З. Х., Семенов Э. И. Микологическая оценка кормов в Республике Татарстан. *Ветеринарный врач*. 2019; 1: 19–23. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-1-19-24.

18. ГОСТ 31674–2012. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности. М.: Стандартинформ; 2014. 15 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200096705>.

REFERENCES

1. Ivanov A. V., Tremasov M. Ya., Papunidi K. Kh., Chulkov A. K. Animal mycotoxicoses (etiology, diagnosis, treatment, prevention) [Mikotoksikozы zhivotnykh (etiologiya, diagnostika, lechenie, profilaktika)]. M.: Kolos; 2008. 133 p. (in Russian)
2. Popova O. M. Immunological, biochemical and microbiological characteristics of cows with T-2 and aspergillus-associated toxicosis and correction thereof [Immunobiologicheskie, biokhimicheskie i mikrobiologicheskie pokazateli korov pri associirovannom T-2 i aspergillotoksikoze i ih korrekciya]: Author's Abstract of Thesis for Doctor of Biology Degree. Kazan; 2016. 40 p. (in Russian)
3. Yakimova E. A. Generic composition and quantitative content of microscopic fungi in feed and raw feed materials for animals [Vidovoy sostav i kolichestvennoe sodержание mikroskopicheskikh gribov v kormah i kormovom syr'e dlya zhivotnykh]. *Biotika*. 2015; 6 (7): 3–12. eLIBRARY ID: 26591267. (in Russian)
4. Alshannaq A., Yu J.-H. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2017; 14: 632. DOI: 10.3390/ijerph14060632.
5. Tremasov M. Ya., Papunidi K. Kh., Semenov E. I., Tarasova E. Yu. Current problems of veterinary toxicology. *Vestnik veterinarii*. 2012; 4 (63): 16–18. eLIBRARY ID: 18258778. (in Russian)
6. Koshchayev A. G., Khmara I. V. Peculiarities of seasonal mycotoxin contamination of raw grain and mixed fodders in Krasnodar Region. *Veterinaria Kubani*. 2013; 2: 29–30. eLIBRARY ID: 19008503. (in Russian)
7. Ivanov I. I. Mycotoxin sources and distribution and mycotoxicosis prevention in animals in the Republic of Mariy-El [Istochniki, rasprostraneniye mikotoksinov i profilaktika mikotoksikozov zhivotnykh v Respublike Mariy El]: Author's Abstract of Thesis for Candidate of Science Degree (Biology). Kazan; 2002. 18 p. (in Russian)
8. Papunidi K. Kh., Tremasov M. Ya., Fisinin V. I., Nikitin A. I., Semenov E. I. Mycotoxins (in food chain) [Mikotoksiny (v pishchevoy cepochke)]: Monograph. 2nd edition, revised. Kazan: FGBSI "Federal Centre for Toxicological, Radiological and Biological Safety"; 2017. 158 p. (in Russian)
9. Medetkhanov F. A., Hairullin D. D., Mullakayeva L. A., Ovsyannikov A. P. Study guide for veterinary toxicology [Uchebno-metodicheskoe posobie po veterinarnoy toksikologii]. Kazan: FGBEI "Kazan State Academy of Veterinary Medicine"; 2017. 133 p. (in Russian)
10. Baybakova J. P., Husainov I. T., Kryuchkova M. A., Tremasov M. J., Ahmetov F. G. Sanitary-mycology evaluation of forage quality. *Veterinary Medicine*. 2010; 94: 296–297. (in Russian)
11. Abakin S. S. Mycotoxins: diagnosis and prevention [Mikotoksiny: diagnostika i profilaktika]. In: *Proceedings of the Stavropol Research Institute for Animal Farming and Feed Production*. 2006; 2: 89–97. eLIBRARY ID: 17244251. (in Russian)
12. GOST 13496.6–71. Mixed feed. Method of detachment of fungi (with amended No. 1, 2). M.: Standartinform; 2011. 4 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200024325>. (in Russian)
13. Methodical guidelines for sanitary and mycological evaluation of feed and for feed quality improvement [Metodicheskie ukazaniya po

sanitarno-mikologicheskoy ocenke i uluchsheniyu kachestva kormov]. M.: Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture; 1985. 68 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200108240>. (in Russian)

14. MU-287-113. Methodical guidelines for disinfection, pre-sterilization cleaning and sterilization of medical devices [Metodicheskie ukazaniya po dezinfeckii, predsterilizacionnoj ochildke i sterilizacii izdelij medicinsko-go naznacheniya]. M.: Federal Centre for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of the RF Ministry of Health; 1998. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200031410>. (in Russian)

15. GOST 10444.12-2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Methods for the detection and colony count of yeasts and moulds. M.: Standartinform; 2014. 7 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200107308>. (in Russian)

16. Potekhina R. M., Ermolaeva O. K., Sagdeeva Z. Kh., Semenov E. I. Mycological assessment of feed in the Republic of Tatarstan. *Veterinarnyy Vrach*. 2019; 1: 19–23. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-1-19-24. (in Russian)

17. Richard J. L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses – an overview. *Int. J. Food Microbiol.* 2007; 119 (1–2): 3–10. DOI: 10.1016/j.ijfood-micro.2007.07.019.

18. GOST 31674-2012. Feeds, compound feeds, material for compound feeds. Methods for the determination of common toxicity. M.: Standartinform; 2014. 15 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200096705>. (in Russian)

Поступила 28.09.2020

Принята в печать 29.10.2020

Received on 28.09.2020

Approved for publication on 29.10.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ибрагимова Селиме Серверовна, аспирант, руководитель сектора Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Данильченко Сергей Иванович, кандидат ветеринарных наук, руководитель лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Ерофеева Елена Сергеевна, аспирант, заведующий лабораторией безопасности пищевых продуктов Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Selime S. Ibragimova, Post-Graduate Student, Head of Sector, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol city, Russia.

Olga V. Pruntova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Expert, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Sergey I. Danilchenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory and Diagnostic Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol city, Russia.

Yelena S. Yerofeeva, Post-Graduate Student, Head of Food Safety Laboratory, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol city, Russia.