

**ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ В СИЛОСЕ
НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ХРАНЕНИЯ*****Г.Ю. ЛАПТЕВ, Н.И. НОВИКОВА, Л.А. ИЛЬИНА, Е.А. ЙЫЛДЫРЫМ,
В.В. СОЛДАТОВА, И.Н. НИКОНОВ, В.А. ФИЛИПОВА, Е.А. БРАЖНИК,
О.Н. СОКОЛОВА**

Присутствие в сырье микотоксинов — продуктов жизнедеятельности плесневых грибов представляет серьезную проблему во всем мире. Вследствие неправильной заготовки силоса происходит его загрязнение микотоксинами. На сегодняшний день практически отсутствуют сведения по их накоплению в сочных кормах в процессе силосования, а также остается невыясненным вопрос о способах, позволяющих предотвратить или снизить контаминацию кормов микотоксинами. Нами впервые в России изучена динамика накопления микотоксинов в силосе на разных этапах хранения. С этой целью в лабораторном эксперименте мы определили содержание микотоксинов (афлатоксинов, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона и дезоксиниваленола) в исходном кормовом растительном сырье, оценили динамику этих показателей на разных этапах силосования ежи сборной *Dactylis glomerata* L., а также исследовали влияние биологических заквасок для силосования кормов биотроф и биотроф-111 (ООО «Биотроф+», г. Санкт-Петербург) и химических консервантов AIV 3 Plus или AIV 2000 Plus («КЕМИРА ОУЈ», Финляндия) на снижение количества токсичных грибных метаболитов. Анализ микотоксинов в образцах проводили с использованием иммуноферментного метода (AgraQuant™, «Romer Labs, Inc.», Австрия). Установлено, что «полевые» грибы начинают продуцировать микотоксины еще в период вегетации растений, и этот процесс активно продолжается в течение всего срока хранения силоса. Использование биологических заквасок позволило сдерживать накопление микотоксинов по сравнению с контролем без добавок. В конце срока хранения силоса в вариантах с применением заквасок биотроф и биотроф-111 количество афлатоксинов было ниже контроля соответственно на 17,7 и 9,1 %, охратоксина А — на 21,4 и 34,9 %, Т-2 токсина — на 20,1 и 32,8 %, зеараленона — на 17,7 и 10,4 % и дезоксиниваленола — на 0,8 и 55,8 %. Поскольку в России в настоящее время ПДК микотоксинов для силоса не установлены, для сравнения мы использовали величину нормированных ПДК микотоксинов для фуражного зерна овса, пшеницы и ячменя как злаковых культур, по таксономической принадлежности близких к многолетним травам, к которым относится ежа сборная. В отличие от овса, пшеницы и ячменя кукуруза, будучи злаковым растением, в Северо-Западном регионе России традиционной кормовой культурой не считается. Наибольшим эффектом сдерживания накопления микотоксинов обладала закваска на основе бацилл *Bacillus subtilis*. Использование химического консерванта приводило к некоторому снижению содержания отдельных микотоксинов по сравнению с контролем, однако токсичность силоса, за которую мы принимали суммарное превышение полученных показателей над референтными значениями по всем проанализированным микотоксинам относительно такового в варианте с применением химического консерванта была высокой и значительно превышала контроль во второй половине срока хранения. Известно, что в результате резкого изменения условий окружающей среды продукция микотоксинов у микроскопических грибов усиливается. В нашем эксперименте воздействие химического консерванта могло послужить стрессовым фактором, спровоцировавшим активный синтез микотоксинов.

Ключевые слова: микотоксины, силос, биологическая закваска для силосования, химический консервант для силосования.

Силос — один из основных компонентов рациона крупного рогатого скота. В результате использования некачественного силоса животные испытывают дефицит питательных веществ, что непременно сказывается на их продуктивности, здоровье и сдерживает увеличение рентабельности производства. Проблемы, связанные с неполноценным кормлением, сопряжены в первую очередь с несоблюдением технологий выращивания и хранения кормового растительного сырья. Как известно, вследствие неправильной заготовки силоса, помимо ухудшения биохимических показа-

* Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда по научному проекту «Выявление биоразнообразия и трофического статуса микробиоты кормовых культур в связи с созданием качественных и биологически безопасных кормов» № 14-16-00114.

телей его качества, происходит загрязнение микотоксинами — продуктами жизнедеятельности плесневых грибов (1).

Снижение содержания микотоксинов в сырье составляет серьезную проблему, решение которой ищут специалисты во всем мире, поскольку поступление микотоксинов в организм с кормами вызывает микотоксикозы — заболевания, при которых снижается продуктивность, ухудшаются репродуктивные качества и иммунный статус животных (2). В малых дозах микотоксины приводят к уменьшению продуктивности и прироста живой массы, создают благоприятные условия для развития многих инфекционных заболеваний. Отдаленные последствия действия микотоксинов проявляются в виде иммунодепрессивных, канцерогенных, мутагенных, аллергенных, нейротоксичных и тератогенных эффектов, а также в подавлении воспроизводительной функции. К тому же в зараженных кормах микотоксины, как правило, находятся в сочетании, взаимно усиливая негативное воздействие (3).

Традиционно считается, что проблема микотоксикозов и зараженности кормов микотоксинами для крупного рогатого скота менее актуальна, чем для птицы и свиней. Однако было установлено, что некоторые микотоксины обладают ярко выраженными антимикробными свойствами, вызывая снижение численности полезных микроорганизмов, в том числе целлюлозолитиков, бацилл, лактатутилизирующих бактерий. Нарушения в составе микробиоценоза могут негативно влиять как на процессы пищеварения и усвояемость питательных веществ, так и на эффективность защитных функций полезной микрофлоры в желудочно-кишечном тракте. Стоит отметить, что наибольшая восприимчивость к негативному воздействию микотоксинов проявляется у высокопродуктивных коров, поскольку рост продуктивности всегда сопровождается повышенной чувствительностью к стрессам. Помимо этого, микотоксины, поступающие в организм крупного рогатого скота с кормами, могут проникать в молоко, представляя опасность для здоровья человека. Так, остатки афлатоксина M_1 (метаболит афлатоксина B_1) в молоке составляют 0,3-6,0 % от потребленного афлатоксина B_1 (1).

В настоящее время практически отсутствуют сведения по накоплению микотоксинов в сочных кормах в процессе силосования, а также остается невыясненным вопрос о способах решения этой проблемы.

В задачу наших исследований входил анализ содержания микотоксинов на различных этапах силосования, а также исследование влияния биологических заквасок и химического препарата для консервирования кормов на снижение количества токсичных грибных метаболитов.

Методика. В модельном лабораторном эксперименте по консервированию использовали ежу сборную *Dactylis glomerata* L. первого укоса, убранный с поля в фазу выхода в трубку при влажности 65 %. При силосовании использовали штаммы бактерий, входящие в состав коммерческих заквасок биотроф и биотроф-111 (ООО «Биотроф⁺», г. Санкт-Петербург), а также препарат AIV 3 Plus («KEMIRA OYJ», Финляндия). Препарат биотроф-111 вносили в количестве 0,007 мл/кг зеленой массы (1 л на 150 т), AIV 2000 Plus — в количестве 4 мл/кг (4 л/т) зеленой массы. Зеленую массу (320 г) в вакуумных полиэтиленовых пакетах помещали в термостатную комнату при температуре 26 ± 1 °С. Образцы для анализа микотоксинов отбирали до силосования, а также на 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сут хранения.

Количество микотоксинов (афлатоксинов, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона, дезоксиниваленола) в образцах исходного кормового растительного сырья определяли с применением иммуноферментного ана-

лиза (ИФА) (4), используя тест-систему AgraQuant™ («Romer Labs, Inc.», Австрия) согласно рекомендациям производителя. Микотоксины, за исключением дезоксиниваленола, экстрагировали из проб 70 % метанолом, дезоксиниваленол — дистиллированной водой. Стандартами служили растворы пяти анализируемых микотоксинов известной концентрации. В качестве остановочного раствора при анализе на наличие зеараленона и Т-2 токсина служила 10 % соляная кислота, афлатоксина, охратоксина А и дезоксиниваленона — 10 % фосфорная кислота. Оптическую плотность (OD) измеряли при $\lambda = 450$ нм на микростриповом фотометре Stat Fax 303+ («Awareness Technology, Inc.», США), сопоставляя показатели для образца и для стандартов. Поскольку в России в настоящее время ПДК микотоксинов для силоса не установлены, для сравнения использовали предельно-допустимые концентрации микотоксинов для фуражного зерна овса, пшеницы и ячменя как злаковых культур, по таксономической принадлежности близких к многолетним травам, к которым относится ежа сборная, исходя из значений, приведенных в Единых ветеринарных (ветеринарно-санитарных) требованиях, предъявляемых к товарам, подлежащим ветеринарному контролю (надзору) (утверждены Решением Комиссии таможенного союза ЕврАзЭС от 18 июня 2010 года № 137): для афлатоксинов — 0,004 мг/кг, охратоксина А — 0,005 мг/кг, Т-2 токсина — 0,06 мг/кг, зеараленона — 0,1 мг/кг, дезоксиниваленола — 1,0 мг/кг (5).

Математическую и статистическую обработку результатов проводили стандартными методами дисперсионного анализа (6) с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010.

Результаты. Биотроф — закваска, которая представляет собой размноженную чистую культуру полезных бактерий, идентифицированных с помощью анализа первичной последовательности фрагмента 16S-рибосомной РНК как *Lactobacillus plantarum* (7). Биопрепарат предназначен для консервирования различных культур, в том числе подвяленных растений с низкой влажностью. Применение этой закваски обеспечивает быстрое подкисление консервируемой растительной массы за счет накопления молочной кислоты и подавление нежелательных микробиологических процессов (8). Биотроф-111 — закваска на основе размноженной чистой культуры бактерий, идентифицированных по первичной последовательности фрагмента р16S РНК как *Bacillus subtilis*. Биопрепарат рекомендован для консервирования любых культур, в том числе трудносилосуемых (бобово-злаковые смеси, козлятник восточный, клевер, люцерна и др.). При применении закваски биотроф-111 за счет высокой антагонистической активности бактерий в консервируемой массе ингибируется развитие гнилостной микрофлоры, плесневых грибов — продуцентов микотоксинов, дрожжей, что обеспечивает быстрое консервирование и созревание силоса (9). В состав химического консерванта AIV 2000 Plus входит смесь органических кислот (муравьиной, пропионовой, бензойной).

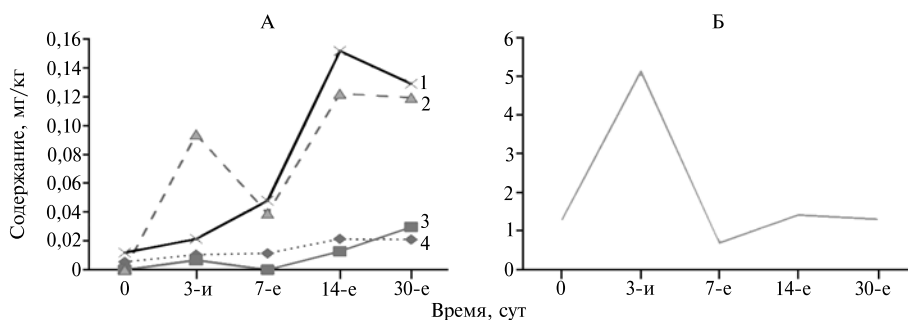
В кормовом растительном сырье, предназначенном для закладки на хранение, были обнаружены афлатоксины ($0,0053 \pm 0,00025$ мг/кг), зеараленон ($0,0115 \pm 0,00048$ мг/кг) и дезоксиниваленол ($1,3 \pm 0,0062$ мг/кг) (табл.). При этом количество афлатоксинов и дезоксиниваленола превышало значения предельно-допустимой концентрации для кормов растительного происхождения, принятые нами за референтные, в 1,3 раза. Следовательно, загрязнение микотоксинами кормовых культур происходит еще в период роста растений в результате развития фитопатогенных грибов. При этом содержание охратоксина А и Т-2 токсина было ниже предела достоверного определения методом ИФА.

Содержание микотоксинов (мг/кг сухого вещества) в силосе из ежи сборной *Dactylis glomerata* L. при применении биопрепаратов и консерванта ($M \pm m$, лабораторный опыт)

Время силосования, сут	Контроль (К), мг/кг	Биопрепарат				Химический консервант	
		на основе лактобактерий		на основе бацилл		мг/кг	к К, %
		мг/кг	к К, %	мг/кг	к К, %		
А ф л а т о к с и н ы (ПДК = 0,004 мг/кг)							
0	0,0053±0,00025	0,0053±0,00025		0,0053±0,00025		0,0053±0,00025	
3	0,0101±0,00040	0,0088±0,00040	87,1	0,0057±0,00026	56,4	0,0110±0,00040	108,9
7	0,0113±0,00047	0,0086±0,00042	76,1	0,0092±0,00043	81,4	0,0152±0,00065	134,5
14	0,0213±0,00800	0,0184±0,00070	86,4	0,0198±0,00080	93,0	0,0270±0,00094	126,8
30	0,0209±0,00100	0,0172±0,00060	82,3	0,0190±0,00047	90,9	0,0144±0,00071	68,9
О х р а т о к с и н А (ПДК = 0,005 мг/кг)							
0	< п.д.о.	< п.д.о.		< п.д.о.		< п.д.о.	
3	0,0068±0,00023	0,0053±0,00020	77,9	0,0060±0,00025	88,2	0,0089±0,00040	130,8
7	< п.д.о.	< п.д.о.		0,0003±0,00001		0,0009±0,00003	
14	0,0127±0,00059	0,0059±0,00023	46,5	0,0031±0,00015	24,4	0,0739±0,00310	581,9
30	0,0295±0,00140	0,0232±0,00090	78,6	0,0192±0,00058	65,1	0,2720±0,01200	922,0
Т-2 т о к с и н (ПДК = 0,06 мг/кг)							
0	< п.д.о.	< п.д.о.		< п.д.о.		< п.д.о.	
3	0,0937±0,02300	0,0930±0,00410	99,3	0,1025±0,00370	109,4	0,1089±0,00410	116,2
7	0,0391±0,01600	0,0396±0,00170	101,3	0,0140±0,00048	35,8	0,0336±0,00160	85,9
14	0,1221±0,00370	0,1118±0,00520	91,6	0,0965±0,00220	79,0	0,0834±0,00420	68,3
30	0,1116±0,00510	0,0892±0,00320	79,9	0,0750±0,00350	67,2	0,1191±0,00480	106,7
З е а р а л е н о н (ПДК = 0,1 мг/кг)							
0	0,0115±0,00048	0,0115±0,00048		0,0115±0,00048		0,0115±0,00048	
3	0,0213±0,00100	0,0144±0,00036	67,6	0,0168±0,00065	78,9	0,0142±0,00061	66,7
7	0,0475±0,00170	0,0893±0,00410	188,0	0,0909±0,00380	191,4	0,1167±0,00350	245,7
14	0,1514±0,00360	0,1407±0,00670	92,9	0,1345±0,00630	88,8	0,0977±0,00320	64,5
30	0,1290±0,00610	0,1062±0,00051	82,3	0,1156±0,00460	89,6	0,0790±0,00290	61,2
Д е з о к с и н и в а л е н о л (ПДК = 1,0 мг/кг)							
0	1,3000±0,00620	1,3000±0,00620		1,3000±0,00620		1,3000±0,00620	
3	0,6800±0,02800	0,4200±0,01800	61,8	0,6900±0,03450	101,5	0,8100±0,02400	119,1
7	5,1200±0,22000	4,6600±0,20000	91,0	3,8100±0,12000	74,4	4,1200±0,19000	80,5
14	1,4000±0,04100	3,1900±0,12000	227,9	0,9900±0,03900	70,7	4,1700±0,20000	297,9
30	1,2900±0,05200	1,2800±0,03500	99,2	0,5700±0,02600	44,2	1,5000±0,06500	116,3

Примечание. < п.д.о. — ниже предела достоверного определения методом ИФА. Химический консервант AIV 3 Plus («KEMIRA OYJ», Финляндия).

При исследовании силоса из ежи сборной первого укоса на 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сут хранения было обнаружено значительное накопление афлатоксинов, охратоксина А, Т-2 токсина, зеараленона и дезоксиниваленола (см. табл.).



Динамика накопления зеараленона (1), Т-2 токсина (2), охратоксина А (3), афлатоксинов (4) (А) и дезоксиниваленола (Б) в процессе силосования ежи сборной *Dactylis glomerata* L. без добавок биопрепаратов и химического консерванта (лабораторный опыт).

Представленные графики (рис., А) наглядно иллюстрируют, что в процессе силосования ежи сборной наблюдалось резкое возрастание содержания зеараленона и Т-2 токсина, незначительное увеличение показателя по афлатоксинам и охратоксину А (по сравнению с исходным растительным сырьем). При этом количество указанных микотоксинов (кроме охратоксина А) уменьшалось во второй половине срока хранения. Содер-

жание дезоксиниваленола на 3-и сут резко возросло (см. рис., Б), а на 7-е сут стремительно падало.

Отметим, что продуцентами зеараленона, Т-2-токсина и дезоксиниваленола служат грибы рода *Fusarium*, которые начинают вырабатывать микотоксины в течение вегетации растений, и образование микотоксинов может продолжаться в период хранения кормов (10). Известно, что в результате резкого изменения условий окружающей среды (температура, влажность, воздействие химических веществ) продукция микотоксинов усиливается (11-15). В нашем эксперименте воздействие условий окружающей среды в процессе силосования могло, возможно, послужить стрессовым фактором, спровоцировавшим активный синтез зеараленона и Т-2 токсина микроскопическими грибами вплоть до 14-х сут хранения силоса. После 14-х сут, вероятно, произошла остановка развития и гибель грибов с последующим микробиологическим разложением токсичных продуктов их метаболизма. Грибы — продуценты дезоксиниваленола, вероятно, в силосе практически не развиваются. После 3-х сут хранения дезоксиниваленол, скорее всего, подвергнулся деструкции под воздействием микроорганизмов.

Продуцентами афлатоксина и охратоксина А служат грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*, для развития которых условия силосования благоприятны (10). Вследствие этого указанные микроорганизмы не испытывали необходимости в инициации механизмов защиты (продуцирование значительного количества микотоксинов), поэтому скорость накопления афлатоксина и охратоксина А в течение нашего эксперимента была невелика.

Величина, соответствующая ПДК и принятая нами за референтную, по афлатоксинам оказалась превышена в 1,4-6,8 раза, по охратоксину А — в 1,2-54,4 раза, Т-2 токсину — в 1,4-1,8 раза, зеараленону — в 1,2-1,5 раза, дезоксиниваленолу — в 1,3-5,1 раза (см. табл.). В связи с этим консервирующие препараты, используемые для силосования, должны не только обеспечивать получение качественного корма, сбалансированного по содержанию белка, энергетической питательности, биологической ценности, но и обладать мощной антифунгальной активностью, сдерживая накопление микотоксинов, продуцируемых грибами. Известно, что потенциальной способностью к подавлению развития микроскопических грибов, а также к деструкции токсичных продуктов их метаболизма обладают некоторые штаммы молочнокислых бактерий и бацилл (16).

Действительно, применение биологических заквасок на основе молочнокислых бактерий (биотроф) и бацилл (биотроф-111) позволило уменьшить содержание афлатоксинов соответственно на 12,9-23,9 и 7,0-43,6 % в течение всего периода силосования по сравнению с контролем. В конце срока хранения силоса количество афлатоксинов в вариантах с применением этих заквасок было соответственно на 17,7 и 9,1 % ниже по сравнению с контрольным вариантом. В варианте с применением химического консерванта на 3-и, 7-е и 14-е сут хранения количество афлатоксинов было на 8,9, 34,5 и 26,8 % выше контрольного, а на 30-е сут хранения оно снизилось на 31,1 % по сравнению с контролем.

Использование заквасок на основе молочнокислых бактерий и бацилл приводило к значительному снижению содержания охратоксина А на протяжении всего периода силосования по сравнению с контролем. Исключение составляют 7-е сут, когда этот токсин был обнаружен в варианте с применением биопрепарата биотроф-111 ($0,0003 \pm 0,000007$ мг/кг), тогда как в контроле содержание охратоксина А было ниже предела достоверного определения методом ИФА. В конце срока хранения силоса количество

охратоксина А в вариантах с применением заквасок биотроф и биотроф-111 оказалось соответственно на 21,4 и 34,9 % ниже, чем в контроле. При использовании химического консерванта на протяжении всего периода силосования содержание охратоксина А было значительно выше контрольного. В конце опыта количество охратоксина А на 822 % превысило соответствующий показатель в контроле.

Применение закваски биотроф-111 (на основе бацилл) и химического консерванта на 3-и сут хранения приводило к некоторому увеличению содержания Т-2 токсина относительно контроля. Начиная с 7-х сут вплоть до конца срока хранения, происходило значительное снижение количества названного токсина (за исключением 30-х сут в варианте с использованием химического консерванта, когда содержание Т-2 токсина было выше контроля на 6,7 %). При использовании препарата биотроф на основе молочнокислых бактерий с середины срока и вплоть до окончания опыта этот показатель уменьшался.

В присутствии заквасок биотроф, биотроф-111 и химического консерванта на протяжении всего силосования также значительно снижалось количество зеараленона. Исключение составили 7-е сут, когда содержание этого токсина во всех опытных вариантах было выше, чем в контроле.

Закваски на основе бацилл снижали содержание дезоксиниваленола на 25,6-55,8 % с 7-х по 30-е сут хранения силоса. Использование закваски на основе молочнокислых бактерий приводило к уменьшению количества дезоксиниваленола на 3-и и 7-е сут. В конце срока хранения содержание дезоксиниваленола в варианте с применением биотрофа практически не отличалось от контроля. В то же время при применении химического консерванта количество дезоксиниваленола на 3-и, 14-е и 30-е сут значительно (на 16,3-197,9 %) возрастало.

Известно, что токсичные метаболиты грибов в кормах действуют как синергисты, дополняя и усиливая токсические эффекты друг друга (17-20). Поскольку в исследованном нами силосе из ежи сборной микотоксины присутствовали в сочетании, то для уточнения и сравнения характера воздействия изученных препаратов мы условно определили токсичность силоса как сумму превышений по афлатоксинам, охратоксину А, Т-2 токсину, зеараленону и дезоксиниваленолу относительно значений, принятых в этой работе в качестве референтных.

В течение всего силосования такая суммарная токсичность образцов в вариантах с использованием биопрепаратов биотроф (на основе лактобактерий) и биотроф-111 (на основе бацилл) была ниже, чем в контроле. Наименьшую суммарную токсичность силоса отмечали в варианте с закваской биотроф-111. При этом соответствующий показатель в случае химического консерванта оказался наибольшим, значительно превысив во второй половине периода хранения контрольные значения. Как отмечалось выше, в результате резкого изменения условий окружающей среды (температуры, влажности, воздействия химических веществ) продукция микотоксинов у микроскопических грибов усиливается (21, 22). В связи с этим в нашем эксперименте воздействие химического консерванта могло послужить стрессовым фактором, спровоцировавшим активный синтез микотоксинов.

Таким образом, впервые в России изучена динамика накопления микотоксинов в силосе на разных этапах хранения. Нами показано, что еще в течение вегетации растений полевые изоляты грибов начинают вырабатывать микотоксины, и этот процесс активно продолжается в период хранения силоса. Применение заквасок на основе молочнокислых бакте-

рий *Lactobacillus plantarum* (биотроф) и бацилл *Bacillus subtilis* (биотроф-111) позволило сдерживать накопление микотоксинов по сравнению с контролем (без добавок). Наибольшим эффектом обладала закваска на основе *Bacillus subtilis* (биотроф-111). Использование химического консерванта приводило к частичному снижению содержания некоторых микотоксинов по сравнению с контролем, однако суммарная токсичность силоса была высокой и во второй половине срока хранения оказалась значительно выше контрольных показателей. Известно, что в результате резкого изменения условий окружающей среды продукция микотоксинов у микроскопических грибов усиливается. В нашем эксперименте воздействие химического консерванта могло послужить стрессовым фактором, спровоцировавшим активный синтез микотоксинов. Следовательно, очень актуальным представляется создание биопрепарата на основе бацилл, необходимого для уничтожения микроскопических грибов и разложения микотоксинов в силосе, поскольку применение химических консервантов не обеспечивает решения этой проблемы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диаз Д. Микотоксины и микотоксикозы. М., 2006.
2. Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev., 2003, 16(3): 497-516 (doi: 10.1128/CMR.16.3.497-516.2003).
3. Streit E., Schatzmayr G., Tassis P., Tzika E., Marin D., Taranu I., Tabuc S., Nicolau A., Aprodu I., Puel O., Oswald I.P. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed — focus on Europe. Toxins, 2012, 4(10): 788-809 (doi: 10.3390/toxins4100788).
4. ГОСТ 31653-2012. Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов. Принят 20 июля 2012 года.
5. Требования Комиссии таможенного союза 18 июня 2010 года № 317. Официальный сайт Комиссии Таможенного союза (http://www.tsouz.ru/KTS/KTS17/Pages/R_317.aspx), 2010.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1990.
7. Лаптев Г.Ю. Разработка биологических препаратов для повышения питательности и эффективности использования кормов. Докт. дис. Дубровицы, 2009.
8. Лаптев Г., Дернов В., Ройко О. Качественный силос с закваской «Биотроф». Ценовик, 2003, 5: 10.
9. Победнов Ю.А., Мамаев А.А. Биотроф-111 — альтернатива химическим консервантам. Животноводство России, 2010, 8: 52.
10. Wilson D.M., Abramson D. Mycotoxins. In: Storage of cereal grains and their products /D.B. Sauer (ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, 1992: 341-391.
11. Skladanka J., Adam V., Dolezal P., Nedelnic J., Kizek R., Linduskova H., Edison Jh., Mejia A., Nawrath A. How do grass species, season and ensiling influence mycotoxin content in forage? International Journal of Environmental Research and Public Health, 2013, 10: 6084-6095 (doi: 10.3390/ijerph10116084).
12. D'Mello J.P.F., Macdonald A.M.C. Fungal toxins as disease elicitors. In: Environmental toxicology: current developments /J. Rose (ed.). Amsterdam, the Netherlands, 1998: 253-289.
13. Simpson D.R., Weston G.E., Turner J.A., Jennings P., Nicholson P. Differential control of head blight pathogen of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination. Eur. J. Plant Pathol., 2001, 107: 421-431 (doi: 10.1023/A:1011225817707).
14. Ramirez M.L., Reynoso M.M., Farnochi M.C., Schulze S. Vegetative compatibility and mycotoxin chemotypes among *Fusarium graminearum* (*Gibberella zae*) isolates from wheat in Argentina. Eur. J. Plant Pathol., 2006, 115: 139-148.
15. Ioos R., Belhadj A., Menez M., Faure A. The effects of fungicides on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* and their associated trichothecene mycotoxins in French naturally-infected cereal grains. Crop Protect., 2005, 24: 894-902 (doi: 10.1016/j.cropro.2005.01.014).
16. Engler K.H., Coker R.D., Evans I.H. Uptake of aflatoxin B₁ and T-2 toxin by two mycotoxin bioassay microorganisms: *Kluyveromyces marxianus* and *Bacillus megaterium*. Arch. Microbiol., 2000, 174: 381-385 (doi: 10.1007/s002030000215).
17. Palumbo J.D., Baker J.L., Mahoney N.E. Isolation of bacterial antagonists of *Aspergillus flavus* from almonds: Microb. Ecol., 2006, 52: 45-52 (doi: 10.1007/s00248-006-9096-y).

18. Reddy K.R.N., Reddy C.S., Muralidharan K. Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. *Food Control*, 2009, 20(2): 173-178 (doi: 10.1016/j.foodcont.2008.03.009).
19. Zhang T., Shi Z.Q., Hu L.B., Cheng L.G., Wang F. Antifungal compounds from *Bacillus subtilis* BFS06 inhibiting the growth of *Aspergillus flavus*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, 24: 783-788 (doi: 10.1007/s11274-007-9533-1).
20. Cho K.M., Math R.K., Hong S.Y., Islam S.M.A., Mandanna D.K., Cho J.J., Yun M.J., Kim J.M., Yun H.D. Iturin produced by *Bacillus pumilus* HY1 from Korean soybean sauce (kanjang) inhibits growth of aflatoxin producing fungi. *Food Control*, 2009, 20(4): 402-406 (doi: 10.1016/j.foodcont.2008.07.010).
21. Cavaglieri L., Passone A., Etcheverry M. Screening procedures for selecting rhizobacteria with biocontrol effects upon *Fusarium verticillioides* growth and fumonisin B₁ production. *Res. Microbiol.*, 2004, 155(9): 747-754 (doi: 10.1016/j.resmic.2004.06.001).
22. Khan N.I., Schisler D.A., Boehm M.J., Slininger P.J., Bothast R.J. Selection and evaluation of microorganisms for biocontrol of *Fusarium* head blight of wheat incited by *Gibberella zeae*. *Plant Dis.*, 2001, 85(12): 1253-1258 (doi: 10.1094/PDIS.2001.85.12.1253).

ООО «Биотроф+»,
196602 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин,
ул. Малиновская, 8, лит. А, пом. 7-Н,
e-mail: deniz@biotrof.ru

Поступила в редакцию
8 сентября 2014 года

DYNAMICS OF MYCOTOXIN ACCUMULATION IN SILAGE DURING STORAGE

G.Yu. Laptev, N.I. Novikova, L.A. Il'ina, E.A. Ylydyrym, V.V. Soldatova,
I.N. Nikonov, V.A. Filippova, E.A. Brazhnik, O.N. Sokolova

Biotrof+ Ltd, 7-N, 8, lit. A, Malinovskaya ul., St Petersburg—Pushkin, 196602 Russia, e-mail deniz@biotrof.ru

Supported by the Russian Science Foundation, the project № 14-16-00114

Received September 8, 2014

doi: 10.15389/agrobiol.2014.6.123eng

Abstract

The presence of mycotoxins in the feeds is a big problem in the world. Result of improper silaging is the occurrence of mycotoxins, the metabolic products of molds. Today there is too little information on the accumulation of mycotoxins in silage during ensiling, and there is no answer to the question how to resolve this problem. This article includes results of mycotoxins' analysis (aflatoxins, ochratoxin A, T-2 toxin, zearalenone, deoxynivalenol) in the original forage plant material of cocksfoot *Dactylis glomerata* L. and in the silage at various stages of experimental ensiling. Also the influence of biological preparations Biotrof and Biotrof-111 (Biotrof+ Ltd, Russia) and chemical preparations AIV 3 Plus and AIV 2000 Plus (KEMIRA OYJ, Finland) for the preservation of silage on reducing the amount of toxic fungal metabolites was investigated. Analysis of the amount of mycotoxins in the samples was performed by the enzyme immunoassay method using ELISA test kit AgraQuant™ (Romer Labs, Inc., Austria). Analysis of the accumulation of mycotoxins in feed plant material and silage showed that mycotoxins already occurred in forage plants as a result of fungal attacks during the growing season and later in the silages if conditions were suitable for mold growth. The biological preparations for ensiling effectively decrease the accumulation of mycotoxins in the silage compared to the variant without supplementation. At the end of silage storage the amount of aflatoxins in the variants with Biotrof and Biotrof-111 was lower by 17.7 and 9.1 %, respectively, compared to the control, with a decrease in the value of ochratoxin A by 21.4 and 34.9 %, T-2 toxin by 20.1 and 32.8 %, zearalenone by 17.7 and 10.4 %, and deoxynivalenol by 0.8 and 55.8 %, respectively. So far as in Russia no maximum permissible concentrations are specified for mycotoxins in silage, the values for feed grain of oats, wheat and barley taxonomically close to perennial cocksfoot grass were used for comparison (corn, one more cereal crop, is not a traditional forage plant in the North West region of Russia). The greatest deterrent effect on accumulation of mycotoxins had the preparation based on *Bacillus subtilis*. Chemical preparation decreased the accumulation of some mycotoxins in the storage silage. However, the silage' total toxicity in presence of the chemical preparation was quite high relatively the maximum permissible concentrations used in this study as the reference values. It significantly surpassed control in the second half of storage. As it is well known, due to changes in environmental conditions the production of mycotoxins by molds increases. In this regard, in our experiment, the influence of chemical preparation has become a stress factor that caused the active synthesis of mycotoxins by molds.

Keywords: mycotoxins, forage plants, silage, maximum limit of mycotoxins content, the biological preparation for ensiling, the chemical preparation for ensiling.