

# МИКОТОКСИНЫ В АКВАКУЛЬТУРЕ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПОСЛЕДСТВИЯ

Р. ГОНСАЛВЕС, Д. ШАТЦМАЙР, У. ХОФШТЕТТЕР, Г. САНТОС, Д. СУПРУНОВ, компания Biomin

Микотоксины являются вторичными метаболитами плесеней (Hussein and Brasel, 2001). Они встречаются в основном в продуктах растениеводства, попадая в них на разных стадиях производства — до или после сбора урожая, при транспортировке или хранении. Микотоксины разнообразны как по химической природе, так и по своим биологическим эффектам: они могут проявлять канцерогенные, тератогенные, мутагенные, эстрогенные, нейротропные или иммунотоксические свойства (Abd-Allah et al., 1999; El-Sayed et al., 2009; McKean et al., 2006). Биологические эффекты микотоксинов хорошо изучены; определены признаки, симптомы и патологии, напрямую связанные с тем или иным микотоксикозом. В аквакультуре микотоксины рассматриваются как потенциальная угроза после 1960 г., когда был описан первый случай их негативного влияния на рыб: зараженный афлатоксином хлопковый шрот вызывал у инкубаторной молоди радужной форели (*Onchorhynchus mykiss*) вспышку афлатоксикоза (Kumar et al., 2013; Wolf and Jackson, 1963). Однако чаще всего микотоксины становятся причиной плохого роста объектов аквакультуры, причем низкая эффективность использования корма и отсутствие выраженных патологических признаков затрудняют точное определение причины подобных проблем. Поэтому важно не только знать потенциальные риски, которые создают микотоксины для аквакультурных видов, но и иметь информацию о возможном содержании их в основных компонентах кормов.

Исследования негативного влияния микотоксинов на продуктивность и здоровье животных сосредоточены в основном на наземных видах (D'Mello and Macdonald, 1997; Pestka, 2007; Rotter et al., 1996), однако в последние годы предметом исследований также стали и водные объекты. Этот вопрос приобрел особую важность из-за дороговизны рыбной муки и необходимости поиска более экономичных источников белка. По данным Tacon et al. (2011), растительные источники протеина сейчас являются важнейшими в кормлении рыб более низкого трофического уровня, таких как тилапия, карповые или сомовые, а также вторым по важности источником протеина и липидов (после рыбной муки и рыбьего жира) в рационах рыб более высокого трофического уровня. Большинство микотоксинов, которые потенциально ухудшают рост и здоровье аквакультурных видов, продуцируются плесневыми грибами родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Fusarium*. Токсичные метаболиты этих плесеней оказывают канцерогенный (например, аф-

латоксин В1, охратоксин А, фумонизин В1), эстрогенный (зеараленон), нейротоксический (фумонизин В1), нефротоксический (охратоксин), дерматотоксический (трихотецены) или иммуносупрессивный (афлатоксин В1, охратоксин А, Т-2 токсин) эффекты.

## ВЛИЯНИЕ МИКОТОКСИНОВ НА ОБЪЕКТЫ АКВАКУЛЬТУРЫ

**Дезоксиниваленол (ДОН).** Известно, что радужная форель (*Onchorhynchus mykiss*) чувствительна к низкому уровню ДОН (Hoof et al., 2011; Woodward et al., 1983). Hoof et al. (2011) сообщали, что при постепенном росте концентрации ДОН в рационе форели от 300 до 2600 мкг/кг (за счет повышения уровня ввода естественно зараженной ДОН кукурузы) наблюдалось значительное и достоверное снижение скорости роста (на 40%), потребления корма (на 52,7%), конверсии корма (на 76,7%), использования протеина и энергии рациона (на 74,4 и 72,1% соответственно) по сравнению с контролем. Скармливание канальному сомику (*Ictalurus punctatus*) рационов, содержащих до 10 000 мкг/кг ДОН (либо в чистом виде, либо в виде естественно зараженной пшеницы), не оказывало влияния на потребление корма, скорость роста, гематокрит или массу печени (Manning et al., 2014). Содержание ДОН в рационах белой тихоокеанской креветки (*Litopenaeus vannamei*) от 200 до 1000 мкг/кг достоверно снижало живую массу и/или скорость роста креветок (Trigo-Stockli et al., 2000). У обычного карпа (*Cyprinus carpio L.*) три разных проверенных уровня ДОН в рационе (352, 619 и 953 мкг/кг) оказывали иммуносупрессивный эффект (Pietsch et al., 2014).

**Фумонизины (Ф).** О влиянии фумонизинов на аквакультурные виды пока опубликовано мало информации. Известно, что печень радужной форели чувствительна к фумонизину В (ФВ), который вызывает изменения в метаболизме сфинголипидов при содержании в корме менее 100 мкг/кг (Meredith et al., 1998), а у месячной молоди этого вида индуцирует рак (Riley et al., 2001). Tuan et al. (2003) показали, что скармливание подращенному молодняку нильской тилапии ФВ1 в дозах 10, 40, 70 и 150 мг/кг корма в течение 8 недель снижает скорость их роста. Влияние этого микотоксина на креветок пока изучено недостаточно хорошо. Однако немногие опубликованные исследования показывают, что *Litopenaeus vannamei* чувствительна к ФВ1. Carcía-Morales et al. (2013) установили, что скармливание белым креветкам доз ФВ1 от 20 до 200 мкг/кг корма в течение 30 дней при-

водит к снижению концентрации растворимого мышечного протеина и к изменениям термодинамических свойств миомина. Сообщалось также о выраженных гистологических изменениях в тканях организма креветок при концентрации ФВ1 в корме 200 мкг/кг и снижении качества мяса креветок при дозе более 600 мкг/кг корма.

**Зеараленон (ЗЕН).** Данный микотоксин лучше всего изучен с точки зрения его способности вызывать у сельскохозяйственных животных расстройства репродуктивной функции (Minervini and Aquila, 2008; Zinedine et al., 2007). Однако его действие на рыб и креветок практически не изучено. Немногочисленные опубликованные исследования показывают, что ЗЕН может модулировать экспрессию генов, зависящих от рецепторов эстрогена, что влияет на репродуктивную функцию. У данио-рерио (*Danio rerio*) ЗЕН вызывает уменьшение частоты нерестов (Schwartz et al., 2010) или снижение плодовитости от одного поколения к другому (Schwartz et al., 2013). При исследовании, когда развивающуюся икру содержали в воде с концентрацией ЗЕН от 500 мкг/л и выше, у рыб отмечены нарушения развития сердца и глаз, а также прогиб оси тела в направлении вверх (Bakos et al., 2013). У черных тигровых креветок (*Panaeus monodon Fabricius*) дозы ЗЕН 500 и 1000 мкг/кг корма вызывали гистологические изменения в ткани гепатопанкреаса (Supamattaya et al., 2005). Pietsch et al. (2015) скармливали обычному карпу (*Cyprinus carpio L.*) ЗЕН в дозах 332, 621 и 797 мкг/кг корма в течение четырех недель; на росте рыб это не сказалось, но повлияло на гематологические показатели: изменилась концентрация белых кровяных телец, причем две наибольшие из трех доз ЗЕН вызвали изменения в числе гранулоцитов и моноцитов. Более того, в образцах мышечной ткани были найдены следовые количества ЗЕН и  $\alpha$ -зеараленола ( $\alpha$ -ЗЕЛ), а генотоксический эффект ЗЕН обнаружен при анализе образования микроядер в эритроцитах.

**Афлатоксины (АФ).** Афлатоксины, в особенности АФВ1, довольно хорошо изучены на разных видах аквакультурных рыб и ракообразных (Dirican, 2015; Santacrose et al., 2008). Установлено, что морской окунь и радужная форель очень чувствительны к афлатоксинам, и что ЛД50 для этих двух видов составляет соответственно 180 и 5–10 мкг/кг массы тела (El-Sayed and Khalil, 2009; Hendricks, 1994); однако эти результаты были получены при принудительном кормлении в случае морского окуня и при инъекции токсина в брюшную полость в случае форели. Centoducati et al. (2010) также считают, что у золотистого спара (*Sparus aurata*) гепатоциты очень чувствительны к АФВ1. Что касается тропических видов рыб, то у нильской тилапии присутствие АФ в рационах в дозах от 100 до 2500 мкг/кг корма достоверно ухудшает скорость роста и конверсию корма (Chávez-Sánchez et al., 1994; El-Banna et al., 1992; Oliveira et al., 2013; Tuan et al., 2003). В работе El-Banna et al. (1992) показано, что даже при более низких концентрациях АФ в рационе рыб (50 мкг/кг) происходит

вакуолизация и некроз гепатоцитов. У черной тигровой креветки (*Panaeus monodon Fabricius*) АФВ1 в дозе от 5 до 20 мкг/кг приводит к снижению живой массы на 46–59% по сравнению с контролем (Bintvihok et al., 2003). По данным Ostrowski-Meissner et al. (1995), у белой тихоокеанской креветки при скармливании в течение двух недель рациона, содержащего 50 мкг/кг АФВ1, приводит к патологическим трансформациям тканей гепатопанкреаса и антеннальных желез, доза 400 мкг/кг достоверно снижает скорость роста и конверсию корма, а при дозе 900 мкг/кг падает переваримость питательных веществ рациона.

**Охратоксин А (ОТА).** Исследований по токсичному действию ОТА на гидробионты пока очень мало. Сообщалось, что у данио-рерио в присутствии этого токсина в воде во время развития икры происходят патологические трансформации, включая деформации головы, хвоста и глаз (Debeaupuis et al., 1984). У радужной форели на фоне охратоксикоза отмечались сильно выраженная дегенерация и некроз почек и печени, бледность почек, бледность и опухлость печени, а также гибель (Doster et al., 1972). У канального сомика (*Ictalurus punctatus*) дозы ОТА 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 и 8,0 мг/кг корма вызывали достоверное снижение прироста живой массы, ухудшение конверсии корма, снижение сохранности и гематокрита. Более того, в печени и тыльном сегменте почек найдены гистопатологические повреждения со степенью выраженности от умеренной до сильной (Lovell, 1992; Manning et al., 2003). Agouz and Anwer (2011) показали, что у карпа (*Cyprinus carpio L.*) естественное заражение корма дозой ОТА 15 мкг/кг приводит к снижению показателей роста и конверсии корма. Содержание в теле рыбы сухого вещества, протеина и золы отрицательно коррелировало с уровнем ОТА. Согласно El-Sayed et al. (2009), у европейского морского окуня (*Dicentrarchus labrax L.*) ЛД50 (96 ч) для ОТА составляет в среднем 277 мкг/кг живой массы, при интервале 95%-ной достоверности от 244 до 377 мкг/кг. Однако по сообщению Supamattaya et al. (2005), периодическая контаминация корма ОТА в дозах порядка 1000 мкг/кг не оказывала негативного влияния на продуктивные показатели креветок.

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКОТОКСИНОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМОВЫХ КОМПОНЕНТАХ

Растительные кормовые субстраты — наиболее перспективная замена рыбной муки среди возможных ее альтернатив, таких как отходы животноводства или рыболовства, бактериальные или водорослевые концентраты (Gatlin et al., 2007). Установлено, что эффективность компонентов в кормах для рыб и креветок зависит от их влияния на взаимосвязи между питанием, иммунитетом и сопротивляемостью болезням. Принято считать, что одним из важнейших негативных факторов кормов растительного происхождения является присутствие в них антипитательных веществ. В рамках программы компании Биомин по исследованию

**Таблица 1. Степень зараженности микотоксинами растительных компонентов кормов для аквакультуры (январь — декабрь 2015 г.)**

Вид корма	Число образцов	Число анализов	Азия		Европа	
			Число образцов	Положительные результаты, %	Число образцов	Положительные результаты, %
Соевый шрот	67	346	48	88	19	58
Пшеница	661	2083	163	71	498	80
Пшеничные отруби	50	185	42	100	8	88
Кукуруза	1317	4575	568	97	749	93
Мука из кукурузного глютена	30	161	19	100	11	100
Рапсовый / каноловый шрот	9	44	7	100	2	100
Хлопковый шрот	24	96	15	87	9	33
Рисовые отруби	18	102	18	100	0	0

микотоксинов проведен анализ 2176 образцов различных растительных кормов, произведенных в азиатских и европейских странах в течение одного года (с января по декабрь 2015 г.), с целью оценить зараженность микотоксинами самых распространенных растительных компонентов кормов для аквакультуры. Исследованы восемь образцов: соевый шрот, пшеница, пшеничные отруби, кукуруза, мука из кукурузного глютена, хлопковый шрот, рапсовый/каноловый шрот и рисовые отруби. Результаты исследований показали, что микотоксины содержатся в 93% всех азиатских и в 78% всех европейских образцов (табл. 1).

**Соевый шрот.** Как следует из таблицы, было проанализировано 67 образцов: в азиатских образцах зараженность составила 88%, в европейских — 58%. Азиатские образцы содержали в основном микотоксины рода *Fusarium* (ЗЕН, ДОН и Ф), тогда как АФ, Т-2 и ОТА присутствовали лишь в очень низких концентрациях. В европейских образцах также доминировали фузариотоксины, причем максимальная концентрация ДОН составила 930 мкг/кг; Т-2 токсина — 105 мкг/кг. В 58% образцов из Азии найден более чем один микотоксин, у европейских образцов перекрестная зараженность составила 32%.

**Пшеница.** Из 163 азиатских образцов пшеницы 71% был заражен микотоксинами, среди которых высок уровень ДОН: средняя концентрация 1275 мкг/кг при максимуме 6976 мкг/кг. Уровень зараженности европейских образцов составил 80%; в них также превалировал ДОН, но с более низкой средней концентрацией (418 мкг/кг), однако с таким же высоким верхним пределом (6219 мкг/кг). Фумонизины в европейских образцах встречались также в относительно больших концентрациях (максимум 1628 мкг/кг). Доля перекрестных заражений в обоих регионах была довольно невысокой: 28% в Азии и 26% в Европе.

**Пшеничные отруби.** Образцов пшеничных отрубей проанализировано гораздо меньше, чем образцов пшеницы. Следует отметить, что 100% азиатских образцов были заражены микотоксинами, в основном это фузариотоксины при средних концентрациях: Ф — 620 мкг/кг; ЗЕН — 761; ДОН — 1660 мкг/кг. Зараженность европейских образцов

составила 88%, они содержали Ф (максимальная концентрация 5334 мкг/кг) и ДОН (средняя концентрация 5124, максимальная 15 976 мкг/кг). Судя по средним показателям, отруби заражены микотоксинами сильнее, чем пшеница. По сообщению Mankevičienė (2014), концентрация микотоксинов в них может в несколько раз превышать ее в зерне. Это говорит о том, что при переработке какой-либо кормовой культуры концентрация метаболитов повышается. Доля перекрестных заражений в образцах пшеничных отрубей из Азии 31%, из Европы — 38%.

**Кукуруза.** И в Европе, и в Азии кукуруза является одной из наиболее сильно зараженных микотоксинами культур. В азиатских образцах доминировал Ф (средняя концентрация 2038, максимальная 16 258 мкг/кг), а в европейских ДОН (средняя концентрация 2469, максимальная 19 180 мкг/кг). Найден также другие фузариотоксины и АФ.

**Мука из кукурузного глютена.** Данное кормовое средство оказалось самым зараженным из всех исследованных. В обоих регионах это в основном фузариотоксины (ЗЕН, ДОН и Ф) со средними концентрациями 2394 и максимальными 8825 мкг/кг. Это неудивительно, если учесть данные по зерну кукурузы, а мука из кукурузного глютена является отходом его переработки. Соответственно выглядят и чрезвычайно высокие уровни перекрестной контаминации: 100% в азиатских и 91% в европейских образцах. В среднем каждый проанализированный образец содержал четыре токсина. Столь высокое перекрестное заражение может усилить проявление синергического эффекта при скармливании зараженной кукурузной глютенной муки.

**Рапсовый/каноловый шрот.** Хотя образцов этого кормового средства из обоих регионов было проанализировано немного, это позволило получить предварительную картину их зараженности микотоксинами. Основными контаминантами в обоих регионах являются фузариотоксины: в Европе это небольшие концентрации ДОН и Ф (в среднем менее 45 мкг/кг), в Азии — ДОН и ЗЕН (при максимальной концентрации ДОН 2431 мкг/кг).

**Хлопковый шрот.** По данным Тасоп (2011), этот компонент часто используется в промышленных комбикормах

Таблица 2. Степень зараженности микотоксинами кормов для аквакультуры (январь — по декабрь 2014 г.)

Показатель	Микотоксины				
	АФ	ЗЕН	ДОН	ФВ	ОТА
Число образцов	37	37	37	41	37
Число положительных результатов	22	22	25	21	21
То же, %	59%	59%	68%	51%	57%
Число отрицательных результатов	15	15	12	20	16
То же, %	41%	41%	32%	49%	43%
Средняя концентрация в образцах, мкг/кг	49	71	162	637	2
Максимальная концентрация в образцах, мкг/кг	221	306	413	7534	5
Страна происхождения образцов	Канада	Венгрия	Канада	Португалия	Мьянма
Средняя зараженность изученных комбикормов, мкг/кг	29	42	109	326	1
Перекрестная контаминация:	Количество образцов, %				
меньше предела обнаружения	7				
1 микотоксин	17				
больше 1 микотоксина	76				

(до 25%) для канального сомика в США и тилапии в Китае. Хотя число собранных образцов было невелико, можно отметить, что из девяти европейских образцов только 33% были заражены микотоксинами, причем уровни заражения были слишком низкими, чтобы представлять угрозу для аквакультурных видов. Однако в Азии ситуация оказалась совершенно иной, учитывая высокие температуры и влажность в этом регионе: основным контаминантом оказался АФ (средняя концентрация 2038, максимальная 16 258 мкг/кг), обнаружены также значительные количества фузариотоксинов (ЗЕН и ДОН).

**Рисовые отруби.** Этот продукт используется как подкормка при традиционной системе выращивании пангасиевых сомов во Вьетнаме, а также в Китае при интенсивном разведении золотого карася (Hasan, 2007). По данным FAO (2012), при промышленном выращивании тилапии ввод рисовых отрубей в корма в зависимости от региона составляет от 10 до 25%. Поскольку этот компонент больше применяют в Азии, в Европе образцы для исследования не брали. Азиатские образцы оказались заражены в основном ЗЕН (средняя концентрация 147, максимальная 545 мкг/кг) и Ф (средняя концентрация 118, максимальная 713 мкг/кг), а также содержали в небольшом количестве ДОН и АФ.

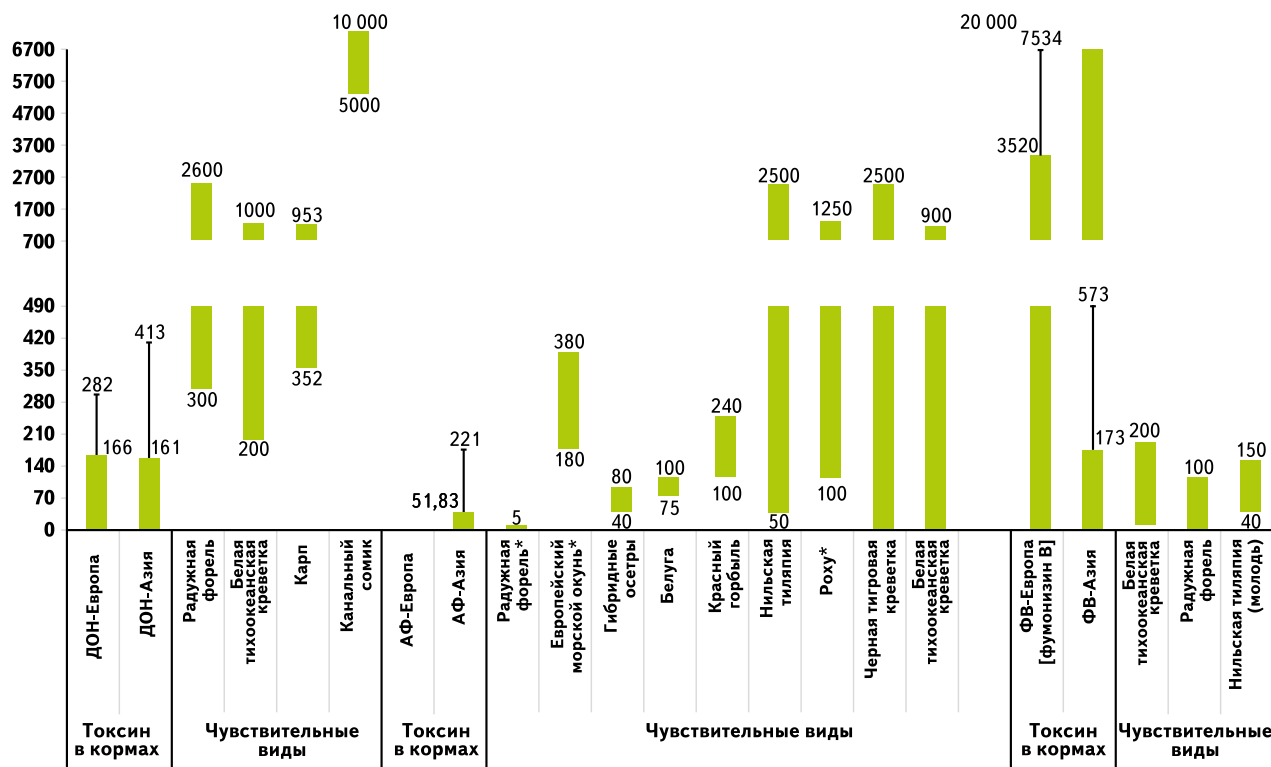
Поскольку в настоящее время животные источники белка в кормах стараются заменять на растительные, можно ожидать, что риск заражения комбикормов для аквакультуры микотоксинами будет возрастать пропорционально увеличению ввода в них растительных компонентов. Он также будет зависеть от типа и происхождения культур. Данные исследований показали, что в Азии все растительные компоненты в наибольшей степени заражены метаболитами рода *Fusarium* (ЗЕН, ДОН и Ф), за исключением хлопкового шрота, содержащего в основном АФ, а также фузариотоксинами (ЗЕН и ДОН). В европейских образцах преобладают фузариотоксины.

### Распространение микотоксинов в готовых кормах для аквакультуры

Использование растительных компонентов, зараженных микотоксинами, повышает риск заражения готовых комбикормов. Gonçalves et al. (2016) сопоставили данные по зараженности микотоксинами 41 образца готовых кормов для рыб и креветок, произведенных в Европе и Азии, с доступными литературными данными по микотоксикозам у этих объектов. Оказалось, что уровни микотоксинов в кормах, определенные в 2014 г., находились в диапазонах чувствительности к ним ряда важнейших аквакультурных видов (см. рисунок). Авторы подчеркивают, что это может негативно влиять на аквакультурные объекты даже без учета возможных эффектов перекрестного заражения. Число видов, для которых эти концентрации микотоксинов могут оказаться вредными, может быть даже больше, чем указывают авторы, поскольку данных пока слишком мало, а также из-за того, что не исключены синергические эффекты перекрестных контаминаций.

Анализ 41 образца готовых кормов для объектов аквакультуры показал, что и в Азии, и в Европе самым распространенным микотоксином является ДОН (68% положительных результатов анализа), затем с небольшим отрывом идут АФ и ЗЕН (59%), ОТА (57%) и ФВ (51%) (табл. 2). По уровню зараженности «чемпионом» среди микотоксинов оказался ФВ, который присутствовал в 21 образце из 41 со средней концентрацией 637 мкг/кг и максимальной 7534 мкг/кг корма. В 76% образцов было найдено более одного микотоксина, в 17% присутствовал только один токсин и лишь в 7% образцов микотоксинов не найдено.

Зараженность кормов в Европе и Азии несколько разная, видимо, вследствие климатических различий между этими регионами. В Европе АФ (в 17% образцов) и ОТА (в 67% образцов) встречались в относительно низких средних концентрациях (0,43 и 1,53 мкг/кг соответственно). Рас-



Сопоставление концентраций микотоксинов, найденных в кормах для аквакультуры в Европе и Азии, с данными по чувствительности к ним ряда видов. Данные по концентрациям представлены в виде средняя  $\pm$  доверительный интервал. Для чувствительных видов данные приведены в виде минимальных и максимальных значений концентрации токсинов, описанных в литературе (см. обзор Gonçaves et al., 2016). По видам с пометкой «\*» цифры даны в  $\mu\text{г}/\text{кг}$  живой массы, остальные — в  $\mu\text{г}/\text{кг}$  корма.

пространенность этих микотоксинов в Азии была выше как по частоте (68% по АФ и 55% по ОТА), так и по средним концентрациям (51,83 и 2,11  $\mu\text{г}/\text{кг}$  соответственно). Однако средние концентрации ЗЕН, ДОН и ФВ в зараженных образцах в Европе были выше, чем в Азии (118,01; 165,61 и 3419,92  $\mu\text{г}/\text{кг}$  соответственно).

Микотоксины обнаружены почти во всех исследованных образцах растительных компонентов и кормов для аквакультуры. Следовательно, они могут представлять угрозу для развития данного сектора, если вместо компонентов животного происхождения (например, рыбной муки и др.) в корма вводить все больше растительных источников белка. В некоторых случаях уровни заражения микотоксинами невысоки, в других они достаточны для того, чтобы создать реальную угрозу для объектов аквакультуры. В целом можно заключить, что в Азии соевый шрот, зерно и отруби пшеницы, кукуруза и мука из кукурузного глютена, хлопковый шрот, рапсовый или каноловый шрот и рисовые отруби заражены в основном токсинами грибов *Fusarium* (зеараленон, дезоксиниваленон и фумонизины), за исключением хлопкового шрота, доминируют афлактоксины и присутствуют зеараленон и дезоксиниваленон. Европейские образцы заражены преимущественно фузариотоксинами.

Во всех образцах кормового сырья довольно высокая перекрестная контаминация, что повышает риск зараже-

ния комбикорма при вводе в него сразу нескольких растительных составляющих. Наблюдается усиление накопления микотоксинов в продуктах или отходах переработки растительного сырья, таких как мука из кукурузного глютена или пшеничные отруби, по сравнению с зерном кукурузы и пшеницы. Обнаруженные уровни микотоксинов могут создавать угрозу, даже если рассматривать их индивидуальные действия и не принимать во внимание аддитивные или синергические эффекты при перекрестной контаминации. Перекрестные заражения могут усиливать негативное влияние микотоксинов на гидробионты при концентрациях ниже порога их индивидуальной токсичности.

Так как клинические симптомы микотоксикозов у водных объектов практически не заметны, микотоксины могут стать проблемой, которую нелегко идентифицировать и которая ведет к снижению сопротивляемости болезням и продуктивности. Для уменьшения степени риска важна информация о контаминации компонентов кормов микотоксинами и об их влиянии на отдельные водные виды. Надеемся, что в ближайшем будущем влияние микотоксинов на объекты аквакультуры будет изучено так же хорошо, как их влияние на наземных сельскохозяйственных животных. ■

Источник: World Nutrition Forum 2016, Biomin, Ванкувер (Канада)  
Перевод: А. Толкачёв