

УДК 582.272:632.4.01/08:57.022:543.9

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОФИЛЯ МИКОТОКСИНОВ В БУРЫХ ВОДОРОСЛЯХ ИЗ ШТОРМОВЫХ ВЫБРОСОВ

А. А. Буркин, Г. П. Кононенко

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал ФГБНУ “Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко”,  
123022 г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5, e-mail: kononenkogrp@mail.ru

Поступила в редакцию 18.01.2022

Методом непрямого конкурентного иммуноферментного анализа в бурых водорослях *Fucus vesiculosus* Linnaeus, *Fucus serratus* Linnaeus, *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis и *Saccharina latissima* (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders, отобранных с естественного субстрата и из штормовых выбросов в одном из экотопов Кандалакшского залива Белого моря, проведена сравнительная оценка содержания низкомолекулярных метаболитов, свойственных микромицетам родов *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Penicillium* Link, *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Myrothecium* Tode, *Cladosporium* Link и ряду других. В живых талломах *F. vesiculosus*, *F. serratus*, *A. nodosum* были детектированы все анализируемые вещества – Т-2 токсин, диацетоксисцирпенол, дезоксиниваленол, зеараленон, фумонизины, альтернариол, охратоксин А, цитринин, PR-токсин, микофеноловая кислота, афлатоксин В<sub>1</sub>, стеригматоцистин, циклопиазоновая кислота, эмодин, роридин А и эргоалкалоиды. В образцах из выбросов профиль микотоксинов претерпел значительные изменения. У *F. vesiculosus* и *F. serratus* резко и единообразно уменьшилось их содержание и, как следствие, понизилась частота выявления – до 8% и 15%. У *A. nodosum* обнаружены только альтернариол, афлатоксин В<sub>1</sub> и микофеноловая кислота и лишь в 17% образцов вблизи пределов определения метода, а остальные компоненты комплекса найти не удалось. В живых талломах *S. latissima* анализируемые микотоксины отсутствовали, а из выбросов часть образцов имела слабую контаминацию микофеноловой кислотой и эмодином.

**Ключевые слова:** макроводоросли, *Fucus*, *Ascophyllum*, *Saccharina*, штормовые выбросы, микотоксины, иммуноферментный анализ.

DOI: 10.47021/0320-3557-2022-13-17

### ВВЕДЕНИЕ

Водоросли прибрежных зон Белого моря, являясь важной частью экосистем севера европейской России, участвуют в круговороте питательных веществ, структурировании среды обитания и активно вовлечены в ответные реакции на биогенные и антропогенные воздействия [Возжинская, 1971 (Vozzhinskaya, 1971); Максимова, Мюге, 2007 (Maksimova, Myuge, 2007); Андреев, Плакотская, 2019 (Andreev, Plakhotskaya, 2019)]. В Кандалакшском заливе для эдификаторов сообществ приливно-отливной зоны и сублиторали – фукусовых и ламинариевых водорослей – за последние десятилетия подробно изучены ассоциации с микроскопическими грибами, установлено многообразие состава микобиоты и ее подверженность влиянию условий обитания [Бубнова, Киреев, 2009 (Bubnova, Kireev, 2009); Коновалова, Бубнова, 2011 (Konvalova, Bubnova, 2011); Коновалова, Бубнова, Сидорова, 2012 (Konvalova, Bubnova, Sidorova, 2012)]. Недавно в живых талломах бурых водорослей найдены метаболиты, свойственные токсигенным

микромицетам родов *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Penicillium* Link, *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Myrothecium* Tode, *Cladosporium* Link и других [Буркин и др., 2020 (Burkin et al., 2020), Burkin et al., 2021]. На пологих участках береговой линии этого залива наблюдается массовое скопление остатков этих морских организмов, вынесенных приливными и ветровыми волнами и образующих плотные валы разной протяженности. В такой постоянно пополняемой смеси из разновозрастных особей и их фрагментов, которая круглогодично находится под воздействием резких переменчивых климатических условий и постоянного увлажнения заплесками соленой воды, следует ожидать сложный каскад метаболических процессов, однако этот биотоп до сих пор мало востребован как объект научных исследований. В данной работе проведена сравнительная оценка содержания микотоксинов у четырех видов бурых водорослей, отобранных с естественного субстрата и из штормовых выбросов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы бурые водоросли *Fucus vesiculosus* Linnaeus, *F. serratus* Linnaeus, *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis и *Saccharina latissima* (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders, взятые в одном экотопе пролива Великая Салма Кандалакшского залива Белого моря (66°31' N 33°11' E) в период с 22 по 24 августа 2020 г. Живые особи собирали в естественной среде обитания при отливе, талломы из валков штормовых выбросов, не имеющие поврежденной структуры и внешних признаков гниения, отбирали у верхней границы литорали. После высушивания образцы измельчали в лабораторной мельнице, для экстракции применяли смесь ацетонитрила и воды в объемном соотношении 84:16 при расходе 10 мл на 1 г навески. Экстракты после десятикратного разбавления буферным раствором анализировали с по-

мощью аттестованных коммерческих и исследовательских иммуноферментных тест-систем (Россия). Нижний предел количественных измерений в условиях непрямого конкурентного иммуноферментного анализа соответствовал 85%-ному уровню связывания антител. Данные обсчитывали в программе Microsoft Office Excel и представляли в виде средних арифметических значений. Среди определяемых микотоксинов были Т-2 токсин (Т-2), диацетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон (ЗЕН), фумонизины группы В (ФУМ), альтернариол (АОЛ), охратоксин А (ОА), цитринин (ЦИТ), стеригматоцистин (СТЕ), афлатоксин В<sub>1</sub> (АВ<sub>1</sub>), циклопиазоновая кислота (ЦПК), микофеноловая кислота (МФК), эргоалкалоиды (ЭА), эмодин (ЭМО), PR-токсин (PR) и роридин А (РОА).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по живым талломам у всех исследованных видов полностью соответствовали полученным ранее [Burkin et al., 2021]. Так, у *F. vesiculosus*, *F. serratus* и *Ascophyllum nodosum* регулярно обнаруживались все анализируемые микотоксины, тогда как у *Saccharina latissima* они отсутствовали (см. таблицу).

В образцах из выбросов, профиль микотоксинов претерпел значительные изменения. У трех видов фукусовых резко и единообразно понизились их содержание и частота выявления – у *F. vesiculosus* и *F. serratus* до 8% и 15%. Для *A. nodosum* по 13 показателям был получен отрицательный результат, а АОЛ, АВ<sub>1</sub> и ЭА удалось обнаружить частично у пределов определения метода. У *S. latissima* при сохранении общего “нулевого фона” часть образцов была контаминирована небольшими количествами МФК и ЭМО.

Выявленное смещение профиля микотоксинов при длительном пребывании водорослей вне условий типичного обитания является новым научным феноменом. Эффект уменьшения контаминации фукусовых водорослей может быть результатом их вторичного заселения бактериями и грибами, способными разрушать эндогенный комплекс микотоксинов и накапливать продукты своего метаболизма, или следствием глубокой внутренней перестройки биохимической системы организма, сопровождающей его стрессовое отчуждение, а также возникать от сочетания таких процессов. Появление в части образцов *S. latissima*, взятых из выбросов, МФК и метаболита из группы антрахинонов ЭМО может быть связано с их инфицированием аэрофильными продуцентами, среди которых

известны представители многих родов, в частности, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Trichoderma* и *Phoma* [Burkin, Kononenko, 2010; Christiansen et al., 2021]. За последние десятилетия на этом участке Белого моря в донных и литоральных грунтах и живых талломах водорослей-макрофитов обнаружено более 300 видов грибов и грибоподобных организмов и недавно в перезимовавших остатках галофитов, отобранных в зоне выбросов, выявлено 18 разных морфотипов грибов и в их числе – новые виды [Bubnova et al., 2014; Bubnova, 2016]. Дальнейшее изучение сообществ микроорганизмов, активно влияющих на метаболический статус морских организмов, представляет значительный интерес для понимания общих механизмов ответных реакций на воздействие биотических и абиотических факторов.

Пониженное содержание микотоксинов в фукусовых водорослях из штормовых выбросов, несомненно, заслуживает внимания и с практической точки зрения, поскольку открывает путь к поиску микроорганизмов, способных эффективно трансформировать эти вещества и перспективных в кормопроизводстве для снижения рисков интоксикаций животных. Подобная активность уже известна для бактерий и грибов, а также для ферментов, выделенных из микробных систем [Nathout, Aly, 2014; Ji et al., 2016]. Кроме того, выбросы с открытых прибойных берегов традиционно используются местным населением для удобрения сельскохозяйственных угодий, и факт снижения их контаминации в естественных условиях следует расценивать как положительный.

Встречаемость микотоксинов (частота, % / средний уровень, нг/г) в талломах живых водорослей ( $n_1$ ) и отобранных из штормовых выбросов ( $n_2$ )

Occurrence of mycotoxins (incidence, % / average level, ng/g) in thalli of living algae ( $n_1$ ) and selected from storm emissions ( $n_2$ )

Токсин Toxin	<i>Fucus vesiculosus</i> $n_1=7$ $n_2=12$		<i>Fucus serratus</i> $n_1=7$ $n_2=13$		<i>Ascophyllum nodosum</i> $n_1=7$ $n_2=12$		<i>Saccharina latissima</i> $n_1=5$ $n_2=15$	
T-2	100/345	33/9	100/620	54/28	100/150	—	—	—
ДАС DAS	100/25400	33/535	100/31200	46/2500	100/18700	—	—	—
ДОН DON	100/5330	8/83	100/6740	15/570	100/3550	—	—	—
ЗЕН ZEN	100/955	17/19	100/1490	46/49	100/420	—	—	—
ФУМ FUM	100/3730	50/91	100/6290	38/345	100/2140	—	—	—
АОЛ AOL	100/2890	83/51	100/7080	100/74	100/2320	17/14	—	—
ОА OA	100/270	58/12	100/480	69/16	100/195	—	—	—
ЦИТ CIT	100/1960	33/38	100/2790	38/79	100/1780	—	—	—
СТЕ STC	100/1410	33/28	100/2500	46/62	100/835	—	—	—
АВ <sub>1</sub> AB <sub>1</sub>	100/195	83/3	100/215	85/5	100/175	17/2	—	—
ЦПК CPA	100/4220	25/47	100/6120	23/80	100/2120	—	—	—
МФК MPA	100/5610	67/53	100/9660	85/110	100/3760	17/88	—	40/66
ЭА EA	100/3580	75/9	100/4600	77/46	100/1590	—	—	—
ЭМО EMO	100/1820	75/24	100/2800	69/59	100/1590	—	—	60/25
РР PR	100/24000	75/990	100/27400	31/2990	100/19400	—	—	—
РОА ROA	100/1370	25/39	100/2550	23/49	100/405	—	—	—

**Примечание.** “—” – микотоксин не обнаружен.

**Note.** “—” – mycotoxin was not detected.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для бурых водорослей *Ascophyllum nodosum* и двух видов рода *Fucus* (*F. vesiculosus*, *F. serratus*) из Белого моря подтверждено присутствие в талломах многокомпонентных комплексов низкомолекулярных метаболитов из группы микотоксинов и обнаружено резкое снижение их содержания при нахождении в штормовых выбросах. У ламинариевой водоросли *S. latissima*, в живых особях которой микотоксины отсутствуют, в условиях продолжительного отчуждения от субстрата выявлена

слабая контаминация двумя грибными метаболитами – микофеноловой кислотой и эмодином. Оба факта установлены впервые, важны как с научной, так и с практической стороны, и, несомненно, представляют интерес для расширения формата обследований, включающего все многообразие макрофитов, типичных для данной экосистемы, а также распространения на другие ареалы обитания этих морских организмов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бубнова Е.Н., Киреев Я.В. Сообщества грибов на талломах бурых водорослей рода *Fucus* в Кандалакшском заливе Белого моря // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. Вып. 5. С. 388–397.
- Буркин А.А., Кононенко Г.П., Георгиев А.А., Георгиева М.Л. Особенности накопления микотоксинов в макрофитах Белого моря // Современная микология в России. 2020. Т. 8. С. 100–102.

- Возжинская В.Б. Беломорские фукоиды, их распределение, биология развития, продукция // Основы биологической продуктивности океана и ее использование. М.: Издательство “Наука”, 1971. С. 172–182.
- Коновалова О.П., Бубнова Е.Н. Грибы на бурых водорослях *Ascophyllum nodosum* и *Pelvetia canaliculata* в Канда-  
лакшском заливе Белого моря // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. Вып. 3. С. 240–248.
- Коновалова О.П., Бубнова Е.Н., Сидорова И.И. Биология *Stigmatidium ascophylli* – гриба-симбионта фукусовых  
водорослей в Кандалакшском заливе Белого моря // Микология и фитопатология. 2012. Т. 46. Вып. 6.  
С. 353–360.
- Максимова О.В., Мюге Н.С. Новые для Белого моря формы фукоидов (Fucales, Phaeophyceae): морфология,  
экология, происхождение // Ботанический журнал. 2007. Т. 92, № 7. С. 965–986.
- Andreev V.P., Plakhotskaya Z.V. Comparative analysis of copper and cadmium accumulation by macrophytes of the  
Chupa inlet, Kandalaksha Bay, White Sea // Inland Water Biology. 2019. Vol. 12. № 1. P. 124–127.  
DOI: 10.1134/S1995082919010024
- Bubnova E.N., Konovalova O.P., Grum-Grzhimaylo O.A., Marfenina O.E. Fifty years of mycological studies at the  
White Sea Biological Station of Moscow State University: Challenges, results, and outlook // Moscow University  
Biological Sciences Bulletin. 2014. Vol. 69. № 1. P. 23–39. DOI: 10.3103/S009639254010039
- Bubnova E.N. Two marine fungi new for the White Sea // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2016.  
Vol. 71. № 4. P. 218–221. DOI: 10.3103/S0096392516040039
- Burkin A.A., Kononenko G.P. Producers of mycophenolic acid in ensiled and grain feeds // Applied Biochemistry and  
Microbiology. 2010. Vol. 46. № 5. P. 545–550. DOI: 10.1134/S0003683810050145
- Burkin A.A., Kononenko G.P., Georgiev A.A., Georgieva M.L. Toxic metabolites of micromycetes in brown algae of  
the families Fucaceae and Laminariaceae from the White Sea // Russ. J. Mar. Biol. 2021. Vol. 47. № 1. P. 35–38.  
DOI: 10.1134/S1063074021010028
- Christiansen J.V., Isbrandt T., Petersen C., Sondergaard T.E., Nielsen M.R., Pedersen T.B., Sørensen J.L., Larsen T.O.,  
Frisvad J.C. Fungal quinones: diversity, producers, and application of quinones from *Aspergillus*, *Penicillium*, *Tala-  
romyces*, *Fusarium*, and *Arthrimum* // Applied Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 105. P. 8157–8193.  
DOI: 10.1007/s00253-021-11597-0
- Hathout A. S., Aly S.E. Biological detoxification of mycotoxins: A review // Annals of Microbiology. 2014. Vol. 64.  
№ 3. P. 905–919. DOI: 10.1007/s13213-014-0899-7
- Ji C., Fan Y., Zhao L. Review on biological degradation of mycotoxins // Animal Nutrition, 2016. № 2. P. 127–133.  
DOI: 10.1016/j.aninu.2016.07.003

## REFERENCES

- Andreev V.P., Plakhotskaya Z.V. Comparative analysis of copper and cadmium accumulation by macrophytes of the Chu-  
pa inlet, Kandalaksha Bay, White Sea. *Inland Water Biology*, 2019, vol. 12, no. 1, pp. 124–127.  
doi: 10.1134/S1995082919010024
- Bubnova E.N., Kireev J.V. Fungal communities associated with brown seaweeds *Fucus* in the Kandalaksha Bay (White  
Sea, NW Russia). *Mikol. Fitopatol.*, 2009, vol. 43, no. 5, pp. 388–397. (In Russian)
- Bubnova E.N., Konovalova O.P., Grum-Grzhimaylo O.A., Marfenina O.E. Fifty years of mycological studies at the White  
Sea Biological Station of Moscow State University: Challenges, results, and outlook. *Moscow University Biological  
Sciences Bulletin*, 2014, vol. 69, no. 1, pp. 23–39. doi: 10.3103/S009639254010039
- Bubnova E.N. Two marine fungi new for the White Sea. *Mosc. Univ. Biol. Sci. Bull.*, 2016, vol. 71, no. 4, pp. 218–221.  
doi: 10.3103/S0096392516040039
- Burkin A.A., Kononenko G.P. Producers of mycophenolic acid in ensiled and grain feeds. *Appl. Biochem. Microbiol.*,  
2010, vol. 46. No. 5. pp. 545–550. doi: 10.1134/S0003683810050145
- Burkin A.A., Kononenko G.P., Georgiev A.A., Georgieva M.L. Osobennosti nakopleniya mikotoksinov v makrofitaх Belo-  
go moray. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*, 2020, vol. 8. pp. 100–102. (In Russian)
- Burkin A.A., Kononenko G.P., Georgiev A.A., Georgieva M.L. Toxic metabolites of micromycetes in brown algae of the  
families Fucaceae and Laminariaceae from the White Sea. *Russ. J. Mar. Biol.*, 2021, vol. 47, no. 1, pp. 35–38.  
doi: 10.1134/S1063074021010028
- Christiansen J.V., Isbrandt T., Petersen C., Sondergaard T.E., Nielsen M.R., Pedersen T.B., Sørensen J.L., Larsen T.O., Frisvad  
J.C. Fungal quinones: diversity, producers, and application of quinones from *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Fusa-  
rium*, and *Arthrimum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2021, vol. 105. pp. 8157–8193. doi: 10.1007/s00253-021-11597-0
- Hathout A. S., Aly S.E. Biological detoxification of mycotoxins: A review. *Ann. Microbiol.*, 2014, vol. 64, no. 3, pp. 905–  
919. doi: 10.1007/s13213-014-0899-7
- Konovalova O.P., Bubnova E.N. Fungi on brown seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Pelvetia canaliculata* in the Kanda-  
laksha Bay of White Sea. *Mikol. Fitopatol.*, 2011, vol. 45, no. 3, pp. 240–248. (In Russian)
- Konovalova O.P., Bubnova E.N., Sidorova I.I. Biology of *Stigmatidium ascophylli* – fungal symbiont of fucoids in Kanda-  
laksha Bay, White Sea. *Mikol. Fitopatol.*, 2012, vol. 46, no. 6, pp. 353–360. (In Russian)
- Maksimova O.V., Myuge N.S. Novye dlya Belogo morya formy fukoidov (Fucales, Phaeophyceae): morfologiya, ekolo-  
giya, proiskhozhdenie. *Botanicheskij zhurnal*, 2007, vol. 92, no. 7, pp. 965–986. (In Russian)
- Vozzhinskaya V.B. Osnovy biologicheskoy produktivnosti okeana i ee ispol'zovanie. *Belomorskie fukoidy, ih raspredelenie,  
biologiya razvitiya, produkciya* [White Sea fucoids, their distribution, developmental biology, products]. Moscow,  
Nauka, 1971, pp. 172–182. (In Russian)

## CHANGING THE MYCOTOXIN PROFILE IN BROWN ALGAE FROM STORM EMISSIONS

A. A. Burkin, G. P. Kononenko

All-Russia Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene, and Ecology,  
Skryabin and Kovalenko Federal Scientific

Center All-Russia Research Institute of Experimental Veterinary Medicine,  
123022 Moscow, Russia, e-mail: kononenkogp@mail.ru

Revised 18.01.2022

Brown algae *Fucus vesiculosus* Linnaeus, *Fucus serratus* Linnaeus, *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis and *Saccharina latissima* (Linnaeus) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders collected from natural substrates and from storm emissions in one of the ecotopes of the Kandalaksha Bay of the White Sea (66°31' N 33°11' E) were used for comparative assessment of the content of low-molecular metabolites of micro-mycetes belonging to the genera *Fusarium* Link, *Alternaria* Nees, *Penicillium* Link, *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Myrothecium* Tode, *Cladosporium* Link and others. After drying, the samples were crushed in a laboratory mill, a mixture of acetonitrile and water was used for extraction in a volume ratio of 84:16 with a consumption rate 10 mL per 1 g specimen. Extracts after 10-fold dilution with the buffer solution were analyzed using a set of certified enzyme-linked immunosorbent assay systems (Russia). The lower limit of quantitative measurements corresponded to an 85% level of antibody binding. All analyzed compounds – T-2 toxin, diacetoxiscirpenol, deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins, alternariol, ochratoxin A, citrinin, PR-toxin, mycophenolic acid, aflatoxin B<sub>1</sub>, sterigmatocystin, cyclopiazonic acid, emodin, roridin A and ergot alkaloids – were found in the fresh thalli of *F. vesiculosus*, *F. serratus*, and *A. nodosum*. In the samples from the emissions, the profile of mycotoxins has been significantly changed. In *F. vesiculosus* and *F. serratus* the content of mycotoxins decreased sharply and uniformly and, as a result, the incidence of detection reduced to 8% and 15%. In *A. nodosum*, alternariol, aflatoxin B<sub>1</sub> and mycophenolic acid were revealed in 17% of samples near the limits of determination of methods, and the other components of the complex could not be found. The mycotoxins were absent in the fresh thalli of *S. latissima*, and only some of the samples from the emissions had weak contamination with mycophenolic acid and emodin.

**Keywords:** macroalgae, *Fucus*, *Ascophyllum*, *Saccharina*, storm emissions, mycotoxins, ELISA