

Изобретение относится к микробиологической промышленности и касается получения нового штамма микромицета, который может быть использован для получения микотоксина коевой кислоты, необходимой как стандарт-свидетель при микотоксикологических исследованиях кормов, пищевых продуктов, культур микромицетов с целью диагностики и профилактики коетоксикоза сельскохозяйственных животных и птицы.

Известны следующие виды микромицетов способные продуцировать коевую кислоту: *Aspergillus clavatus*, *A. effusus*, *A. flavus*, *A. flavus - cryzae*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. oryzae*, *A. parasiticus*, *A. tamaris*, *A. ustus*, *Penicillium citrinum*, *P. purporogenum*, *P. rubrum*.

Однако эти культуры не имеют практического значения для получения микотоксина, так как продуктивность известных штаммов низка.

Известно использование штамма *Aspergillus flavus* путем культивирования на зерновых злаках [12]. Однако этот штамм обладает невысокой токсинообразующей активностью, при этом количество образующей коевой кислоты составляет 0,75-3,20 мг/кг в зависимости от вида субстрата.

Цель изобретения - получение нового штамма микромицета, обладающего повышенной продуктивностью микотоксина коевой кислоты. Для достижения этой цели предлагается штамм гриба *A. flavus* Link H-252, депонирован в коллекции грибов ВНИИ антибиотиков Минмедпрома СССР под номером 335 А. Штамм выделен из корма для животных. Видовая принадлежность определена по классификации Билей В. И.

Полученный штамм *Aspergillus flavus* Link H-252 имеет следующие морфологическую и физиологическую характеристики.

На агаре Чапека колонии быстро растущие, на 10 сутки достигают 6-7 см. в диаметре, не превышающие 3-4 см., состоят из довольно бесцветного тонкого мицелия, погруженного в окраинной зоне колонии до 1 см., радиально-бороздчатые, обильно спороносящие. Конидиальные головки желтых оттенков, желтого цвета, быстро изменяющие окраску от ярких до желто-зеленых оттенков: оливково-желтовато-зеленых до желтовато-тускло-зеленых при старении. Конидиальные головки радиальные, расцепляются на несколько плохо выраженных колонок не превышают 400-500 мкм. в диам. Конидиеносцы бесцветные, до 1 мм длиной, в терминальной части 10-20 мм шир. и чуть шире к основанию, с утолщенной, грубошероховатой оболочкой. Апикальное расширение при формировании продолговатое, позже более или менее шаровидное, 25-45 мкм в диам. Стеригмы двухъярусные постоянно образуются на конидиеносцах из более мелких головок, 6,5-14 x 3-5,5 мкм. с утолщенной верхушкой. Конидии почти шаровидные, шиповатые, варьируют от 3-6 мкм в диам. Штамм образует склероции темно-красно-коричневые. Реверзум бесцветный при отсутствии склероции.

Оптимальная температура роста штамма 30°C, растет и при более низких температурах - до 2°C. Не растет при 52°C. Оптимальная температура токсинообразования 26-30°C.

На жидких питательных средах Чапека, Чапека-Докса, Ролана-Тома, Уилкинсона коетоксигенный штамм гриба хорошо растет и продуцирует микотоксин, также происходит накопление коевой кислоты и на естественных зерновых субстратах - пшенице, ржи, овсе, кукурузе, ячмене и рисе.

Полученный штамм хорошо усваивает глюкозу, сахарозу, мальтозу и рафинозу, плохо - сорбит, манит и дульцит.

Пример. Гриб-продуцент коевой кислоты штамм H-252 выращивают на скошенном агаре Чапека в бактериологических пробирках при 30°C в течение 5-6 суток. Затем за сутки до планируемой даты заражения грибом-продуцентом среды Чапека-Докса с повышенным содержанием глюкозы и стерилизуют 40 мин. текучим паром. После стерилизации проводят заражение питательной среды конидиями гриба-продуцента (из расчета 1 пробирка культуры на 6-8 матрасов с питательной средой. Матрасы с культурой гриба на жидкой питательной среде инкубируют в термостате при 30°C в течение 10-12 суток. После инкубирования гриба-продуцента культуральную жидкость отделяют от мицелия путем фильтрации через бумажный фильтр. Один литр культуральной жидкости выпаривают на ротационном испарителе под вакуумом при температуре не выше 50°C до получения объема 200-300 см³ и помещают в холодильник на 2-3 дня при температуре 0°C. По мере охлаждения культуральной жидкости происходит осаждение микотоксина. Полученный осадок отфильтровывают и высушивают под частым вакуумом и проводят перекристаллизацию полученного препарата. Полученные кристаллы высушивают в начале под вакуумом, а затем в эксикаторе над безводным хлористым кальцием. Из одного литра культуральной жидкости получается свыше 3 г кислоты коевой.