

Изобретение относится к микробиологической промышленности и касается получения нового штамма микромицета, который может быть использован для получения микотоксина охратоксина, необходимого как стандарта-свидетеля при определении содержания микотоксина методом тонкослойной, газожидкостной хроматографии и др. в кормах, пищевых продуктах, органах и тканях животных и биологических жидкостях в культурах грибов с целью диагностики и профилактики микотоксической нефропатии сельскохозяйственных животных.

Известно использование штамма *A.ochraceus* методом культивирования на твердой рисовой питательной среде с добавлением 2% дрожжевого экстракта и 1% фенилаланина. Однако, этот штамм не обладает высокой токсинообразующей активностью, при этом количество образуемого охратоксина А составляет 385-608 мг/кг.

Задача изобретения - получение нового штамма микромицета, обладающего повышенной продуктивностью микотоксина охратоксина А. Для решения этой задачи предлагается штамм гриба *Aspergillus ochraceus* 740, депонирован в коллекции грибов ВНИИ антибиотиков Минмедпрома СССР под номером 337А. Штамм выделен из корма используемого для животных. Видовая принадлежность определена по классификации Билай В.И., Коваль Э.М. Полученный штамм *Aspergillus ochraceus* Welhelm 740 имеет следующие морфологическую и физиологическую характеристики:

На агаре Чапека колонии растут медленно и ограничено, 3,0-4,5см в диам., плоские, более или менее зональные. Базальный мицелий жесткий, погруженный, но в центре колонии приподнимающийся, пепельно-желто-оранжевый. Конидиальные головки при формировании шаровидные, но при старении распадаются на две-три компактные колонии, 750-800 мкм в диам., светло-охристо-коричневые, темно-желтые, желто-коричневые. Конидиеносцы 1-1,5мм дл., 10-14 мкм толщ., окрашенные в тускло-желтый бледно-коричневый цвет, с толстой до 2 мкм грубошероховатой оболочкой; апикальное расширение шаровидное, с тонкой оболочкой, бесцветное, обычно 30-50 мкм в диам. Стеригмы двухъярусные: базальные - обычно 15-20 x 5-6, иногда до 2,5 мкм, другого яруса - 7-11 x 2-3,2 мкм, плотно покрывающие апикальную часть. Конидии более или менее шаровидные, 2,5-3 мкм, мелкошероховатые, иногда кажутся гладкими. Склериции сначала белые до бледно-розовых, потом лавандовые до винно-пурпурного цвета при созревании, шаровидные до 1мм в диам., одиночные, группами, сливаются участками в сплошную массу, придавая колонии характерный вид. Реверзум желтый, зеленовато-коричневый. Экссудат бесцветный, прозрачный в небольшом количестве. Запах слабый, грибной.

Хорошо растет на агаре Чапека и сусло агаре, естественных зерновых субстратах - пшенице, ржи, овсе, ячмене, кукурузе и др. На жидкой среде Чапека.

Оптимальный рост гриба продуцента при температуре 30°-31°С, растет и при более высоких 42°С и низких температурах до 10°С. В качестве источников углерода хорошо усваивает глюкозу и сахарозу.

Пример. Культивирование гриба с целью накопления охратоксина А.

В матрацы емкостью 1000 см³ помещают по 100 г пшеницы, добавляют 80 см³ водопроводной воды, закрывают ватно-марлевой пробкой, обвязывают пергаментной бумагой и стерилизуют в автоклаве при 1 атм. 1 час. В качестве инокулюма используют 7-ми суточную культуру гриба *Aspergillus ochraceus*, штамм 740, выращенного при 30°С на агаре Чапека. Затем добавляют в пробирку 5 см стерильной водопроводной воды и пипеткой соскабливают мицелий с поверхности культуры, при этом тщательно перемешивая с водой элементы гриба. Полученную водную взвесь вносят в матрац со стерильной пшеницей, тщательно встряхивают и помещают в термостат при 30°С на 15 суток. По окончании культивирования нативную культуру обеззараживают автоклавированием в течение 20 мин при 0,5 атм.

Содержание охратоксина А в нативной культуре определяют согласно "Методическим рекомендациям по определению охратоксина А и стеригматоцистина в зернофураже, продуктах его переработки и комбикормах" (Н.В.Волков, 1984). В пятнадцатисуточной культуре продуцент образует охратоксин А в количестве 1,5-2,1 г/кг.