

Изобретение относится к микробиологической промышленности и касается получения нового штамма микромицета, который может быть использован для получения микотоксина стеригматоцистина, необходимого как стандарта-свидетеля при микотоксикологических исследованиях кормов, пищевых продуктов, культур микромицетов с целью диагностики и профилактики микотоксического гепатита вызванного стеригматоцистином у сельскохозяйственных животных и птицы.

Известно использование штамма *Aspergillus nidulans* для накопления стеригматоцистина с использованием зерновых субстратов путем добавления различных добавок. Однако этот штамм обладает невысоким урожаем накапливать микотоксин в зерновых субстратах с применением добавок в концентрации от 0,7 до 1 г/кг.

Задача изобретения - получение нового штамма микромицета, обладающего повышенной продуктивностью стеригматоцистина. Для решения этой задачи предлагается штамм гриба *Aspergillus nidulans* 69, депонирован в коллекции грибов ВНИИ антибиотиков Минмедпрома СССР под номером 336 А.

Штамм выделен из корма для животных. Видовая принадлежность определена по классификации Билай В.И., Коваль Э.М.

Полученный штамм *Aspergillus nidulans* (Eldam) Wint, 69 имеет следующие морфологическую и физиологическую характеристики.

На агаре Чапека колонии быстрорастущие, на 9-10 сутки достигают 50-60мм в диам., распростерты, с тонким неровным краем, темно-салатно-зеленые. Конидиальные головки короткие, колонковидные, 60-70 x 30-35 мкм. Конидиеносцы изогнутые, с гладкой оболочкой, светло-коричневые, 75-100 мкм вые, 2,5-3 мкм толщ, у основания и расширяющиеся к вершине до 3,5-5 мкм апикальное расширение шаровидное, 8-10 мкм в диам. Стеригмы двухъярусные, базальные - 5-6 x 2-3 мкм, второго яруса - 5-6x2-2,5 мкм. Конидии шаровидные, 3-3,5 мкм в диам., в массе зеленоватые, слабоморщинистые. Реверзум и окружающая среда пурпурно-красных оттенков, с возрастом более темные.

Оптимальная температура роста штамма 30°C, растет и при более высоких 42°C и низких до 4°C. Оптимальная температура токсинообразования 28-30°C.

На естественных зерновых субстратах - пшенице, рисе, кукурузе, овсе, ячмене, ржи стеригматоцистиногенный штамм хорошо растет и продуцирует микотоксин, значительно хуже происходит накопление стеригматоцистина на жидких питательных средах Чапека, Чапека-Докса.

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

Пример 1. Гриб-продуцент стеригматоцистина *Aspergillus nidulans*, штамм 69, выращивают на скошенном агаре Чапека в бактериологических пробирках при 30°C в течение 10-14 суток. Затем за сутки до планируемой даты заражения грибом-продуцентом зерновой субстрат - шлифованный рис помещают в матрасы емкостью 1000 см<sup>3</sup>, добавляют 80° см<sup>3</sup> стерильной водопроводной воды, закрывают ватно-марлевой пробкой, обвязывают пергаментной бумагой и стерилизуют в автоклаве при 1 атм 1 час. После стерилизации проводят заражение рисового субстрата. В качестве инокулята используют 10-14-ти суточную культуру *Aspergillus nidulans*, штамм 69. На один матрац с субстратом используют одну пробирку с культурой. В пробирку с культурой добавляют 5 см<sup>3</sup> стерильной водопроводной воды и пипеткой соскабливают мицелий с поверхности культуры при этом тщательно перемешивают с водой элементы гриба. Полученную водную взвесь вносят в матрац со стерильным рисом, тщательно встряхивают и помещают в термостат при 30°C в течение 14 суток,

Содержание стеригматоцистина определяют согласно "Методики определения стеригматоцистина в зернофураже, продуктах его переработки и комбикормах", утвержденной Главным управлением ветеринарии Минсельхоза СССР 11 апреля 1964 года. Из одного килограмма рисового субстрата после указанного выше токсинообразования образовался стеригматоцистин в количестве выше 2 г/кг (2-2,5 г/кг).

Пример 2. Содержание стеригматоцистина определяли по кристаллическому выходу препарата. После биосинтеза гриба-продуцента на зерновом субстрате, извлечению стеригматоцистина из нативной культуры производили трехкратной экстракцией хлороформом с последующим концентрированием. Выделение токсина из экстракта включало очистку путем жидкость-жидкостного распределения в системе ацетонитрил-гексан с последующей переэкстракцией токсина в хлороформ, обезвоживанию, упариванию, осаждению на минимальный объем силикагеля и хроматографию на колонке. В качестве неподвижной фазы был избран силикагель марки Л 100/400 мкм, а в качестве подвижной - гексан-этилацетат (4:1) со скоростью элирования 5-6 см<sup>3</sup> в мин. Содержание стеригматоцистин фракции объединяли и проводили кристаллизацию микотоксина при комнатной температуре. Кристаллы промывали охлажденной системой гексан-этилацетат и выдерживали в эксикаторе над безводным хлористым кальцием в течение двух суток в темноте. Выход при этом стеригматоцистина составил 2,3 г/кг субстрата.