

1. Пирог Т.П., Волошина И.Н., Иенатенко С.В., Вильданова-Марцишин Р.И. Некоторые закономерности синтеза поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гексадекане // Биотехнология. – 2005. – № 6. – С. 27–36.
2. Anthony C., Zatman L.J. The microbial oxidation of methanol. Purification and properties of the alcohol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. M27 // Biochem. J. – 1967. – **104**. – P. 953–955.
3. Beardmore-Gray M., Anthony C. The absence of quinoprotein alcohol dehydrogenase in *Acinetobacter calcoaceticus* // J. Gen. Microbiol. – 1983. – **129**, N 10. – P. 2979–2983.
4. Bradford M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – **72**. – P. 248–254.
5. de Carvalho C., da Fonseca M. The remarkable *Rhodococcus erythropolis* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2005. – **67**. – P. 715–726.
6. Liu L., Schmid R.D., Urlacher V.B. Cloning, expression and characterization of self-sufficient cytochrome P450 monooxygenase from *Rhodococcus ruber* DSM 44319 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – **72**. – P. 876–882.
7. Nagashima H., Inoue J., Sasaki E., Yamamoto S., Sasaki Y., Yamauchi-Inomata Y., Harayama S. Long-chain n-alcohol dehydrogenase from *Pseudomonas putida* // J. Ferment. Bioeng. – 1996. – **82**. – P. 328–333.
8. Reid M.F., Fewson C.A. Molecular characterization of microbial alcohol dehydrogenases // Crit. Rev. Microbiol. – 1994. – **20**. – P. 13–56.
9. Schenkels P., Duine J.A. Nicotinoprotein (NADH-containing) alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* DSM 1069: an efficient catalyst for coenzyme-independent oxidation of broad spectrum of alcohols and interconversion of alcohols and aldehydes // Microbiology. – 2000. – **146**. – P. 775–785.
10. Singer M.E., Finnerty W.R. Alcohol dehydrogenase in *Acinetobacter* sp. strain HO1-N: role in hexadecane and hexadecanol metabolism // J. Bacteriol. – 1985. – **164**. – P. 1017–1024.
11. Staijen I.E., Witholt B. Synthesis of alkane hydroxylase of *Pseudomonas oleovorans* increases the iron requirement of *alk+* bacterial strains // Biotech. Bioeng. – 1998. – **57**, N 2. – P. 228–237.
12. van Beilen J.B., Eggink G., Enequist H., Bos R., Witholt B. DNA sequence determination and functional characterization of the OCT-plasmid-encoded *alkJKL* genes of *Pseudomonas oleovorans* // Mol. Microbiol. – 1992. – **6**, N 21. – P. 3121–3136.
13. van Beilen J.B., Funhoff E.G. Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – **74**. – P. 13–21.
14. Wei Y.H., Chu I.M. Enhancement of surfactin production in iron-enriched media by *Bacillus subtilis* ATCC 21322 // Enzyme Microb. Technol. – 1998. – **22**. – P. 724–728.

Отримано 03.03.2008

УДК 615.015.21 + 665.7.035.7

О.В. Труфанов

Інститут птахівництва Української академії аграрних наук
вул. Леніна, 20, с. Бірки, Зміївський р-н, Харківська обл., Україна

ВПЛИВ НАФТАЛІНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ НА ЧУТЛИВІСТЬ *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS* 44ПК ДО ТРИХОТЕЦЕНОВИХ МІКОТОКСИНІВ

Наявність у зерні та зернових продуктах Т-2 токсину та НТ-2 токсину визначають біоавтографічним методом або диск-дифузійним методом із використанням *Candida pseudotropicalis* 44 пк. З метою підвищення чутливості методу до складу поживного середовища для *C. pseudotropicalis* 44 пк вносили Т-2 токсин, нафталін, 1-нафтол, 2-нафтол, 1-нафтилацетат, 2-нафтилацетат, 1-нафтиламін і 1-нітрозо-2-нафтол. Додавання будь-якої з досліджених сполук, за винятком Т-2 токсину, призводило до потенціації токсичної дії Т-2 токсину та НТ-2 токсину. Внесення у середовище 1-нафтилацетату у концентрації 0,16 мг/мл дало змогу підвищити чутливість біоавтографічного методу в 5 разів до Т-2 токсину та у 10 разів до НТ-2 токсину. Модифікований біоавтографічний метод дозволяє виявити від 10 нг Т-2 токсину та від 100 нг НТ-2 токсину. Синергізм трихотеценових мікотоксинів та похідних нафталіну підвищує ризик виникнення негативних ефектів при одночасній дії цих сполук на живі організми.

Ключові слова: *Candida pseudotropicalis* 44 пк, біоавтографія, Т-2 токсин, НТ-2 токсин, нафталін, 1-нафтилацетат, синергізм.

Методи токсикологічного аналізу, що базуються на використанні чутливих організмів, є незамінним інструментом контролю якості зерна і зернових продуктів. Під токсичністю речовини розуміють ступінь її несумісності з життям. На відміну від фізико-хімічних

© О.В. Труфанов, 2009

та імунологічних методів аналізу, які використовуються для дослідження відповідних характеристик речовин, біопробі дозволяють виявляти саме токсичність. Найбільш істотним недоліком, що часто є причиною звуження області застосування біологічних тестів, є відносно низька, порівняно з фізико-хімічними й імунологічними методами, чутливість [20]. Тому важливим етапом у розробці біологічних методів є пошук і селекція організмів, чутливих до даної групи токсичних речовин. Підвищити чутливість тест-організмів можна шляхом зміни умов культивування, що призводить до зниження їх стійкості до токсинів. У ряді випадків цього можна досягти внесенням у поживне середовище додаткового токсичного фактору. Наприклад, органічні розчинники (ацетонітрил, диметилсульфоксид, етанол, метанол, ізопропанол) підвищують чутливість *Vibrio harveyi* до кадмію, ртуті і цинку [22], додавання до інкубаційного середовища сульфатів вважають перспективним методом підвищення чутливості ціанобактерій до мікроцистину-LR [26], а 100-кратне підвищення чутливості *Clostridium butyricum* до метронідазолу викликається включенням до складу середовища цієї самої речовини [19].

Ключова роль у забрудненні зернових продуктів належить мікотоксинам [11, 13]. В Україні значно поширені трихотеченові мікотоксини (ТТМТ) типу А – Т-2 токсин і НТ-2 токсин [7, 8]. Мікроорганізми, що використовуються як лабораторні тест-об'єкти в біологічних методах аналізу, відрізняються за чутливістю до цих мікотоксинів, межі якої варіюють від 10 нг/мл для *Kluyveromyces marxianus* [15] до 1 мг/мл для *Chlorella pyrenoidosa* [18]. Штами дріжджів, яким властива висока чутливість, знайшли широке застосування при створенні практичних біологічних методів детекції трихотеченових мікотоксинів [13, 15]. В Україні затверджено біоавтографічний метод визначення 12,13-трихотеченових мікотоксинів типу А, який базується на застосуванні у ролі тест-організму чутливого штаму *S. pseudotropicalis* 44 пк [5]. Метод дозволяє виявляти від 50 нг Т-2 токсину на пластинці для тонкошарової хроматографії, що відповідає 20–40 мкг/кг зерна або комбікорму, але характеризується досить низькою чутливістю до НТ-2 токсину – 1000 нг і вище (400–800 мкг/кг).

Чутливість дріжджів до трихотеченових мікотоксинів залежить від таких умов середовища, як температура, тип і концентрація джерела вуглецю, наявність кисню, початкова концентрація клітин у посівному матеріалі тощо [24, 25]. Здається цікавим вивчення ефекту наявності додаткових токсичних речовин у складі середовища для росту дріжджів при ідентифікації ТТМТ.

У даній роботі досліджували вплив Т-2 токсину, нафталіну та деяких його похідних (1-нафтолу, 2-нафтолу, 1-нафтилацетату, 2-нафтилацетату, 1-нафтиламіну і 1-нітрозо-2-нафтолу) на чутливість *S. pseudotropicalis* 44 пк до Т-2 токсину і НТ-2 токсину.

Матеріали і методи. *Мікроорганізми.* Штам *Fusarium sporotrichioides* 2m-15, депонований у колекції культур мікроорганізмів Науково-дослідного інституту антибіотиків (м. Москва, вул. Нагатинська, 3-а). Штам *S. pseudotropicalis* 44 пк, депонований у колекції дріжджеподібних організмів Кіровоградського відділення Інституту експериментальної та клінічної ветеринарної медицини (м. Кіровоград, 316004, вул. Карла Лібкнехта, 92-а).

Одержання мікотоксинів. Т-2 токсин одержували з екстракту вирощеної на зерні культури *F. sporotrichioides* 2m-15 методом адсорбційної колонкової хроматографії [3]. НТ-2 токсин одержували методом лужного гідролізу Т-2 токсину шляхом змішування метанольного розчину Т-2 токсину з водним розчином аміаку [4]. Утворення продуктів реакції контролювали методом тонкошарової хроматографії у системі етилацетат/ацетон (4:1, об/об). З реакційної суміші НТ-2 токсин екстрагували хлороформом і очищали за методом розподільної колонкової хроматографії на оксиді алюмінію.

Приготування поживного середовища. Контрольне поживне середовище містило 1,5 % сухого агару і 50 % ячмінного суслу; сусло отримували з ячмінного солоду, як описано раніше [1]. З метою підвищення чутливості методу до поживного середовища вносили розчини Т-2 токсину, нафталіну, 1-нафтолу, 2-нафтолу, 1-нафтилацетату, 2-нафтилацетату, 1-нафтиламіну або 1-нітрозо-2-нафтолу в етанолі або ацетоні. 1-нафтилацетат та 2-нафтилацетат одержували шляхом ацетилювання 1-нафтолу та 2-нафтолу оцтовим ангідридом у лужному середовищі й очищали дворазовою перекристалізацією з етанолу та фільтрацією.

Аналіз мікотоксинів диск-дифузійним методом. На диски з фільтрувального паперу діаметром 5 мм наносили по 20–600 нг Т-2 токсину. Диски розміщали на поживному середовищі у чашках Петрі, засіяному культурою *C. pseudotropicalis* 44 пк та інкубували при температурі 32°C впродовж 17–24 год.

Біоавтографічне визначення мікотоксинів. Як вихідний метод використовували біоавтографічний метод визначення трихотеценових мікотоксинів [5]. Розчини зразків мікотоксинів наносили на хроматографічні пластинки «Сорбфіл» (РФ), хроматографували у системі розчинників етилацетат/толуол (3:1, об/об), висушували і покривали шаром поживного середовища. Пластинки з застиглим середовищем засівали культурою дріжджів *C. pseudotropicalis* 44 пк та інкубували у вологій камері протягом 20 годин при температурі 32°C, після чого реєстрували зони пригнічення росту. Статистичну обробку результатів проводили методом регресійного аналізу [9].

Результати та їх обговорення. Раніше було встановлено, що при концентрації Т-2 токсину 0,4 мкг/мл і вище ріст *C. pseudotropicalis* 44 пк повністю пригнічується [6], тому Т-2 токсин вносили у поживне середовище у концентраціях від 0,05 до 0,3 мкг/мл. Значимих змін діаметрів зон пригнічення росту дріжджів на пластинках при цьому не відбувалося (рис. 1). Таким чином, Т-2 токсин не властива адитивність при комбінованій дії, тобто відсутній ефект сумачії дії Т-2 токсину, нанесеного на хроматографічну пластинку, та внесеного до поживного середовища.

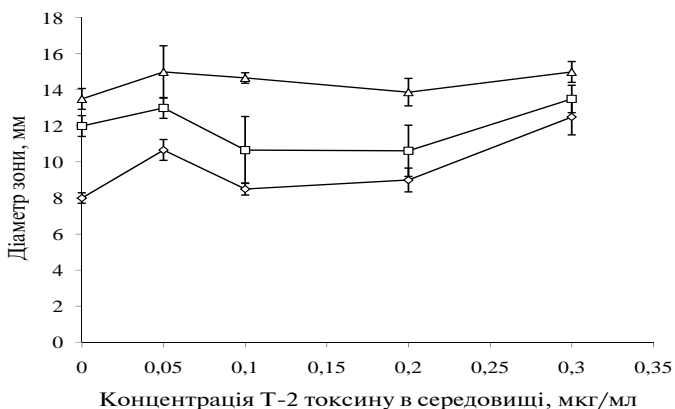


Рис. 1. Залежність діаметрів зон пригнічення росту *C. pseudotropicalis* 44 пк від маси Т-2 токсину за наявності у середовищі Т-2 токсину у різних концентраціях: ◇ – 40 нг; □ – 60 нг; △ – 80 нг

Нафталін і його похідні виявили різну токсичність для *C. pseudotropicalis* 44 пк. У порядку зростання здатності пригнічувати ріст культури дріжджів у чашках Петрі ці речовини можна розташувати в такій послідовності: нафталін < 1-нафтилацетат < 1-нафтиламін ≤ 2-нафтилацетат ≤ 2-нафтол ≤ 1-нафтол < 1-нітрозо-2-нафтол (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив нафталіну і деяких його похідних (мг/мл) на ріст дріжджів *C. pseudotropicalis* 44 пк на суслі-агарі в чашках Петрі

Концентрація, мг/мл	Речовина						
	Нафталін	1-нафтилацетат	2-нафтилацетат	1-нафтиламін	1-нафтол	2-нафтол	1-нітрозо-2-нафтол
1	2	3	4	5	6	7	8
К	+	+	+	+	+	+	+
0,01	+	+	+	+	+	+	+
0,02	+	+	+	+	+	+	—
0,03	+	+	+	+	+	+	—
0,05	+	+	+	+	+	+	—

Закінчення табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
0,07	+	+	+	+	+	+	—
0,1	+	+	+	+	—	—	—
0,15	+	+	+	+	—	—	—
0,2	+	+	—	—	—	—	—
0,3	+	—	—	—	—	—	—
0,4	+	—	—	—	—	—	—
0,5	+	—	—	—	—	—	—
0,6	—	—	—	—	—	—	—

Примітка: «+» – ріст спостерігається; «—» – ріст відсутній.

Загальновідомо, що токсичність речовини залежить від її здатності вступати в хімічні реакції, накопичуватися в організмі та від механізму токсичної дії. При дослідженні впливу нафталіну та десяти його похідних на *Coptotermes formosanus* було показано, що токсичність цих сполук залежить від наявності та хімічної природи додаткових функціональних груп [17]. У клітині під дією монооксигеназ відбувається біоактивація нафталіну – утворюється епоксид, який є нестабільною сполукою, внаслідок чого активно взаємодіє з біомолекулами або перетворюється в нафтол [10]. Відомо, що епоксиди нафталіну та нафтоли більш реакційно активні, ніж нафталін. Ці сполуки утворюють кон'югати з молекулами нуклеїнових кислот та білків. Токсичність 1-нафтилацетату для *C. pseudotropicalis* 44 пк виявилась нижчою, ніж у нафтолів, що можна пояснити екрануванням атому кисню залишком оцтової кислоти, але вищою, ніж у нафталіну, ймовірно, через більш високу швидкість реакції гідролізу 1-нафтилацетату, порівняно з окисленням нафталіну.

Токсичність сполук нафталінового ряду для *C. pseudotropicalis* 44 пк при культивуванні на пластинках була майже аналогічною токсичності при вирощуванні в чашках Петрі, за винятком нафталіну; інтенсивний ріст дріжджів спостерігався навіть при початковій концентрації цієї сполуки в середовищі 1 мг/мл. Ймовірною причиною зниження токсичності середовища з нафталіном на пластинках є його висока летучість, унаслідок чого концентрація цієї речовини в середовищі знижується, що в чашках Петрі відбувається меншою мірою. Нестабільність концентрації нафталіну в поживному середовищі робить його непридатним для підвищення чутливості біоавтографічного методу визначення трихотеценових мікотоксинів.

Для оцінки впливу нафталіну, 1-нафтилацетату, 2-нафтилацетату, 1-нафтиламіну, 1-нафтолу, 2-нафтолу та 1-нітросо-2-нафтолу на чутливість *C. pseudotropicalis* 44 пк до ТТМТ, ці речовини додавали до складу поживного середовища в різних концентраціях (табл. 2). Т-2 токсин наносили на паперові диски у кількості 20–160 нг. Наявність у складі поживного середовища як нафталіну, так і його похідних, викликала збільшення діаметра зон відсутності росту дріжджів, порівняно з контрольним середовищем.

Таблиця 2

Вплив нафталіну та деяких його похідних на пригнічення росту дріжджів Т-2 токсином

Речовина	Концентрація, мг/мл	Т-2 токсин, нг/диск			
		20	40	80	160
		Діаметр зони, мм			
1	2	3	4	5	6
Нафталін	0,1	0	0	10	12
	0,2	0	0	11	14
	0,3	0	10	12	15
	0,4	0	12	13	16

Закінчення табл. 2

1	2	3	4	5	6
1-нафтилацетат	0,08	<7	12	15	20
	0,10	10	12	16	23
	0,12	11	12	15	23
	0,14	10	15	19	22
	0,16	10	15	20	25
2-нафтилацетат	0,08	0	14	17	20
	0,10	11	16	15	23
	0,12	9	12	15	23
	0,14	12	19	22	26
1-нафтиламін	0,05	0	<7	13	17
	0,075	0	10	11	17
	0,100	0	13	15	18
	0,125	0	10	15	18
	0,150	9	11	16	19
1-нафтол	0,025	0	<7	10	15
	0,050	<7	8	9	13
	0,075	0	0	<7	13
2-нафтол	0,025	<7	8	10	16
	0,050	7	8	13	17
	0,075	0	0	14	19
1-нітросо-2-нафтол	0,002	0	0	11	14
	0,004	0	0	0	<7
	0,006	0	0	0	12
	0,008	0	0	0	0
	0,010	0	0	0	11
Контрольне середовище		0	0	<7	10

Дані щодо впливу 1-нафтилацетату, 1-нафтиламіну, 1-нафтолу, 2-нафтолу і 1-нітросо-2-нафтолу на чутливість дріжджів до Т-2 токсину та НТ-2 токсину при постановці біоавтографічного методу подані на рис. 2 у вигляді ліній регресії, які виражають залежність діаметрів зон пригнічення росту від кількостей Т-2 і НТ-2 токсинів. Найбільш ефективним для підвищення чутливості дріжджів до цих мікотоксинів виявився 1-нафтилацетат у концентрації 0,16 мг/мл. Менш ефективними виявилися 2-нафтол (0,05 мг/мл), 1-нафтиламін (0,15 мг/мл) та 1-нафтол (0,05 мг/мл); додавання цих речовин до складу середовища призводило до зменшення кількостей як Т-2 токсину, так і НТ-2 токсину, необхідних для прояву ефекту пригнічення росту тест-мікроорганізму.

Включення до складу середовища 1-нітросо-2-нафтола в концентрації 0,01 мг/мл не призводило до затримки росту *C. pseudotropicalis* 44 пк у вигляді чітких зон навколо дисків з Т-2 токсином, що перешкоджає застосуванню 1-нітросо-2-нафтолу в біоавтографічному методі.

Таким чином, виявлено ефект синергізму токсичної дії ТТМТ типу А та похідних нафталінового ряду на дріжджі *C. pseudotropicalis* 44 пк, який виражається у збільшенні діаметру зон пригнічення росту. Додаванням до складу поживного середовища 1-нафтилацетату підвищує чутливість біоавтографічного методу до Т-2 токсину у 5 та до НТ-2 токсину у 10 разів (рис. 2).

Синергічний ефект, що виникає внаслідок комбінованої дії трихотеценових мікотоксинів та похідних нафталіну, привертає увагу та потребує детальнішого вивчення з огляду на можливість одночасної контамінації цими сполуками харчових продуктів і кормів. Нафталін та похідні сполуки відносяться до групи поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПЦАВ), які являються небезпечними антропогенними факторами забруд-

нення навколишнього середовища [21]. Джерелом забруднення навколишнього середовища ПЦАВ можуть бути відходи нафтодобувної та нафтопереробної промисловості, що актуально і для України [2], а також креозот, вихлопні газы автомобілів, сигаретний дим тощо [16]. Забруднення ПЦАВ актуальне як для наземних, так і для водних екосистем. Ці речовини характеризуються високою біоаккумуляційною спроможністю через низьку розчинність у воді та низьку летючість. Сполуки нафталінового ряду, які тим чи іншим шляхом потрапляють до водоймищ, у тому числі до світового океану, здатні накопичуватися у м'язах та внутрішніх органах (наприклад, печінці) промислових видів риби, а також у морепродуктах [14]. Концентрація ПЦАВ у морепродуктах та рибі іноді на декілька порядків перевищує водорозчинність цих сполук і варіює від 100 мкг/кг у віддалених та глибоководних районах світового океану до 100 000 мкг/кг в урбанізованих естуаріях річок [23]. Якщо концентрація забруднювачів нафтового походження у рибі чи морепродуктах не перевищує максимально допустиму, то вони використовуються для виготовлення харчових продуктів або кормів. У той же час, у раціоні людини та сільськогосподарських тварин можуть бути наявні зернові продукти чи корми, що містять Т-2 токсин або НТ-2 токсин у допустимих межах. Синергізм (або потенціація) – це ефект одночасного діяння на організм декількох сполук, що перевищує суму ефектів ізольованого діяння тих самих сполук за тих самих умов. За наявності в раціоні людини та тварин ТТМТ типу А та водночас похідних нафталінового ряду у кількостях, при яких не перевищується допустиме добове надходження, існує ймовірність порушення нормального фізіологічного стану організму.

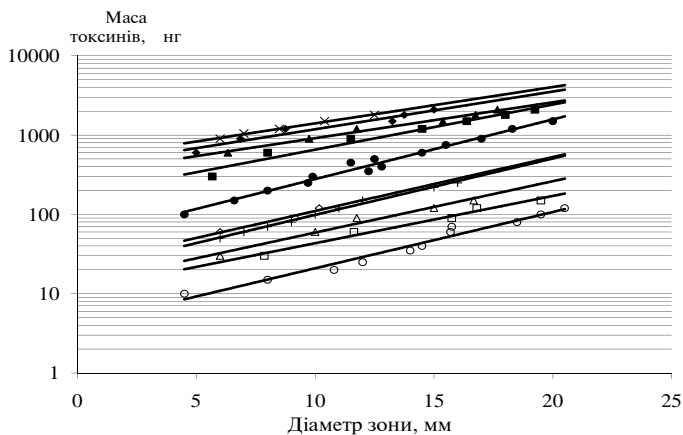


Рис. 2. Залежність діаметрів зон пригнічення росту *C. pseudotropicalis* 44пк від маси Т-2 токсину та НТ-2 токсину за наявності у середовищі нафталіну та його похідних: × – НТ-2 токсин, контроль; ◆ – НТ-2 токсин, 1-нафтол; ▲ – НТ-2 токсин, 1-нафтиламін; ■ – НТ-2 токсин, 2-нафтол; ● – НТ-2 токсин, 1-нафтилацетат; + – Т-2 токсин, контроль; ◇ – Т-2 токсин, 1-нафтол; △ – Т-2 токсин, 1-нафтиламін; □ – Т-2 токсин, 2-нафтол; ○ – Т-2 токсин, 1-нафтилацетат

Таким чином, нафталін, 1-нафтол, 2-нафтол, 1-нафтилацетат, 2-нафтилацетат, 1-нафтиламін і 1-нітросо-2-нафтол підвищують чутливість дріжджів *C. pseudotropicalis* 44 пк до трихотеценових мікотоксинів типу А – Т-2 токсину та НТ-2 токсину. Найбільш вираженим ефектом синергізму з цими мікотоксинами характеризується 1-нафтилацетат, додавання якого до поживного середовища для дріжджів у концентрації 0,16 мг/мл призводить до значного підвищення чутливості біоавтографічного методу визначення Т-2 токсину та НТ-2 токсину. Потенціація токсичної дії трихотеценових мікотоксинів нафталіном та його похідними збільшує ризик виникнення негативних ефектів при одночасному діянні цих сполук на живі організми.

ВЛИЯНИЕ НАФТАЛИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS* 44 ПК К ТРИХОТЕЦЕНОВЫМ МИКОТОКСИНАМ

Резюме

Наличие в зерне и зерновых продуктах Т-2 токсина и НТ-2 токсина определяют биоавтографическим методом или методом бумажных дисков с использованием *Candida pseudotropicalis* 44 ПК. С целью повышения чувствительности метода в состав питательной среды для *C. pseudotropicalis* 44 ПК вносили Т-2 токсин, нафталин, 1-нафтол, 2-нафтол, 1-нафтилацетат, 2-нафтилацетат, 1-нафтиламин и 1-нитрозо-2-нафтол. Добавление любого из исследованных соединений, за исключением Т-2 токсина, приводило к потенциации токсического действия Т-2 токсина и НТ-2 токсина. Внесение в среду 1-нафтилацетата в концентрации 0,16 мг/мл повышает чувствительности биоавтографического метода в 5 раз к Т-2 токсину и в 10 раз к НТ-2 токсину. Модифицированный биоавтографический метод позволяет обнаружить от 10 нг Т-2 токсина и от 100 нг НТ-2 токсина. Синергическое действие трихотеценовых микотоксинов и производных нафталина повышает риск возникновения негативных эффектов при одновременном воздействии этих соединений на живые организмы.

Ключевые слова: *Candida pseudotropicalis* 44 ПК, биоавтография, Т-2 токсин, НТ-2 токсин, нафталин, 1-нафтилацетат, синергизм.

О.В. Труфанов

Poultry Breeding Institute, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

INFLUENCE OF NAPHTHALENE AND ITS DERIVATIVES ON *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS* 44 PK SENSITIVITY TO TRICHOHECENE MYCOTOXINS

Summary

Availability of T-2 toxin and HT-2 toxin in cereals and grain-crops is determined by a bioautography or the method of paper disks using yeast *Candida pseudotropicalis* 44 pk. With the purpose of increasing the method sensitivity the culture medium for *C. pseudotropicalis* 44 pk was enriched by T-2 toxin, naphthalene, 1-naphthol, 2-naphthol, 1-naphthylacetate, 2-naphthylacetate, 1-naphthylamine and 1-nitroso-2-naphthol. The addition of any studied compounds, except for T-2 toxin, resulted in potentiation of toxic effect of T-2 toxin and HT-toxin. Introduction of 1-naphthylacetate in concentration of 0.16 mg/ml in the culture medium resulted in the 5-fold increase of sensitivity of bioautographic method to T-2 toxin and its 10-fold increase to HT-2 toxin. The modified bioautographic method allows determining from 10 ng of T-2 toxin and from 100 ng of HT-2 toxin. Synergic action of trichothecene mycotoxins and naphthalene derivatives enhances the risk of appearing of negative effects at simultaneous influence of these compounds on living organisms.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: *Candida pseudotropicalis* 44 pk, bioautography, T-2 toxin, HT-2 toxin, naphthalene, 1-naphthylacetate, synergism.

The author's address: *Trufanov O.V.*, Poultry Institute, Ukrainian Academy of Agrarian Science; 20 Lenin St., Birky vil., Zmiiv Dist., Kharkiv Region, Ukraine.

1. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. — Москва: Пищевая промышленность. — 1979. — 120 с.
2. Джуря Н.М., Цвілинюк О.М., Трек О.І. Вплив нафтового забруднення на вміст макро- та мікроелементів у рослинах *Carex hirta* L. // Укр. ботан. журн. — 2007. — **64**, № 1. — С. 122–131.
3. Котик А.Н., Чернобай В.Т., Комиссаренко Н.Ф., Труфанова В.А. Выделение микотоксина *Fusarium sporotrichiella* и изучение его физико-химических свойств // Микробиол. журн. — 1979. — **41**. — № 6. — С. 636–639.
4. Котик А.Н. Этиология, методы диагностики и меры профилактики фузариотоксикозов сельскохозяйственных птиц // Автореферат дис. ... д-ра вет. наук. — Харьков, 1993. — С. 1–33.
5. Котик А.М., Труфанова В.О. Методичні вказівки по якісному і кількісному визначенню Т-2 токсину в зерні і комбікормах // Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів (затверджені Головою Державного департаменту ветеринарної медицини Мін. АПК України 6 березня 1998 року). — С. 63–67.
6. Труфанова В.А. Действие фузариотоксина Т-2 на сельскохозяйственную птицу и биоавтографический метод его определения // Автореферат дис. ... канд. биолог. наук. — Москва, 1984. — С. 1–24.

7. Труфанова В.А. Частота контамінації мікотоксинами кормів для птиці // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 9. – С. 26–28.
8. Труфанов О.В. НТ-2 токсин – распространенный фактор загрязнения зерна в Украине // Птахівництво: Міжвід. темат. наук. зб. / ІП УААН. – Харків, 2005. – Вип. 57 – С. 450–454.
9. Урбах В.Ю. Биометрические методы – 2-е изд. – Москва: Наука. – 1964. – 416 с.
10. Baldwin R.M., Shultz M.A., Buckpitt A.R. Bioactivation of the pulmonary toxicants naphthalene and 1-nitronaphthalene by rat CYP2F4 // J. Pharmacol. and Experim. Therapeutics. – 2005. – **312**, N. 2. – P. 857–865.
11. Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins // Clinical microbiology reviews – 2003. – **16**, N. 3. – P. 497–516.
12. Binder J. A yeast bioassay for trichothecenes // Natural Toxins. – 2000. – **7**. – P. 401–406.
13. Cleveland T.E., Dowd P.F., Desjardins A.E., Cotty D. United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service research on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops // Pest. Manag. Sci. – 2003. – **59**. – P. 629–642.
14. Dawe C.J., Stegeman J.J., Farrington J.W., Fouts J.R., Harshbarger J.C., Murchelano R.A., Ozonoff D., Pritchard J.B. Chemically contaminated aquatic food resources and human cancer risk: retrospective // Environmental Health Perspectives. – 1991 – **90**. – P. 149–154.
15. Engler K.H., Coker R.D., Evans I.H. A colorimetric technique for detecting trichothecenes and assessing relative potencies // Applied and Environmental Microbiology – 1999. – **65**. – P. 1854–1857.
16. Gunier R.B., Reynolds P., Hurley S.E., Yerabati S., Hertz A., Strickland P., Horn-Ross P.L. Estimating exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a comparison of survey, biological monitoring, and geographic information system-based methods // Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev. – 2006. – **15**, N. 7. – P. 1376–1381.
17. Ibrahim S., Henderson G., Laine R.A. Structure toxicity relationship of naphthalene and 10 of its derivatives on Formosan subterranean termite (*Isoptera: Rhinotermitidae*) // The 2003 ESA Annual Meeting and Exhibition, 2003.
18. Ikawa M., Carr C., Tatsuno T. Trichothecene structure and toxicity to the green alga *Chlorella pyrenoidosa* // Toxicon. – 1985. – **23**, N. 3. – P. 535–7.
19. Jokipii L., Jokipii A.M. Metronidazole bioassay with increased sensitivity // Medical Microbiology and Immunology. – 1979. – **167**, N. 1. – P. 61–70.
20. Koch P. State of art of trichothecenes analysis // Toxicology Letters. – 2004. – **153**. – P. 109–112.
21. Maliszewska-Kordybach B. Sources, concentrations, rate and effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the environment. Part A: PAHs in air // Polish Journal of Environmental Studies – 1999. – **8**, N. 3. – P. 131–136.
22. Mariscal A., Peinado M.T., Carnaro-Varo M., Fernandez-Crehuet J. Influence of organic solvents on the sensitivity of a bioluminescence toxicity test with *Vibrio harveyi* // Chemosphere. – 2003. – **50**, N. 3. – P. 349–354.
23. Motelay-Massei A., Ollivon D., Garban B., Chevreuil M. Atmospheric deposition of toxics onto the Seine Estuary, France: example of polycyclic aromatic hydrocarbons // Atmos. Chem. Phys. Discuss. – 2002. – N. 2. – P. 1351–1369.
24. Schappert K.T., Khachatourians G.G. Effects of fusariotoxin T-2 on *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis* // Applied and Environmental Microbiology. – 1983. – **45**, N. 3. – P. 862–867.
25. Sukroongreung S., Schappert K.T., Khachatourians G.G. Survey of sensitivity of twelve yeast genera toward T-2 toxin // Applied and Environmental Microbiology. – 1984. – **48**, N. 2. – P. 416–419.
26. Tarczyska M., Nalecz-Jawecki G., Romanowska-Duda Z., Sawicki J., Beattie K., Codd G., Zalewski M. Test for the toxicity assessment of cyanobacterial bloom samples // Environmental Toxicology. – 2001. – **16**, N. 5. – P. 383–390.

Отримано 13.02.2008

УДК 579.69: 620.193.8

В.В. Занина, Ж.П. Коптева, Ю.М. Юмына, А.Н. Остапчук

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, ДО3680, Украина

МОНОСАХАРИДНЫЙ СОСТАВ ЭКЗОПОЛИМЕРНОГО КОМПЛЕКСА БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ ЗАЩИТНЫХ ПОКРЫТИЙ

Изучен моносахаридный состав экзополимерного комплекса (ЭПК) бактерий-деструкторов защитных покрытий Pseudomonas sp. T/2, Pseudomonas sp. 109, Arthrobacter sp. 102. Установлено, что моносахаридный состав экзополимерного комплекса бактерий различен и зависит от модели роста бактерий. Он представлен в основном пентозами и гексозами. Доминирующими моносахаридами

© В.В. Занина, Ж.П. Коптева, Ю.М. Юмына, А.Н. Остапчук, 2009