

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**



ОСТРОВСЬКИЙ ДЕНИС МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 614.3:633.11]:579.64:582.28:636.086/.09(043.3)

**САНІТАРНО-ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ПТИЦІ
ЗЕРНА ПШЕНИЦІ КОНТАМІНОВАНОГО ТОКСИГЕННИМИ
МІКРОМІЦЕТАМИ**

16.00.06 «Гігієна тварин та ветеринарна санітарія»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2023

Дисертація є кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Роботу виконано у Білоцерківському національному аграрному університеті
Міністерства освіти і науки України

Наукові керівники: доктор ветеринарних наук, професор
РУХЛЯДА Валентин Васильович

доктор ветеринарних наук, професор
КОРНІЄНКО Леонід Євгенович,
Державний науково-дослідний інститут
з лабораторної діагностики та ветсанекспертизи,
головний науковий співробітник
науково-дослідного епізоотологічного відділу

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
ЯКУБЧАК Ольга Миколаївна,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
професор кафедри ветеринарної гігієни
імені професора А. К. Скороходька

кандидат ветеринарних наук, доцент
ДАНКОВИЧ Роман Степанович,
Львівський національний університет
ветеринарної медицини та біотехнології
імені С. З. Гжицького,
доцент кафедри нормальної та патологічної
морфології і судової ветеринарії

Захист відбудеться «11» жовтня 2023 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.12 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 301

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розіслано «08» вересня 2023 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



В. М. Михальська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Пшениця – одна з найважливіших харчових і кормових зернових культур, тому від її якості та безпечності залежить споживча цінність, поживність та нешкідливість отриманих з неї харчових продуктів і комбікормів (Бусенко О. Т. та ін. 2005; Schmidt M. et al. 2016; Iwaniuk P. et al. 2021).

Із зерна пшениці виготовляють такі харчові продукти як хлібобулочні та макаронні вироби, дитяче харчування тощо, а також різноманітні корми для годівлі тварин, оскільки в пшениці містяться цінні вуглеводи (маноза і рафіноза), які поліпшують засвоєння мінеральних речовин, зокрема, в організмі молодняка тварин (Бусенко О. Т. та ін. 2005; Shude S. et al. 2020).

Якість і безпечність зерна пшениці залежить від погодних та кліматичних умов, зокрема, таких як температура та вологість у період вирощування, дозрівання, збирання та зберігання врожаю. Необхідно зазначити, що безпечність зерна пшениці значною мірою визначається ступенем його ураження мікроскопічними грибами та вмістом мікотоксинів (Newbery F. et al. 2016; Stanciu O. et al. 2015; Agriopoulou S. et al. 2020; Ferrigo D. et al. 2016; Campagnoli A. et al. 2011; Schmidt M. et al. 2016; Bhalerao V. A. et al. 2017; Kochiiaru Y. et al. 2021; Forrer H. R. et al. 2021).

Нині у науковій літературі все більше і частіше публікуються матеріали наукових досліджень випадків отруєнь мікотоксинами людини і тварин або наявності їх у зернових кормах та харчових продуктах. Так, за повідомленнями департаменту харчування та сільського господарства ООН FAO на початку ХХІ століття в 25 % зернових виявлено вміст мікотоксинів, а за сучасними даними окремих науковців 80 % світового врожаю зерна містить мікотоксини (Pohland A. E. et al. 1998; Камінська О. В. та ін. 2020; Мазур В. А. та ін. 2020, Kępińska-Pacelik J., & Biel W. (2021).

Одним із ризиків під час годівлі птиці, а, відповідно, отримання безпечних харчових продуктів птахівництва відіграють фузаріотоксини, серед них важлива роль належить дезоксиніваленолу. Останній викликає у тварин відмову від споживання корму, зниження добових приростів, блювання, порушення обміну речовин, зниження резистентності організму, а у птиці – пригнічення імунітету, зниження продуктивності і шлунково-кишкові розлади (Kumar V. et al. 2008).

Щорічні збитки від ураження культурних рослин мікроскопічними грибами, наявності в зерні мікотоксинів, недоотримання продуктів та загибелі тварин в США складають понад 20 млрд доларів США. Це потенційно призводить до втрати 40 % врожаю, в той час як десять років тому світові втрати врожаю зерна, пов'язані з контамінацією спорами грибів та їх токсинами становили лише 2 млрд доларів США на рік (Tan J. et al. 2020).

Дослідження зернових культур щодо контамінації мікроскопічними грибами та їх мікотоксинами постійно проводяться в багатьох країнах світу. В Україні результати токсикомікологічних досліджень зерна і комбікормів були висвітлені у публікаціях (Рухляда В. В. та ін. 2010; Харченко С. Н. и др.

1982; Котик А. Н. и др. 1997; Малініна О. та ін. 2003; Труфанова В. та ін. 2004; Brezvyun O. et al. 2013; Якубчак О. М. та ін. 2018; Данкович Р. С. 2019), зерна кукурудзи (Білик С. А., 2006), ячменю (Андрійчук А. В., 2007) та вівса (Білан А. В., 2009). Проте систематизованих даних щодо контамінації зерна пшениці мікроміцетами та частоти поширення окремих видів токсигенних грибів у різних регіонах в Україні немає. Це не дозволяє передбачати та прогнозувати можливий вміст мікотоксинів у злакових культур, залежно від температурно-вологісних умов навколишнього середовища окремих кліматичних зон. Тому дослідження, спрямовані на вирішення питання санітарно-гігієнічної оцінки зерна пшениці залежно від регіону України, контамінованого токсигенними мікроміцетами, дозволить систематизувати дані, прогнозувати рівень накопичення окремих мікотоксинів у зерні злакових культур та розробити заходи профілактики мікотоксикозів тварин і людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертацію виконано на кафедрі мікробіології та вірусології й гігієни тварин та основ санітарії Білоцерківського національного аграрного університету за науковою темою «Вивчення ролі мікроскопічних грибів та їх метаболітів у патології сільськогосподарських тварин» (номер державної реєстрації 0107U012292, 2007–2012 рр.)

Мета та завдання дослідження. *Мета роботи* – дати санітарно-гігієнічну оцінку зерна пшениці різних регіонів України на основі дослідження поширення токсигенних мікроміцетів; виявлення активних продуцентів дезоксиніваленолу, дослідження його впливу на організм білих мишей та курчат і розробити способи його детоксикації в організмі птиці.

Для досягнення мети було поставлено наступні завдання:

- проаналізувати кількісний та якісний склад епіфітної і ендоефітної мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в різних регіонах України;
- виявити серед виділених мікроміцетів потенційних продуцентів фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу, а також Т-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізіну В₁ та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот;
- встановити оптимальні температурно-вологісні режими для максимальної продукції мікроміцетами дезоксиніваленолу у зерні пшениці;
- дослідити гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок білих мишей під впливом дезоксиніваленолу;
- проаналізувати біохімічні показники сироватки крові, гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок та визначити ефективність мікосорбу в організмі курчат породи Адлер сріблястий за впливу дезоксиніваленолу;
- визначити вплив дезоксиніваленолу на показники специфічного поствакцинального імунітету до Ньюкаслської хвороби у курчат породи Адлер сріблястий.

Об'єкт дослідження – санітарно-гігієнічна оцінка зерна пшениці, враженого токсигенними мікроміцетами та розроблення способу детоксикації в організмі курчат породи Адлер сріблястий.

Предмет дослідження – мікобіота, мікотоксини, дезоксиніваленол, зерно пшениці, лабораторні миші, курчата.

Методи дослідження: мікологічні щодо визначення кількісного та якісного складу епіфітної та ендоефітної мікобіоти зерна пшениці; мікотоксикологічні вивчення здатності грибів продукувати мікотоксини та шляхи їх детекції; загальні клінічні та біохімічні дослідження активності ферментів загальної лужної фосфатази, кислої фосфатази, кісткового ізоферменту, кишкового ізоферменту, вмісту загального кальцію, іонізованого кальцію, загального магнію, неорганічного фосфору; імунологічні – титри антитіл проти хвороби Ньюкасла на фоні впливу дезоксиніваленолу; патолого-анатомічні та гістологічні зміни в організмі тварин за мікотоксикозів; математично-статистичні методи обробки експериментальними даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше в Україні отримано систематизовані дані щодо поширення ендоефітної та епіфітної мікобіоти зерна пшениці різних кліматичних зон вирощування, досліджено токсигенні властивості виділених грибів родів *Fusarium* та *Aspergillus*, встановлено продуценти фузаріотоксинів, Т-2 токсину і дезоксиніваленолу. Проведено аналіз токсигенності мікроміцетів, що контамінують зерно пшениці різних регіонів України, доведено залежність токсиногенезу від виду і штаму грибів.

Вперше вивчено продукцію дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum* штам 195/1 на 15 різних зернових субстратах, встановлено температурно-вологісні режими його культивування, типи субстрату та тривалість токсиногенезу.

Підтверджено на лабораторних білих мишах, що внутрішньочеревне введення дезоксиніваленолу в дозі 2 мг/голову викликає загибель тварин, яка обумовлена інтоксикацією та патологічними мікроструктурними змінами внутрішніх органів: серця, печінки та нирок.

Розширено інформацію щодо впливу дезоксиніваленолу на метаболічний статус курчат породи Адлер сріблястий, зокрема, на загальну активність лужної фосфатази сироватки крові та її тканинних ізоферментів, а також обмін макроелементів. Пероральне введення дезоксиніваленолу курчатам спричиняє імуносупресію гуморальної ланки імунітету до збудника хвороби Ньюкасла, а також патологічні зміни у серці, печінці та нирках.

Встановлено, що згодовування курчатам кросу Адлер сріблястий Мікосорбу за дезоксиніваленолотоксикозу знижує вираженість змін обміну речовин та мікроструктури внутрішніх органів і попереджує зниження продуктивності птиці.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані систематизовані дані щодо поширення епіфітної та ендоефітної мікобіоти зерна пшениці в різних регіонах України свідчать про контамінацію токсигенними мікроміцетами різних родів. Встановлені температурно-вологісні режими та тривалість токсиногенезу у гриба *Fusarium graminearum* штам 195/1 з урахуванням зернового субстрату дозволяє прогнозувати та враховувати ризики утворення фузаріотоксинів.

Доведено, що за дезоксиніваленолотоксикозу знижується продуктивність курчат породи Адлер сріблястий та ефективність їх імунізації до хвороби Ньюкасла. Для профілактики дезоксиніваленолотоксикозу необхідно застосовувати препарат Мікосорб в дозі 20 г/кг комбікорму, що дозволяє запобігати зниженню продуктивності та виникненню патологічних змін у внутрішніх органах птиці.

Для контролю контамінації зерна пшениці грибами роду *Fusarium* розроблено методику, наведену в Методичних рекомендаціях «Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленол (ДОН)» (затверджено науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25.12.2014 р.). Розроблено також Методичні вказівки по експресному визначенню здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 токсин (зеараленон) (затверджено науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України, протокол № 1 від 23.12.2010 р.).

Наукові розробки призначено для використання в акредитованих випробувальних і калібрувальних лабораторіях.

Отримані результати також будуть корисні для підготовки здобувачів вищої освіти в навчальному процесі під час викладання курсів «Гігієна тварин та ветеринарна санітарія», «Ветеринарна мікробіологія», «Ветеринарна токсикологія» та для слухачів інституту підвищення кваліфікації.

Особистий внесок здобувача полягає в аналізі вітчизняних та іноземних літературних джерел з теми дисертації, розробленні планів та схем експериментальних досліджень, їх організації і виконанні, статистичній обробці одержаних результатів, їх аналізі, узагальненні, формулюванні висновків та практичних рекомендацій.

Видову ідентифікацію мікроміцетів проводили частково у відділі фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України спільно з кандидатом біологічних наук І. М. Курченко та на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету разом з кандидатом ветеринарних наук А. В. Андрійчуком. Біохімічні дослідження сироватки крові птиці проводили спільно з асистентом кафедри терапії та клінічної діагностики Білоцерківського національного аграрного університету, кандидатом ветеринарних наук А. Ю. Мельником, інтерпретацію отриманих результатів проводили за консультаційної допомоги академіка НААН В. І. Левченка. Мікроскопічне дослідження гістопрепаратів проводили на кафедрі ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патологічної анатомії імені Й. С. Загаєвського Білоцерківського національного аграрного університету за консультативної допомоги доцента кафедри, кандидата ветеринарних наук М. В. Утеченка.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації було апробовано та обговорено на: Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів та докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (м. Біла Церква, 2008 р.); VII Державній науково-практичній

конференції «Аграрна наука – виробництву» (м. Біла Церква, 2008 р.); V Всеукраїнській науково-практичній конференції ветеринарних патологів «Сучасні проблеми загальної патології у ветеринарній медицині» (м. Суми, 2009 р.); звітній науково-практичній і навчально-методичній конференції за результатами наукової діяльності вчених факультету ветеринарної медицини Харківської державної зооветеринарної академії за 2008–2009 н. р. «Новітні досягнення та перспективи розвитку ветеринарної медицини» (м. Харків, 2009 р.); Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (м. Біла Церква, 2010 р.); Державній науково-практичній конференції аграрна наука – виробництву «Сучасні проблеми ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2011 р.); Державній науково-практичній конференції аграрна наука – виробництву «Сучасні проблеми ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2012 р.); Державній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Основні напрями забезпечення ветеринарного благополуччя тваринництва» (м. Біла Церква, 2014 р.); щорічній науково-практичній конференції молодих вчених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Еколого-регіональні проблеми ветеринарної медицини в забезпеченні здоров'я тварин» (м. Житомир, 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Епізоотологія, здоров'я та добробут тварин» (м. Київ, 2017 р.); Всеукраїнському науково-практичному семінарі, присвяченому 120-річчю НУБіП України «Лабораторна діагностика: освіта, наука, практика» (м. Київ, 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасний розвиток ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2020 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасний розвиток ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 2022 р.); Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин» (м. Полтава, 2022 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 15 наукових праць, з яких 9 статей у наукових фахових виданнях України, 4 тези наукових доповідей, 2 методичні рекомендації.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з анотації, вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, результатів дослідження та їх обговорення, висновків, практичних рекомендації, списку використаних джерел і додатків. Робота містить 174 сторінки, ілюстрована 14 рисунками і 23 таблицями. Список літератури налічує 182 джерела.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертацію виконано протягом 2006–2023 рр. у науково-дослідній лабораторії кафедри мікробіології та вірусології та кафедри гігієни та основ ветеринарії Білоцерківського національного аграрного університету.

Метою першого етапу досліджень було проаналізувати кількісний та якісний склад епіфітної і ендоефітної мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в різних регіонах України, а також виявити мікроміцетів продуцентів фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу, а також Т-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізину В₁ та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот.

Матеріалом для мікологічних досліджень були 140 проб зерна пшениці, відібраних у 2006, 2007, 2016 та 2017 рр. у трьох фізико-географічних регіонах України в період зберігання. Зерно пшениці з зони Полісся було відібране у Київській та Чернігівській областях. Із Лісостепової зони відбір проводився у Київській, Вінницькій, Хмельницькій та Черкаській областях, а матеріал із Степової зони було використано із Кіровоградської, Миколаївської та Одеської областей. Проби для дослідження відбиралися згідно ГОСТ 13586, 3-83 та ДСТУ 3570–97.

Епіфітну мікофлору визначали методом прямої інокуляції. З метою отримання чистих культур *Aspergillus spp.* і *Penicillium spp.* пересівали у пробірки на скошене середовище Чапека, а *Fusarium spp.* – на сусло-агар за загальноприйнятими методиками. Визначення здатності продукувати трихотеценові мікотоксини у штамів *Fusarium spp.* проводили за допомогою мікробіологічного методу з використанням тест-мікроорганізму *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК (Рухляда та ін. 2009).

Виділені культури *Fusarium* досліджували на здатність продукувати Т-2, F-2 токсини, дезоксиніваленол та моніліформін. Для цього використовували методи експресних визначень здатності грибів *Fusarium* продукувати Т-2 токсин та F-2. Детекцію мікотоксинів проводили методом тонкошарової хроматографії з використанням пластин *Sorbfil* (Рухляда та ін. 2011).

22 штами *Aspergillus flavus* досліджували на здатність продукувати афлатоксини, коєву, аспергілову і пеніцилову кислоти. Для цього штами гриба вирощували на цукрово-дріжджовому середовищі протягом 10 діб за температури 25 °С. Наявність токсинів визначали методом тонкошарової хроматографії.

Метою другого етапу досліджень було встановити оптимальні температурно-вологісні режими для максимальної продукції мікроміцетами дезоксиніваленолу у зерні пшениці. Для цього було використано 15 зернових субстратів: пшениця, рис, кукурудза, ячмінь, овес, жито, просо, пшоно, горох, соя, соняшник, гірчиця, ріпак, гречка та льон. Для вивчення максимальної продукції дезоксиніваленолу вивчали вплив:

- температури субстрату: 4 °С, 17, 24, 28 та 37 °С;
- вологості субстрату: від 14–90 %;
- терміну культивування: 1, 2, 3 та 4 тижні.

Для третього і четвертого етапів досліджень використовували як продуцент дезоксиніваленолу гриб *Fusarium graminearum* штам 195/1, виділений професором В. В. Рухлядою у 1977 р.

Метою третього етапу досліджень було виявити гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок білих мишей під впливом дезоксиніваленолу.

Для цього було використано 10 тварин, яким щоденно вводили токсин в дозах від 0,8 до 2 мг на голову аж до дня їх загибелі. Потім у них відбирали серце, печінку і нирки для гістологічного дослідження.

Метою четвертого етапу досліджень було проаналізувати вплив дезоксиніваленолу на біохімічні показники сироватки крові, гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок, показники специфічного поствакцинального імунітету до Ньюкаслської хвороби та вивчити протективну дію мікосорбу на організм курчат породи Адлер сріблястий.

У **першому досліді** тривалістю 21 добу використано 30 голів 5-тижневих курчат породи Адлер сріблястий, з яких було сформовано три групи по 10 голів у кожній. Курчата першої групи (Т) – отримували дезоксиніваленол у дозі 70 мг/кг маси тіла, другої (Т+М) – дезоксиніваленол у дозі 70 мг/кг маси тіла одночасно з мікосорбом в дозі 20 г/кг корму щодобово, а третя контрольна (К) – утримувалася на основному раціоні. У сироватці крові визначали вміст загального, ультрафільтрованого, іонізованого, нейтрального та білокзв'язаного кальцію – в реакції з гліоксаль-біс-2 оксаліном; неорганічного фосфору – реакцією з аскорбіновою кислотою; активність загальної лужної фосфатази та її ізоферментів – за методом Вагнера, Путиліна і Харабури; кислій фосфатази – за реакцією з 4-нітрофенілфосфатом за загальноприйнятими методиками. У курчат після забою відбирали серце, печінку і нирки для вивчення змін на мікроскопічному рівні.

У **другому досліді** з метою вивчення впливу дезоксиніваленолу на напруженість специфічного імунітету до збудника Ньюкаслської хвороби у птиці було використано 20 голів 5-тижневих курчат породи Адлер сріблястий. З них було сформовано 2 групи по 10 голів у кожній. Курчатам першої групи вводили перорально добавку дезоксиніваленолу в дозі у дозі 70 мг/кг маси тіла, друга (контрольна) – утримувалася на основному раціоні. Через 15 діб після вакцинації у курчат обох груп здійснювали серологічний контроль рівня антитіл до вірусу Ньюкаслської хвороби птиці за реакцією затримки гемаглютинації (Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини від 27.04.2005).

Отриманні дані оброблено статистично за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2016 із визначенням середнього арифметичного (M), статистичної помилки середнього арифметичного (m), та середнє геометричне (G).

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

САНІТАРНО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ЗЕРНА ПШЕНИЦІ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ ЗА СТУПЕНЕМ КОНТАМІНАЦІЇ МІКРОМІЦЕТАМИ

Мікологічними дослідженнями зерна пшениці встановлено, що найбільшу кількість грибів було виявлено у зерні пшениці з Полісся, а найменше – в зерні з зони Степу, а у 2007 р., навпаки – більше грибів виявляли в зерні зони Степу, а менше – у зерні з зони Полісся (табл. 1).

**Контамінація мікроміцетами зерна пшениці
різних регіонів України, КУО/г**

Регіон	Роки	Кількість проб (n)	Lim	M±m
Степ	2006	9	$1,2 \cdot 10^3 - 9,15 \cdot 10^4$	$2,23 \cdot 10^4 \pm 1,2 \cdot 10^3$
	2007	7	$1,25 \cdot 10^3 - 1,12 \cdot 10^5$	$2,19 \cdot 10^4 \pm 1,5 \cdot 10^3$
	За 2 роки	16	$1,2 \cdot 10^3 - 1,12 \cdot 10^5$	$2,21 \cdot 10^4 \pm 1,35 \cdot 10^3$
Лісостеп	2006	10	$1,45 \cdot 10^3 - 2,4 \cdot 10^5$	$3,55 \cdot 10^4 \pm 2,3 \cdot 10^3$
	2007	16	$1,3 \cdot 10^3 - 4,835 \cdot 10^4$	$1,05 \cdot 10^4 \pm 3,1 \cdot 10^3$
	За 2 роки	26	$1,3 \cdot 10^3 - 2,4 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^4 \pm 1,3 \cdot 10^3$
Полісся	2006	11	$2,85 \cdot 10^3 - 3 \cdot 10^5$	$4,27 \cdot 10^4 \pm 2,6 \cdot 10^3$
	2007	17	$2 \cdot 10^3 - 2,375 \cdot 10^4$	$6,48 \cdot 10^3 \pm 1,3 \cdot 10^3$
	За 2 роки	28	$2 \cdot 10^3 - 3 \cdot 10^5$	$2,46 \cdot 10^4 \pm 1,37 \cdot 10^3$
По Україні	2006	30	$1,2 \cdot 10^3 - 3 \cdot 10^5$	$3,42 \cdot 10^4 \pm 1,25 \cdot 10^3$
	2007	40	$1,25 \cdot 10^3 - 1,12 \cdot 10^5$	$1,07 \cdot 10^4 \pm 3 \cdot 10^3$
	За 2 роки	70	$1,2 \cdot 10^3 - 3 \cdot 10^5$	$2,25 \cdot 10^4 \pm 7,75 \cdot 10^3$

Дослідження показали, що найбільш частими контамінантами зерна пшениці кожного року виявлялися мукоральні гриби та *Alternaria alternata*. Відносно рідше з зерна пшениці висівалися гриби роду *Aspergillus* та *Penicillium*, але рідко гриби роду *Fusarium* (табл. 2).

Щодо поширення грибів у зерні пшениці, вирощеної в різних зонах України, то мукоральні гриби контамінували зерно пшениці в регіоні Степу щорічно у 100 % проб і в межах від 90 до 94,1 % у Лісостепу та Степу відповідно. *Alternaria alternata* у 2006 р. було виділено у всіх пробах зерна пшениці із зони Лісостепу, а у 2007 р. – зерна з Полісся. У зоні Степу, зокрема, у 2007 р. його виявили у 100 % проб.

Відносно видового складу, то в пшениці з усіх трьох кліматичних зон України переважно виявляли два види – *Aspergillus flavus* та *Aspergillus fumigatus*. При цьому в зерні пшениці не часто виявляли *Aspergillus niger*, зокрема, у 2006 р. – лише у 16,7 %, а у 2007 р. – у 32,5 % проб. Також відносно рідко у зерні пшениці виявляли *Aspergillus candidus*, який у 2006 р. у пробах з зони Степу взагалі був відсутній.

Зовсім рідкісними контамінантами зерна пшениці були *Aspergillus terreus* та *Aspergillus ochraceus*.

Перший з них був виділений із зерна лише у зоні Лісостепу у 2006 р., але був відсутній у 2007 р., а інший, навпаки, не висівався у 2006 р., проте у 2007 р. був виділений у зонах Полісся та Степу.

Частота виділення із зерна пшениці грибів роду *Fusarium* коливалася від 30 до 42,5 % досліджених проб, частіше їх виявляли у 2007 р. За 2006–2007 рр. їх переважно виявляли у зерні з зони Полісся, рідше Лісостепу і ще рідше із зони Степу. Усього серед епіфітної мікобіоти зерна пшениці було виділено п'ять видів *Fusarium* (табл. 2). Серед них найчастішими контамінантами виявилися *Fusarium sporotrichiella* та *Fusarium spp.*, хоча вони були відсутні у зерні із зони Степу, а у 2006 р. перший був виявлений лише

на зерні із Полісся. Гриби роду *Fusarium spp.* були представлені у зерні пшениці у всіх зонах за винятком Степу кожного року.

Таблиця 2

Епіфітна мікобіота зерна пшениці різних регіонів України (2006–2007 р.)

Види мікроміцетів	Зона						Всього (70 проб)	
	Полісся (28 проб)		Лісостеп (26 проб)		Степ (16 проб)			
	Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	26	93	23	87	12	75	61	87
<i>Absidia corymbifera</i>	9	32	12	46	4	25	25	36
<i>Rhizopus oryzae</i>	7	25	4	15	6	37,5	17	24
Разом мукоральних	24	86	22	85	16	100	62	89
<i>Ascomycota, Plectomycetes, Eurotiales</i>								
<i>Monascus rubber</i>	1	3,6	–	–	–	–	1	1,4
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exiqua</i>	4	14	7	27	1	6,3	12	17
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	27	96	22	84	14	87,5	63	90
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	17	61	8	31	10	62,5	35	50
<i>Aspergillus flavus</i>	16	57	14	54	12	75	42	60
<i>Aspergillus niger</i>	5	18	6	23	7	44	18	26
<i>Aspergillus terreus</i>	1	3,6	–	–	1	6,3	2	2,9
<i>Aspergillus ochraceus</i>	–	–	1	3,9	–	–	1	1,4
<i>Aspergillus candidus</i>	3	11	5	19	2	12,5	10	14
Разом аспергілів	22	79	18	69	15	94	55	79
<i>Penicillium spp.</i>	12	43	20	77	8	50	40	57
<i>Trichothecium roseum</i>	1	3,6	1	3,9	–	–	2	2,9
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	3	11	1	3,9	1	6,3	5	7
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	5	18	4	15	–	–	9	13
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	9	32	2	7,7	–	–	11	16
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	3,6	1	3,9	2	12,5	4	5,7
<i>Fusarium moniliforme</i>	1	3,6	–	–	1	6,3	2	3
<i>Fusarium semitectum</i>	2	7	–	–	–	–	2	3
<i>Fusarium culmorum</i>	1	3,6	–	–	–	–	1	1,4
Разом фузаріїв	16	57	6	23	3	18,8	25	35,7

F. oxysporum та *F. moniliforme* виділялися з зерна пшениці не часто. Так, перший не виявляли у 2006 р. у зерні, вирощеному в зоні Полісся, а у 2007 р. – у Лісостепу, а другий взагалі не виявляли у 2007 р. і лише у 2006 р. виділяли у зонах Степу та Полісся. *F. semitectum* та *F. culmorum* виявляли спорадично у окремих пробах зерна пшениці лише у 2007 р. з зони Полісся. Всі інші види грибів (*Monascus rubber*, *Trichothecium roseum*, *Phoma exiqua* та *Mycelia sterilia*) щорічно виділяли із зерна пшениці з частотою від 3,6 до 14 % проб.

Отже, **епіфітна мікобіота** зерна пшениці урожаю 2006–2007 рр. представлена 21 видом мікроміцетів, віднесених до 9 родів. Здебільшого траплялися *A. alternata* (90 % проб), представники родини *Mucorales* (89 %) і зокрема роду *Mucor* (87 %). Дещо рідше з зерна пшениці виділялися представники родів *Aspergillus* (79 %), серед яких переважали види *Aspergillus flavus* (60 %), та *A. fumigatus* (50 %) і родів *Penicillium* (57 %) та *Fusarium* (37 %), ще рідше висівалися *Phoma exigua* (17 %), *Mycelia sterilia* (7 %), *Trichothecium roseum* (2,9 %) і *Monascus ruber* (1,4 %).

Щодо поширення грибів у зерні пшениці з різних регіонів, то у зоні Полісся здебільшого виявляли представників родів *Alternaria*, *Fusarium* та *Mycelia sterilia*, в зоні Лісостепу – родів *Penicillium* та *Phoma*, а у Степовій зоні – родів *Aspergillus* та *Mucor*. Гриби родів *Alternaria* та *Fusarium* не часто виділяли із зерна пшениці, вирощеного в зонах Лісостепу та Степу. До ізольованих з зерна пшениці найчастіше належали гриби родів *Aspergillus*, що домінували в зоні Степу і рідше виявлялися у зоні Полісся та ще рідше – у зоні Лісостепу. Ізоляти роду *Fusarium* переважно траплялися у пробах зерна, вирощеного на Поліссі, менше – в Лісостепу та Степу. Мікроміцети роду *Penicillium* виділялися більш ніж у половині досліджених проб зерна і переважали в регіонах Лісостепу та Степу і менше – у зоні Полісся.

Мукоральні гриби у зерні пшениці було представлено трьома родами *Mucor*, *Absidia* та *Rhizopus*, причому перший домінував у зерні з зони Полісся, другий – в Лісостепу, а третій – в Степу.

Гриби роду *Aspergillus* в зерні пшениці було представлено шістьма видами, зокрема, переважно *A. flavus* у регіоні Степу, нечасто він виділявся у зонах Полісся та Лісостепу. На другому місці виявився *A. fumigatus*, який частіше висівали із зерна пшениці в зонах Степу та Полісся та зрідка – в зоні Лісостепу. *A. niger* ізолювали рідше, але в зоні Степу його виділяли майже в половині досліджених проб зерна, на Поліссі і Лісостепу його виявляли майже у п'ятій частині проб. Гриби *A. terreus* та *A. candidus* достатньо рідко контамінували зерно пшениці, причому перший виділяли лише в Поліссі та Степу, а другий переважав в Лісостепу. І лише єдиний штам *A. ochraceus* був висіяний із зерна пшениці в Лісостепу (див. табл. 2).

Фузарії були виділені із більш як половини проб зерна пшениці Поліської зони, а також у чверті проб Степової та Лісостепової зон. Серед них домінував представник вид *Sporotrichiella*, який виявляли в пшениці, вирощеній на Поліссі та в Лісостепу, та жодного представника не виділили із зони Степу. *F. moniliforme* та *F. oxysporum* секції *Elegans* виділилися з зерна значно рідше, особливо в зоні Лісостепу, і більша кількість їх штамів була ізольована з пшениці у Степовому регіоні. Два інші види *F. semitectum* та *F. culmorum* були виділені в поодиноких випадках лише у пробах зерна Поліської зони. Серед них висіяно 13 % неідентифікованих грибів роду *Fusarium*, що було пов'язано з відсутністю у них типового спорогенезу.

Пеніцили виділяли більше ніж із половини всіх досліджених проб зерна пшениці, здебільшого їх виявляли у зоні Лісостепу та дещо менше – на Поліссі та в Степу. Представник мітоспорових грибів – *Phoma exigua* виявляли у 27 %

проб зони Лісостепу, рідше він траплявся на Поліссі та Степу. Інші види мікроскопічних грибів – *Monascus rubber* та *Trichothecium roseum* були виділені лише із зерна пшениці Полісся та Лісостепу і займали незначну частку серед інших грибів.

Дослідження **ендофітної мікобіоти** за два роки показали, що зерно пшениці уражається переважно грибом *A. alternata* (73 %), зокрема, на Поліссі ним було контаміновано 96 % проб, а у Лісостепу та Степу відповідно 84 та 87,5 % проб. Друге місце за поширенням у зерні пшениці займали гриби родів *Aspergillus* (40 % проб), серед яких в епіфітній мікобіоті переважав *A. flavus*. Відносно частими контамінантами зерна пшениці були *Phoma exigua* та *Mucor spp.*, вони відповідно виділялися частіше в Лісостепу та Степу.

Що стосується ураження зерна пшениці грибами роду *Fusarium*, то воно було на третину меншим і представлено лише трьома видами на Поліссі, в Лісостепу і Степу. Інші види (*Penicillium spp.* та *Mycelia sterilia*) виявляли в зерні зрідка, але практично завжди в зоні Полісся. Також спорадично виявляли гриби *Talaromyces luteus* та *Trichothecium roseum*.

Таким чином, отримані дані висвітлюють кількісний та якісний склад мікобіоти та частоту поширення мікроміцетів, що уражали зерно пшениці, вирощене в різних регіонах України. Так, у 2006 р. найбільше грибів було виділено із зерна пшениці з Полісся, а найменше – з зони Степу, а у 2007 р., навпаки, більше спор грибів виявляли в зерні зони Степу, а найменше – в зерні з зони Полісся. Виявлено різницю в контамінації асоціаціями мікроміцетів у досліджуваному зерні урожаю різних років, що можна пояснити деякими відмінностями погодних умов у 2006 та 2007 рр. Виявлено особливості контамінації зерна пшениці та встановлено видовий склад мікроміцетів, залежно від регіону його вирощування. Переважно гриби роду *Fusarium* виділяли із зерна, вирощеного в зоні Полісся, мукоральні гриби контамінували всі 100 % проб зерна зони Степу. Гриб *A. alternata* обсіменяв більше 84 % зерна і був виділений в пробах усіх трьох досліджених зон. Одним з переважних контамінантів пшениці зони Степу були гриби роду *Aspergillus*, вони контамінували 94 % проб.

Через 10 років після першої серії досліджень за такою ж схемою та тими ж методиками вивчалася епіфітна та ендоефітна мікобіота зерна пшениці врожаїв 2016 та 2017 рр.

Виконаними дослідженнями встановлено, що в зерні пшениці різних регіонів України виявлено від $1,12 \cdot 10^3$ до $6,5 \cdot 10^4$ КУО/г, що в середньому складало $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$ КУО/г. При цьому у 2016 р. найбільше грибів було в зерні пшениці з Полісся, а найменше – у зоні Степу. У 2017 р., навпаки, більше спор грибів виявляли в зерні зони Степу, а найменше – в зоні Полісся, що може бути пов'язано із вищою температурою червня та липня 2017 р. та різницею у кількості опадів за даними архіву погоди gismeteo.ua. За 2 роки в середньому на Поліссі в зерні пшениці виявляли спори грибів у кількості $3,3 \cdot 10^4 \pm 4,49 \cdot 10^3$ КУО/г, у Лісостепу – $2,4 \cdot 10^4 \pm 3,24 \cdot 10^3$ КУО/г та Степу – $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$ КУО/г.

Щодо родового і видового складу, то найчастішими контамінантами зерна пшениці серед епіфітної мікобіоти були мукоральні гриби; вони були виявлені у 84 % проб. Серед них найчастіше виявляли *Mucor spp.* (у 92 % проб із зони Полісся). Другу позицію за частотою виділення із зерна займали гриби *Aspergillus spp.* та *Alternaria alternata* – 80 та 79 % проб відповідно. При цьому найбільше аспергілів було виявлено у зерні, вирощеному в Степу – це 90 % випадків, а альтернарію – на Поліссі – у 88 % проб. Подібні дослідження кормів були проведені працівниками Інституту ветеринарної медицини НААН і в більшості випадків були виділені гриби тих же родів, але у іншому відсотковому співвідношенні (Балим Ю. П. та ін. 2013).

Одним із контамінантів зерна пшениці були і гриби роду *Penicillium spp.* (80 % проб), при цьому найбільше їх було виявлено у зерні зони Лісостепу (72 % проб). Гриби роду *Fusarium spp.* були виявлені у 36 % проб зерна, найбільше їх було виділено у зерні із зони Полісся (64 % проб), а найменше – у зоні Степу (10 %).

Стосовно глибинної або ендоепіфітної мікобіоти, яка вражала зерно пшениці, то найбільш часто виділяли гриби родів *Alternaria* (67 % проб), *Aspergillus spp.* (37 % проб), *Phoma exigua* (30 % проб), рідше виявляли спори родів *Fusarium spp.* та *Mucor spp.* (19 % проб). Таким чином, отримані результати досліджень тотожні поширенню мікроскопічних грибів на зерні пшениці для різних регіонів України і практично повторюють результати досліджень, які отримано у 2006–2007 рр.

Досліджено 140 проб зерна пшениці врожаю 2006–2007 та 2016–2017 рр. із різних фізико-географічних зон. Встановлено, що зерно пшениці у значній мірі контаміноване мікроскопічними пліснявими грибами та досліджено кількісний і якісний склад грибів. Це передбачає дослідження їх здатності до токсиногенезу з метою прогнозування безпечності зерна пшениці як важливої складової кормів та харчових продуктів.

ТОКСИНОГЕНЕЗ МІКРОМІЦЕТІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ РІЗНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

Встановлено, що із 39 культур фузаріїв токсичними властивостями володіли 18 ізолятів. З них два ізоляти *F. sporotrichiella var. tricinctum* та 3 ізоляти *F. sporotrichiella var. poae* утворювали зони пригнічення росту тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК, діаметром від 17 до 20 мм і були віднесені до токсичних. Ще 14 ізолятів утворювали зони затримки росту від 8 до 15 мм та були визначені як слаботоксичні. До них належали *Fusarium sporotrichiella var. poae* – 3 ізоляти, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 3, *Fusarium spp.* – 2, *F. semitectum* – 1, *F. graminearum* – 1, *F. oxysporum var. orthoceras* – 1, *F. moniliforme var. lactis* – 1. Решта культур мікроміцетів були атоксичними.

Із 39 культур грибів роду *Fusarium* Т-2 токсин продукували *F. sporotrichiella var. poae* – 8 ізолятів, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 3 та 1 неідентифікований *Fusarium spp.* Ще 15 ізолятів грибів продукували неідентифіковані трихотеценові мікотоксини, серед них *F. oxysporum var.*

orthoceras – 4 ізоляти, *F. moniliforme. var. lactis* – 3, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 4, *F. graminearum* – 2 та *F. culmorum* – 1. Ці ж ізоляти були піддані подальшому токсикологічному дослідженню з вивченням здатності продукувати зеараленон, моніліформін, фумонізін В₁ та дезоксиніваленол.

Результати досліджень показали, що з грибів, виділених із зерна пшениці, три ізоляти, а саме, *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrich. var. tricinctum* 1241/3 та *F. sporotrichiella var. poae* 1210/5 продукували зеараленон, один – *F. graminearum* 1273 – дезоксиніваленол, три ізоляти – *F. moniliforme. var. lactis* 1210д/2, *F. moniliforme. var. lactis* 1208/5 та *F. oxysporum. var. orthoceras* 1206д/3 – фумонізін В₁. Із 39 ізолятів грибів *Fusarium* 12 продукували Т-2 токсин, серед них 8 ізолятів – *F. sporotrichiella var. poae*, 3 ізоляти – *F. sporotrichiella var. tricinctum* та 1 ізолят – *Fusarium spp.*, 15 ізолятів утворювали неідентифіковані трихотеценові мікотоксини і жоден штам не продукував моніліформін.

В результаті отриманих даних встановлено, що продуценти Т-2 токсину були виявлені в зерні пшениці Київської – (7 ізолятів), Вінницької – (2 ізоляти), Закарпатської – (1 ізолят), Одеської – (1 ізолят) областей і 1 ізолят-продуцент був виділений із зерна пшениці з Німеччини. Зеараленон утворювали штами мікроміцетів, виділені з зерна пшениці, вирощеної у Київській та Закарпатській областях, а продуценти фумонізину В₁ виявлені у зерні Київської та Одеської областей. Не ідентифіковані трихотеценові мікотоксини синтезували ізоляти грибів, ізольовані з зерна пшениці Вінницької, Чернігівської, Закарпатської, Харківської, Київської, Одеської областей та із Німеччини.

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНО-ВОЛОГІСНОГО РЕЖИМУ НА ПРОДУКЦІЮ ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛУ ГРИБАМИ РОДУ *FUSARIUM* У ЗЕРНІ ЗЛАКОВИХ КУЛЬТУР

Дослідження показали, що дезоксиніваленол продукували ізоляти *F. graminearum* № 193/2, 195/1 і 1273, але більш активним продуцентом виявився ізолят *F. graminearum* 195/1, виділений із фузаріозного зерна пшениці В. В. Рухлядою у 1977 р., тому його і використовували з метою отримання цього мікотоксину.

Найбільшу кількість дезоксиніваленолу ізолят *F. graminearum* 195/1 продукував в зернах рису 3600 мг/кг, пшона 2000 мг/кг і кукурудзи 1200 мг/кг, в зерні пшениці і ячменю токсину утворювалося менше і зовсім незначна кількість – в зерні сої та льону, а в інших зернових субстратах його продукції не виявлено.

Встановлено, що *F. graminearum* 195/1 утворював дезоксиніваленол в усіх трьох вищевказаних субстратах за температур 17 та 24 °С, хоча його кількість була найбільшою за температури 24 °С. За температури 37 °С ріст гриба візуально не спостерігали. Можна стверджувати, що *F. graminearum* штам 195/1 синтезує дезоксиніваленол за температур в межах від 17 до 24 °С, а високі температури не придатні для його росту і розмноження.

Встановлено, що оптимальною вологістю для продукції дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолят 195/1 був діапазон від 40 до 80 %.

Причому найбільше його утворювалося у зерні пшениці за вологості субстрату 50 %, в кукурудзі за 60–70 % і в рисі за 60–80 %. За вологості 20 і 30 % активний ріст гриба не спостерігався.

Дослідження показали, що у зерні кукурудзи *F. graminearum* ізолят 195/1 почав продукувати дезоксиніваленол після другого тижня культивування, після третього – було зареєстровано пік його продукції, а на четвертий тиждень відзначали спад. У зерні пшениці дезоксиніваленол виявляли після першого тижня культивування *F. graminearum* ізолят 195/1 і його кількість зростала аж до третього тижня, а потім теж зменшувалася. У пшоні і рисі динаміка накопичення дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолят 195/1 виявилася схожою і в них сліди токсину виявили після третього тижня, а максимальну кількість – через чотири тижні досліду.

Таким чином, встановлено, що інтенсивність синтезу дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 залежить від субстрату, температурно-вологісного режиму і терміну культивування. Отримання дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 є необхідним етапом для дослідження його токсичності на лабораторних і продуктивних тваринах.

МІКРОСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ БІЛИХ ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ ПІД ВПЛИВОМ ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛУ

За внутрішньочеревного введення білим лабораторним мишам дезоксиніваленолу відмічали загибель окремих тварин. У загиблих мишей виявили патоморфологічні зміни, залежно від розвитку патологічного процесу внаслідок отруєння дезоксиніваленолом. В кардіоміоцитах не візуалізувалася поперечна посмугованість, окремі волокна мали неоднакову товщину. Ядра м'язових волокон були дещо витягнуті, інтенсивно базофільні, капіляри були значно наповнені кров'ю. При цьому були виявлені крововиливи в товщу міокарда (рис. 1).

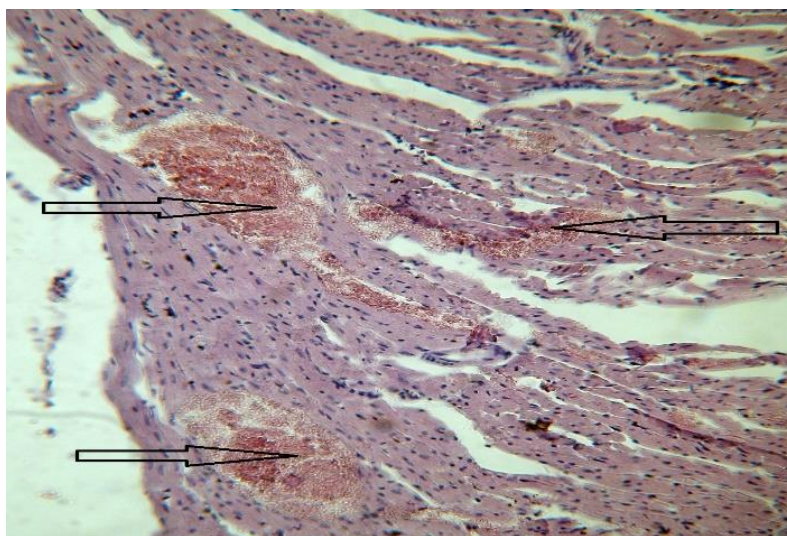


Рис. 1. Мікропрепарат серця миші за дезоксиніваленолотоксикозу. Крововиливи в товщу міокарда. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 200$

Поодинокі ядра кардіоміоцитів були збільшені, просвітлені, як і їх цитоплазма, що містила еозинофільну зернистість, що вказує на розвиток слабо вираженої білкової зернистої дистрофії (рис. 2). У нирках виявляли набухання епітелію звивистих і прямих канальців. Цитоплазма епітелію таких канальців була мутна або мала оксифільну зернистість, що свідчило про зернисту дистрофію епітелію (рис. 3). У печінці виявляли збільшення гепатоцитів, просвітлення та збільшення частини їх ядер, в яких чітко проглядали базофільні ядереця. Частина ядер була зруйнована (представлена грудочками хроматину). Гепатоцити містили оксифільну зернистість. Магістральні судини печінки були слабо наповнені кров'ю. Встановлений каріорексис свідчив про некроз (рис. 4).

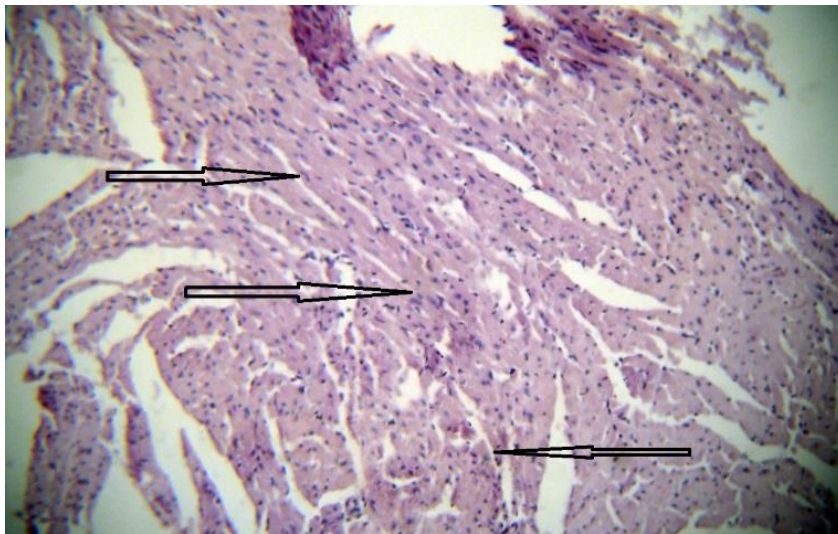


Рис. 2. Мікропрепарат серця миші за дезоксиніваленолотоксикозу. Білкова зерниста дистрофія кардіоміоцитів. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 200$

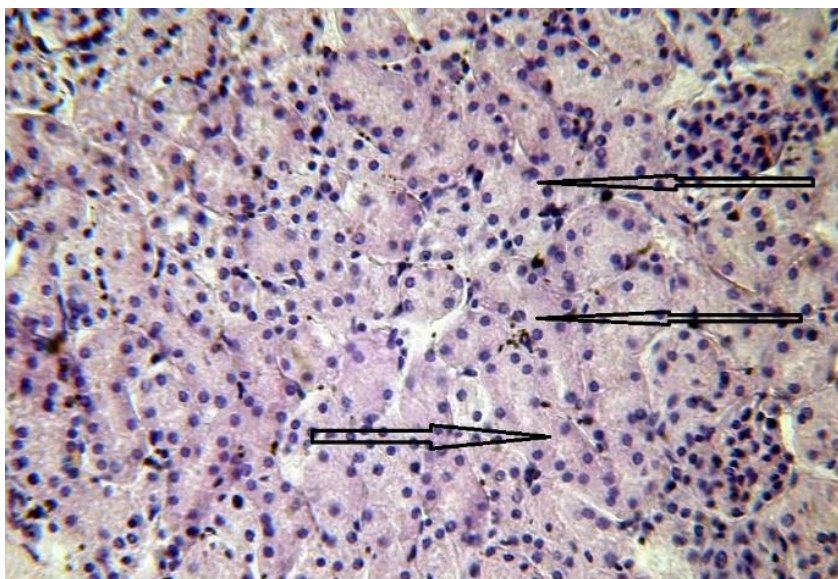


Рис. 3. Мікропрепарат нирки миші за дезоксиніваленолотоксикозу. Зерниста дистрофія епітелію проксимальних звивистих канальців нирок. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 400$

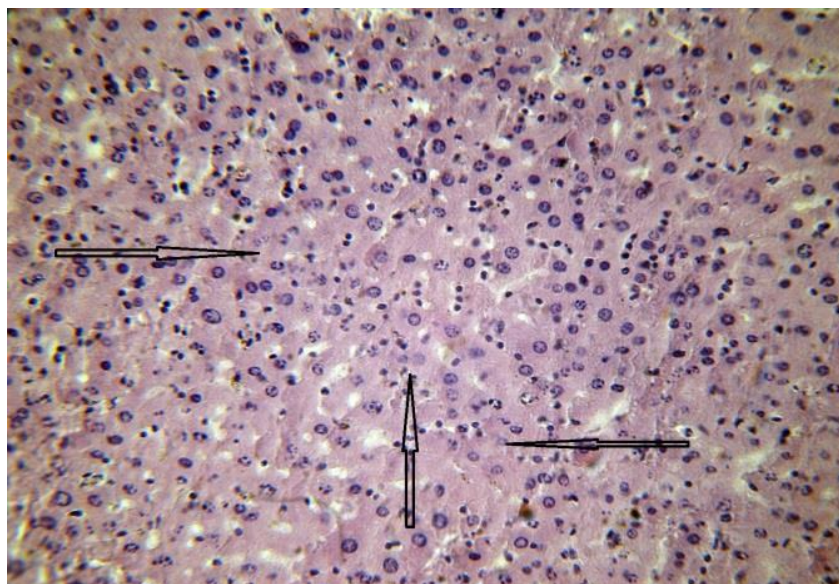


Рис. 4. Мікропрепарат печінки миші за дезоксиніваленолотоксикозу. Руйнування ядер гепатоцитів. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 400$

Таким чином, отримані результати проведених експериментів свідчать про необхідність пошуку ефективних засобів детоксикації дезоксиніваленолу в організмі тварин та дослідження їх ефективності на продуктивних тваринах, зокрема, курчатах.

ВПЛИВ ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛУ НА МЕТАБОЛІЧНИЙ СТАТУС, СПЕЦИФІЧНИЙ ІМУНІТЕТ ТА МІКРОСТРУКТУРУ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ КУРЧАТ ПОРОДИ АДЛЕР СРІБЛЯСТИЙ

Пероральне введення дезоксиніваленолу курчатам кросу Адлер сріблястий в дозі 70 мг/кг маси тіла сприяло виникненню імуносупресії, яка проявилася у зниженні титру антитіл до збудника хвороби Ньюкасла до $2,2 \pm 0,05$ проти $2,7 \pm 0,12$ у птиці контрольної групи. Також було визначено середнє геометричне для обох груп птахів (G). У курчат контрольної групи воно становило 512, тоді як у дослідної лише 157,6, що вказує на статистичну вірогідність дослідження.

Встановлено, що протягом перших двох тижнів перорального введення дезоксиніваленол суттєво не впливав на живу масу тіла курчат як окремо, так і в поєднанні з Мікосорбом, порівняно контролем (табл. 3).

Таблиця 3

Жива маса курчат породи Адлер сріблястий за впливу дезоксиніваленолу та Мікосорбу, г, $M \pm m$, $n=30$

Група	Тривалість дослідження, тижні			
	0	1	2	3
Дослідна 1 (токсин)	$300 \pm 3,68$	$361 \pm 8,24$	$523 \pm 8,31$	$634 \pm 11,82^*$
Дослідна 2 (токсин + мікосорб)	$311 \pm 3,74$	$375 \pm 9,03$	$502 \pm 8,68$	$756 \pm 12,37$
Контрольна	$316 \pm 3,65$	$382 \pm 8,72$	$555 \pm 8,73$	$751 \pm 11,71$

Примітка. $p \leq 0,05$ порівно з контролем

Негативна дія дезоксиніваленолу проявилася вже на третій тиждень його застосування курчатам у зменшенні їх маси тіла на 15,6 % порівняно з контролем. При цьому пероральне введення дезоксиніваленолу курчатам у поєднанні з Мікосорбом дозволило зберегти їх масу тіла на рівні контролю.

Загальна активність лужної фосфатази в сироватці крові курчат, яким вводили дезоксиніваленол, не відрізнялася від контролю впродовж дослідження, тоді як активність її кісткового ізоферменту була вищою лише в перший тиждень дослідження, а в подальшому знаходилася на рівні показників контролю (табл. 4).

Щодо кишкового ізоферменту лужної фосфатази (табл. 4) (краще перед таблицею), то його активність вірогідно збільшувалася у сироватці крові курчат лише на третій тиждень дослідження, яким застосовували дезоксиніваленол, порівняно з контролем. Активність кислої фосфатази не змінювалася у сироватці крові курчат як під впливом дезоксиніваленолу, так і під впливом його застосування одночасно з Мікосорбом. Це свідчить певною мірою про дещо меншу вираженість токсичного ефекту дезоксиніваленолу за використання Мікосорбу курчатам.

Таблиця 4

Активність ізоферментів лужної та кислої фосфатаз у сироватці крові курчат під впливом дезоксиніваленолу, Од/л, $M \pm m$, n=30

Показник	Група курчат	Тижні дослідження		
		1	2	3
Загальна лужна фосфатаза	Дезоксиніваленол	619,6±74,2	674,1±65,6	669,4±23,7
	Дезоксиніваленол + Мікосорб	728,7±15,0*	451,4±93,1	714,3±28,0
	Контрольна	527,9±19,5	675,1±29,4	698,7±24,9
Кістковий ізофермент	Дезоксиніваленол	530±72,8	492,3±82,6	518,6±30,5
	Дезоксиніваленол + Мікосорб	595,1±7,3*	291,1±87,9	521,4±27,3
	Контрольна	383,2±12,7	433,2±13,9	480,6±35,6
Кишковий ізофермент	Дезоксиніваленол	218,8±31,7	177,1±44,6	286,4±16,0*
	Дезоксиніваленол + Мікосорб	203,0±29,0	96,5±35,1	238,9±37,7
	Контрольна	154,1±26,6	151,3±39,3	191,5±35,5
Кисла фосфатаза	Дезоксиніваленол	9,7±1,5	9,6±1,3	11,2±0,4
	Дезоксиніваленол + Мікосорб	11,0±0,7	10,4±1,6	10,7±0,4
	Контрольна	9,5±0,6	9,5±0,9	9,9±1,2

Примітка. $p \leq 0,05$ порівно з контролем

У нирках курчат, яким вводили дезоксиніваленол, було виявлено патологічні зміни у вигляді численних діapedезних крововиливів, більша частина епітеліоцитів перебувала в стані білкової зернистої дистрофії, звивисті каналці були зруйновані або заповнені еозинофільною масою (рис. 5). Їх цитоплазма була набухла і просвітлена. У міокарді м'язові волокна були відносно потовщені. Цитоплазма кардіоміоцитів просвітлена, ядра набували

неправильної округлої форми, слабо базофільні, що свідчило про білкову зернисту дистрофію.

В курчат, яким вводили перорально дезоксиніваленол, цитоплазма гепатоцитів була просвітлена, містила базофільне просвітлене з низьким вмістом хроматину ядро. Клітини печінки перебували в стані білкової зернистої дистрофії, яка переходила у жирову (рис. 6).

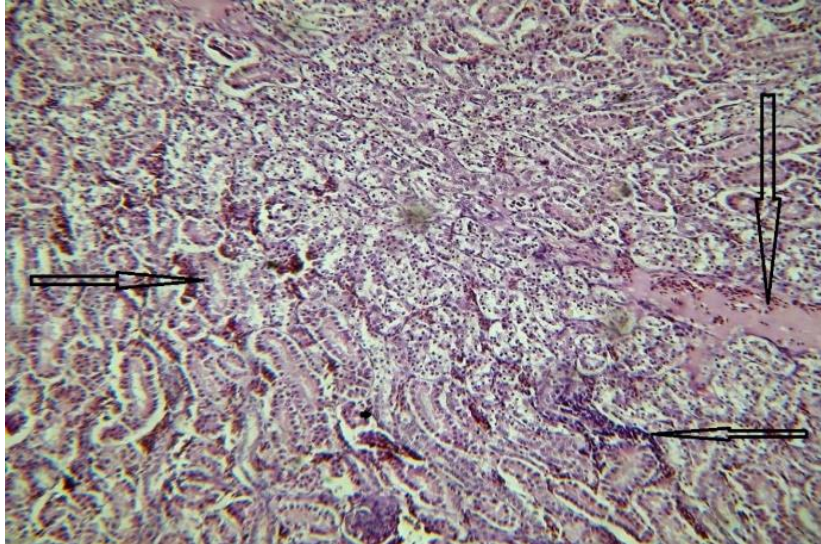


Рис. 5. Мікропрепарат нирки курчати за дезоксиніваленолотоксикозу. Білкова зерниста дистрофія нирки. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 200$

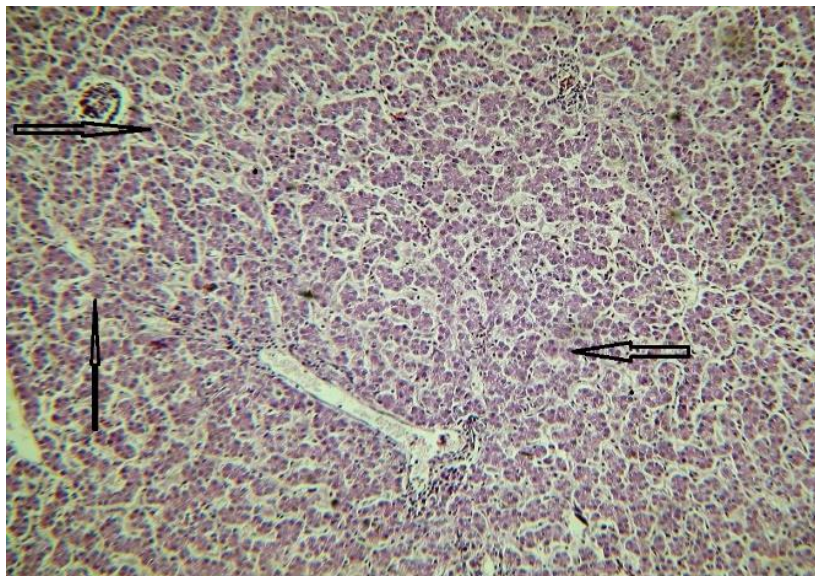


Рис. 6. Мікропрепарат печінки курчати за дезоксиніваленолотоксикозу. Білкова зерниста дистрофія печінки з переходом у жирову. Фарбування гематоксиліном та еозином. $\times 200$

Вище описані зміни виявлено і в мікропрепаратах внутрішніх органів курчат, яким одночасно з введенням дезоксиніваленолу згодували Мікосорб, але вони були менш виражені.

ВИСНОВКИ

У дисертації вперше обґрунтовано санітарно-гігієнічну оцінку зерна пшениці з різних регіонів України на основі систематизованого дослідження мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в зонах Степу, Лісостепу і Полісся, шляхом вивчення складу епіфітних та ендofітних токсигенних мікроміцетів, зокрема, продуценти Т-2 токсину, зеараленону, фумонізину В₁, дезоксиніваленолу, коєвої, аспергілової і пеніцилової кислот. Встановлено, що основним мікотоксином зерна пшениці, який представляє ризик для здоров'я тварин і людини, є дезоксиніваленол та його активні продуценти. Встановлено оптимальні температурно-вологісний режим, вид субстрату та тривалість продукції мікотоксинів грибами роду *Fusarium*. Виявлено імуносупресивну дію дезоксиніваленолу в організмі курчат кросу Адлер сріблястий та проведено оцінку ефективності профілактичної детоксикації в організмі птиці з використанням Мікосорбу.

1. Найбільша контамінація зерна пшениці мікроміцетами виявлена в зоні Полісся, а найменша – в Степовій зоні, що визначається погодними і кліматичними умовами даних регіонів України.

2. Мікобіота зерна пшениці, вирощеного в зонах Степу, Лісостепу і Полісся України представлена 21 видом мікроміцетів віднесених до 9 родів. Домінуючими є представники родів *Alternaria*, *Mucor* та *Aspergillus* (19–84 % контамінації), частими – ізоляти родів *Penicillium* та *Fusarium* (9–59 % контамінації) і рідкісними – *Phoma*, *Mycelia*, *Trichotecium* та *Monascus* (1,4–30 % контамінації), що вказує на ризик утворення в зерні їх вторинних метаболітів – мікотоксинів.

3. Із 39 досліджених штамів *Fusarium spp.* виявлено три штам-продуценти зеараленону та фумонізину В₁ та один – дезоксиніваленолу. З 22 досліджених штамів *Aspergillus flavus* 8 штамів є продуцентами коєвої кислоти, 20 – аспергілової і один – пеніцилової кислоти. Серед штамів *Aspergillus flavus* продуцентів афлатоксинів не виявлено.

4. Найбільш активним продуцентом мікотоксину є *Fusarium graminearum* штам 195/1, який здатний накопичувати дезоксиніваленол в зерні рису в кількості 3600 мг/кг, в пшоні – 2000 мг/кг та в кукурудзі – 1200 мг/кг.

5. *Fusarium graminearum* штам 195/1 найбільш активно продукує дезоксиніваленол в зерні пшениці за вологості 60–70 %; за вологості 14 % продукції дезоксиніваленолу не виявлено, а в діапазонах від 20 до 50 % та від 80 до 90 % він синтезується в слідових концентраціях. Оптимальний температурний режим для синтезу дезоксиніваленолу для вказаного мікроміцета складає 26–28 °С; за 4 °С ріст гриба відсутній, за 17 і 37 °С – продукція дезоксиніваленолу відбувається в слідових кількостях. Найбільший пік накопичення дезоксиніваленолу в зерні пшениці, контамінованому *Fusarium graminearum* штам 195/1, відбувається на 21 добу зберігання; впродовж перших 2 тижнів і після 4 тижня з моменту контамінації накопичення мікотоксину в зерні незначне.

6. Внутрішньочеревне введення дезоксиніваленолу білим лабораторним мишам в дозі 2 мг/голову спричиняє їх загибель, супроводжується дистрофічними та запальними змінами в міокарді та нирках, а також альтеративними змінами в печінці.

7. Пероральне введення курчатам породи Адлер сріблястий дезоксиніваленолу в дозі 70 мг/кг маси тіла щодобово протягом 21 доби знижує інтенсивність росту, проявляє імуносупресивну дію на гуморальну ланку специфічного імунітету, викликає зміни активності ізоферментів лужної фосфатази та обміну макроелементів у сироватці крові.

8. Згодовування курчатам кросу Адлер сріблястий з профілактичною метою препарату Мікосорб в кількості 20 г/кг комбікорму за експериментального дезоксиніваленолотоксикозу знижує вираженість змін активності тканинних ізоферментів лужної фосфатази у сироватці крові, дегенеративних змін серця, печінки та нирок на тлі збереження продуктивності птиці.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для профілактики мікотоксикозів тварин необхідно проводити мікотоксикологічні дослідження зерна пшениці з урахуванням регіону походження зерна та ризику його контамінації продуцентами Т-2 токсину, зеараленону, дезоксиніваленолу, коєвої, аспергілової і пеніцилової кислот.

2. У разі ураження зерна пшениці, призначеного для виготовлення кормів, грибами роду *Fusarium* необхідно обов'язково досліджувати вміст трихотеценових мікотоксинів, зокрема, дезоксиніваленолу та використовувати Мікосорб із розрахунку 20 г/кг корму під час вирощування курчат.

4. Контроль контамінації зерна грибами роду *Fusarium* необхідно здійснювати згідно методу, наведеного в Методичних рекомендаціях «Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленол (ДОН)» (затверджено науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25.12.2014 р.).

5. Методичні вказівки по експресному визначенню здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 токсин (зеараленон) пропонується до застосування у лабораторіях ветеринарної медицини країни та у лабораторіях науково-дослідних установ (затверджено науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України, протокол № 1 від 23.12.2010 р.).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Рухляда В. В., Островський Д. М., Курченко І. М. Епіфітна і ендоефітна мікобіота зерна пшениці в Україні. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2009. Вип. 62. С. 78–80. (Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).

2. Рухляда В. В., Утеченко М. В., **Островський Д. М.** Вплив дезоксиніваленолу на білих мишей. Вісник Сумського національного аграрного університету. 2009. Вип. 6 (25). С. 116–119. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

3. Островський Д. М. Біосинтез дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum schwabe* штам 195/1 на різних зернових субстратах. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. 2009. Вип. 19. Ч. 2. Т. 1. С. 129–132.

4. Рухляда В. В., Андрійчук А. В., Розпутня О. А., **Островський Д. М.** Контамінація зерна кукурудзи фузаріотоксинами Т-2, F-2 та ДОН. Ветеринарна медицина України. 2010. № 8. С. 31–33. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

5. Андрійчук А. В., Білан А. В., Сидорчук П. І., **Островський Д. М.** Токсигенні властивості мікроміцетів зерна пшениці та ячменю. Вісник аграрної науки. 2011. № 9. С. 22–24. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

6. **Островський Д. М.**, Мельник А. Ю., Утеченко М. В. Вивчення впливу дезоксиніваленолу на курчат кросу Адлер сріблястий та профілактичної дії мікосорбу. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2014. Вип. 14 (114). С. 151–156. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

7. **Островський Д. М.**, Корнієнко Л. Є., Андрійчук А. В. Мікроміцети зерна пшениці в Україні. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2017. Вип. 1 (133). С. 157–162. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

8. **Островський Д. М.**, Андрійчук А. В., Зоценко В. М. Мікроміцети зерна пшениці в Україні. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2018. Вип. 1 (140). С. 116–122. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні статті).*

9. Островський Д. М. Біохімічні зміни сироватки крові курчат внаслідок дії дезоксиніваленолу. Біологія тварин. 2016. Т. 18. № 3. С. 71–77.

Тези наукових доповідей

10. **Островський Д. М.**, Рухляда В. В. Епіфітна та ендофітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2006 року. Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті: Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених, аспірантів та докторантів. Біла Церква, 2008. С. 44. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні тез доповіді).*

11. Рухляда В. В., **Островський Д. М.**, Утеченко М. В. Вплив дезоксиніваленолу на білих мишей. Аграрна наука – виробництву: VII Державна науково-практична конференція. Біла Церква, 2008. С. 80–81. *(Здобувачем взято участь у проведенні наукових досліджень та написанні тез доповіді).*

12. Островський Д. М. Вплив дезоксиніваленолу на організм курчат кросу Адлер сріблястий. Аграрна наука – виробництву: Державна науково-практична конференція. Біла Церква, 2011. С. 27–28.

13. Островський Д. М. Токсигенні властивості мікроміцетів *Fusarium* та *Aspergillus*. Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: щорічна науково-практична конференція молодих вчених. Київ, 2017. С. 64–65.

Методичні рекомендації

14. Рухляда В. В., Андрійчук А. В., Білан А. В., Новожицька Ю. М., Білик С. А., **Островський Д. М.**, Розпутня О. А. Експрес-метод визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати зеараленон F-2 токсин: методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України. Біла Церква, 2011. 14 с. (Розглянуто та затверджено науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України (протокол № 1 від 23.12.2010 р. Здобувачем проведено апробацію методу).

15. Рухляда В. В., **Островський Д. М.** Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленол (ДОН): методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України. Біла Церква, 2015. 8 с. (Розглянуто та затверджено Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України (протокол № 1 від 25.12.2014 р. Здобувачем проведено розробку методу та підготовлено рекомендації до друку).

АНОТАЦІЯ

Островський Д. М. Санітарно-гігієнічна оцінка впливу на організм птиці зерна пшениці контамінованого токсигенними мікроміцетами. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 «Гігієна тварин та ветеринарна санітарія» Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2023.

В дисертації зроблено санітарно-гігієнічну оцінку зерна пшениці контамінованого мікроміцетами у різних регіонах України та встановлено їх токсигенний потенціал. Серед них визначали потенційних продуцентів мікотоксинів, зокрема дезоксиніваленолу. Визначено температурно-вологісний режим, види субстрату та тривалість токсиногенезу грибів роду *Fusarium*.

Досліджено кількісний та якісний склад епіфітної і ендоефітної мікобіоти зерна пшениці, вирощеної у різних регіонах України: Степ, Лісостеп та Полісся. Серед виділених ізолятів мікроміцетів виявлено продуцентів фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу, а також T-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізину B₁ та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот.

Найбільш частими контамінантами зерна пшениці були мукоральні гриби та гриб *Alternaria alternata*. Відносно рідше зустрічались гриби роду *Aspergillus* та *Penicillium*, рідко гриби роду *Fusarium*. Мукоральні гриби контамінували

зерно пшениці в регіоні Степу щорічно у 100 % зразків і в межах від 90 до 94,1 % у Лісостепу та Степу.

Внаслідок дезоксиніваленотосикозу мишей у печінці, серці і нирках виявляли дегенеративні зміни. Введення курчатам кросу Адлер сріблястий дезоксиніваленолу в дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняло зниження маси тіла, зміну активності ізоферментів лужної фосфатази та обміну окремих макроелементів у сироватці крові, що супроводжувалося патологічними змінами у нирках, серці та печінці. Доведено також імуносупресивну дію дезоксиніваленолу до збудника хвороби Ньюкасла в організмі курчат.

Сорбент Мікосорб у кількості 20 г/кг корму попереджував втрату маси курчат протягом 3 тижнів експерименту, а також знижував вираженість патологічних змін внутрішніх органів викликаних дезоксиніваленотоксикозом.

Ключові слова: пшениця, мікроміцети, мікотоксини, дезоксиніваленол, лабораторні миші, курчата.

ANNOTATION

Ostrovskiy D. M. Sanitary and hygienic assessment of the effect on the bird body of wheat grain contaminated with toxigenic micromycetes. Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of candidate of veterinary sciences, specialty 16.00.06 «Animal Hygiene and Veterinary Sanitation». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2023.

In the dissertation, a sanitary and hygienic assessment of wheat grain contaminated with micromycetes in different regions of Ukraine was made and their toxigenic potential was established. Among them, potential producers of mycotoxins, in particular deoxynivalenol, were identified. The temperature-humidity regime, types of substrate and duration of toxinogenesis of fungi of the genus *Fusarium* were determined.

Quantitative and qualitative composition of epiphytic and endophytic mycobiota of wheat grain grown in different regions of Ukraine: Steppe, Forest Steppe, and Polissia was studied. Among the selected micromycete isolates, producers of fusariotoxins – deoxynivalenol, as well as T-2, F-2 toxins, moniliformin, fumonisin B1 and aspergillotoxins – aflatoxins, penicillic, kojic and aspergillic acids were found.

The most frequent contaminants of wheat grain were mucoral fungi and the fungus *Alternaria alternata*. Fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* were found relatively less often, fungi of the genus *Fusarium* were rare. Mucoral fungi contaminated wheat grain in the Steppe region annually in 100 % of the samples and between 90 and 94.1 % in the Forest Steppe and Steppe.

As a result of deoxynivalenolosis, degenerative changes were detected in the liver, heart and kidneys of mice. The introduction of deoxynivalenol at a dose of 70 mg/kg of body weight to Adler silver cross chickens caused a decrease in body weight, a change in the activity of alkaline phosphatase isozymes and the exchange

of certain macroelements in blood serum, which was accompanied by pathological changes in the kidneys, heart and liver. The immunosuppressive effect of deoxynivalenol on the causative agent of Newcastle disease in chickens has also been proven.

The Mycosorb sorbent in the amount of 20 g/kg of feed prevented the weight loss of chickens during the 3 weeks of the experiment, and also reduced the severity of pathological changes in internal organs caused by deoxynivalenolotoxicosis.

Key words: wheat, micromycetes, mycotoxins, deoxynivalenol, laboratory mice, chickens.

Підписано до друку 05.09.23
Ум. друк. арк. 1,6
Наклад 100 прим.

Формат 60x84\16
Зам. № 230467

Віддруковано у редакційно-видавничому відділі НУБіП України
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041
тел.: 527-81-55