

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КАМІНСЬКА ОЛЕНА ВАСИЛІВНА

УДК 623.4:633.854.78

**ДИСЕРТАЦІЯ
ТОКСИНОГЕННІ МІКРОМІЦЕТИ РОДУ *FUSARIUM*, БІОЛОГІЧНЕ
ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАХОДІВ ОБМЕЖЕННЯ НАКОПИЧЕННЯ ЇХ
ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ У ПШЕНИЦІ ОЗИМІЙ ТА КУКУРУДЗИ
В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ**

06.01.11 «Фітопатологія»
(сільськогосподарські науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата наук
Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело О.В. Камінська

Науковий керівник –
Кирик Микола Миколайович,
доктор біологічних наук, професор,
заслужений діяч науки та техніки
України, академік НААН

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Камінської О.В. Токсигенні мікроміцети роду *Fusarium*, біологічне обґрунтування заходів обмеження накопичення їх вторинних метаболітів у пшениці озимій та кукурудзі в Правобережному Лісостепу України. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук зі спеціальності 06.01.11 «Фітопатологія». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2020.

Дисертаційна робота присвячена вивченню рівнів інфікування зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium*, з'ясуванню токсигенних їх властивостей, дослідженню вмісту вторинних метаболітів у зерні пшениці озимої та кукурудзи, встановленню рівнів токсичності зерна інфікованого патогенами, аналізу ризиків продукування фузарієтоксинів у зерні кукурудзи при зберіганні.

За результатами трирічного польового дослідження визначено, що великий інфекційний фон грибної етіології на пшеницю озиму після культури-попередника кукурудзи несе серйозну небезпеку для інфікування зерна і продукування мікотоксинів ще в польових умовах. Як наслідок зафіксовано великі кількості дезоксиніваленолу та Т-2 токсину в зерні пшениці озимої в контрольних групах посівів. Доведено, що більше утворення токсинів спостерігалось при ендofітному знаходженні міцелію в зерні. На цей факт впливали ступінь ураження зернівки та період контамінації на ній патогену.

Дослідження ураженого зерна на вміст мікотоксинів вказують на токсичну дію таких видів грибів р. *Fusarium* як *F. graminearum*, *F. sporotrichiella* і *F. culmorum* (W.G.Sm.) Sacc., що свідчить про ураження субепідермальної частини зернівок і продукування токсинів у польових умовах. За результатами багаторічних лабораторних і польових досліджень з'ясовано основні вторинні метаболіти, які утворюються в полі при

інфікуванні зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* до закладки на зберігання. Наявність високопатогенних видів *F. graminearum* – 30,4 %, *F. sporotrichiella* (Bilal) – 30,4 % обумовила накопичення у концентраціях, небезпечних для людей і тварин, дезоксиніваленолу від 1,131 до 2,309; Т-2 токсину – від 0,116 до 0,118 та зеараленону – від 0,111 до 0,185 мг/кг (Додатки В, Г, Д). Серед перевірених зразків зерна протягом 2010 - 2012 років частота виявлення невідповідних зразків щодо вмісту дезоксиніваленолу складала 83,3 %; Т-2 токсину – 33,3 % та зеараленону – 41,7 %. Спостерігалось одночасне накопичення небезпечних концентрацій декількох токсинів – ДОН і ЗЕА у 25 % зразків або ДОН, ЗЕА і Т-2 токсинів у 16,7 % перевірених зразків зерна пшениці. Цьому сприяв високий ступінь ураження зернівки грибами роду *Fusarium* – від 31 до 37 %.

Встановлено, що під час зберігання зерна кукурудзи в різних елеваторах та зерноскладах протягом року в 6,5 % партій відбувалось накопичення дезоксиніваленолу і Т-2 токсину у кількостях, що не допускаються для використання навіть для кормових потреб. У результаті контамінації мікотоксинами 11,7 % партій зерна кукурудзи було не придатним для використання для продовольчих, технічних потреб та експортування. Виявлено партії зерна кукурудзи, що були контаміновані одночасно двома і трьома мікотоксинами в різних комбінаціях, загальна кількість яких складала 23 % від перевірених проб та 71 % від кількості невідповідних проб. У зимовий, весняний і літній періоди в ньому відмічали накопичення Т-2 токсину. Рівень зеараленону в зерні кукурудзи мав тенденцію до збільшення протягом літнього періоду. Накопичення ДОН в зерні кукурудзи відбувалося головним чином у зимовий та весняно-літній періоди.

Вивчення заходів обмеження накопичення мікотоксинів дозволило встановити зменшення токсиногенного потенціалу певних видів грибів роду *Fusarium* за умов природного інфекційного фону, що свідчить про необхідність використання фунгіцидів у роки епіфітотій та здійснення обов'язкового токсикологічного аналізу перед закладкою зерна на зберігання.

З метою поглибленого вивчення токсикологічних властивостей грибів роду *Fusarium* проведено визначення загальної токсичності зерна на найпростіших організмах (інфузоріях) та встановлено необхідність здійснення обов'язкового визначення мікотоксинів з паралельним вилученням збудника патогену із зерна.

Визначено, ефективність використання фунгіцидів під час вегетації, зокрема, при протруєнні насіння Раксілом Ультра 120 FS, т. к. с. (діюча речовина – тебуконазол 120 г/л) із нормою витрати 0,2 л/т насіння у поєднанні з обробкою посівів у фазу цвітіння Фунгіцид Байзафон, з. п. (діюча речовина – пропіконазол 250 г/кг) з розрахунку 1,0 кг на гектар. В одержаній продукції спостерігалось зменшення ураження в середньому на 25 %, а також зниження в середньому рівнів мікотоксинів: ДОН – на 88 %, ЗЕА– на 65 %, ФУМ– на 76 %, Т-2 токсину–на 52 %.

Вивчено методи скринінгу токсинів та підтверджуючі методи. Оскільки метод імуноферментного аналізу має необхідну чутливість при виявленні найнижчих концентрацій мікотоксинів, використання його може сприяти проведенню додаткових заходів зменшення ризиків накопичення мікотоксинів при зберіганні та переробці зерна. Використання методу обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії дало можливість підтвердити результати виявлених перевищень максимально допустимого рівня (МДР) методом імуноферментного аналізу (ІФА). Також виникла необхідність удосконалення скринінгового методу тонкошарової хроматографії, що надає ширших можливостей проводити токсикологічний скринінг зерна без дорогого обладнання у невеликих виробничих лабораторіях. Суть удосконалення полягає в методиці очистки екстрактів за допомогою колоночної очистки з силікагелем, що показав високу специфічність до фузарієтоксинів: Т-2 токсину, зеараленону, дезоксиніваленолу.

Новизна роботи полягає в наступному:

Враховуючи, що мікотоксини є природними контамінантами грибної етіології, вперше в Україні проведено багаторічний аналіз поєднання ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* зі встановленням рівнів забруднення його мікотоксинами в умовах природного інфекційного фону. З'ясовано вплив використання фунгіцидів на рівні утворення мікотоксинів у зерні пшениці озимої під час вегетації.

Проведено періодичний контроль сировини кукурудзи під час зберігання та встановлено небезпечні рівні накопичення фузаріотоксинів.

У співавторстві із фахівцями ДНДІЛДВСЕ – Марченко Т. В., Третьяковою І. В. на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) удосконалено скринінговий метод визначення мікотоксинів з використанням тонкошарової хроматографії та очистки екстрактів на колонках із силікагелем. Проведено оцінку придатності методу і встановлено критерії ефективності відповідно до вимог та оформлено методичні рекомендації «Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, ократоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії», затверджено та прийнято до впровадження в практику ветеринарної медицини науково-методичною радою Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів від 20.12.2018 р. (Додаток Н).

Результати проведення наукових досліджень мають теоретичне і практичне значення для розуміння токсиногенних властивостей певних видів грибів роду *Fusarium* та необхідності проведення періодичного їх контролю з метою використання шляхів обмеження накопичення мікотоксинів до етапу потрапляння зерна у зерносховища. Важливим при цьому є вивчення патогенних властивостей грибів роду *Fusarium* на зерні пшениці та використання фунгіцидів під час вегетації.

Впровадження тонкошарового методу визначення мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки для скринінгу мікотоксинів під час його зберігання та переробки запобігає розповсюдженню токсинів у харчовому ланцюзі.

Одержані результати слугують фундаментальною і методологічною основою для запобігання розповсюдження токсинів у процесі вирощування, зберігання і переробки зернової сировини.

Наукові основи і розроблений метод визначення мікотоксинів впроваджено у роботу Державних лабораторій Держпродспоживслужби в різних регіонах України, при проведенні періодичного контролю сировини і зернової продукції при експорті, імпорті і виробництві (Додаток П).

Ключові слова: патогени, гриби, метаболіти, мікотоксини, деоксиніваленол, зеараленон, Т-2 токсин, фумонізин, токсичність.

SUMMARY

Kaminsky O.V. Toxinogenic micromycetes of *Fusarium* fungi, biological substantiation of measures to limit the accumulation of their metabolites in winter wheat and corn in the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. - Qualified scientific work as a manuscript.

The dissertation for the degree of Candidate of Agricultural Sciences in the specialty 06.01.11 "Plant Pathology". National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kiev, 2020.

The dissertation is devoted to studying levels of infection of winter wheat grain with fungi of the genus *Fusarium* and the species composition of pathogens, toxinogenic properties of fungi of the genus *Fusarium*, studying the content of secondary metabolites in grain of winter wheat and corn, establishing toxicity levels of grain infected with pathogenic fungi, analyzing the risks of producing toxins in corn grain when storage.

According to the results of a three-year field experiment, it was determined that a high infectious background of fungal etiology for winter wheat after the corn

precursor poses a serious danger to the infection of grain and the production of mycotoxins even in the field. As a result, a large amount of deoxynivalenol and T-2 toxin was recorded in winter wheat in the control groups of crops. It is proved that more formation of toxins was observed with endophytic damage to the grain with mycelium of the fungus. This fact was affected by the degree of damage to the grain and the period of contamination of the pathogen on it.

The study of the affected grain on the content of mycotoxins showed the toxic effect of such species of fungi as *F. graminearum*, *F. culmorum* (W.G.Sm.) Sacc., which indicates the defeat of the subepidermal part of the grains and the production of toxins in the field. According to the results of many years of laboratory and field studies, the main secondary metabolites that are formed in the field during the infection of winter wheat grains with *Fusarium* fungi before storage have been elucidated. The presence of highly pathogenic fungi: *F. graminearum* – 30,4 %, *F. sporotrichiella* (Bilal) – 30,4 % caused the accumulation, in concentrations of deoxynivalenol, dangerous for humans and animals, from 1,131 to 2,309; T-2 toxin – from 0,116 to 0,118 and zearalenone – from 0,111 to 0,185 mg /kg. Among the tested grain samples during 2010 – 2012, the frequency of detection of inappropriate samples by the content of deoxynivalenol was 83,3 %; T-2 toxin – 33,3 % and zearalenone – 41,7 %. The simultaneous accumulation of dangerous concentrations of several toxins DON and ZEA in 25 % of the samples or DON, ZEA and T-2 toxin in 16,7 % of the tested wheat grain samples was observed. This was facilitated by a high degree of damage to the grain by fungi of the genus *Fusarium* – from 31 to 37 %.

It was found that during the storage of corn grain in various elevators and granaries during the year, 6,5 % of batches accumulated deoxynivalenol and T-2 toxin in quantities that are not allowed for use even for feed needs. As a result of mycotoxin contamination, 11,7 % of maize grains were unsuitable for food, technical purposes and export. The batches of corn grain that were contaminated simultaneously by two and three mycotoxins in various combinations were established, the total number of which amounted to 23 % of the studied samples and

71 % of the number of inappropriate samples. In the winter, spring and summer periods, accumulations of T-2 toxin were noted in it. The level of zearalenone in corn grain tended to increase during the summer period. The accumulation of DON in corn grain occurred mainly in the winter and spring – summer periods.

The study of measures to limit the accumulation of mycotoxins made it possible to establish a decrease in the toxinogenic potential of certain types of fungi of the *Fusarium* genus under the conditions of a natural infectious background, indicates the need for fungicides in the years of epiphytotic and the implementation of mandatory toxicological analysis before laying grain for storage.

In order to study in detail the toxicological properties of *Fusarium* fungi, the total grain toxicity on the simplest organisms (ciliates) was determined and the need for a mandatory analysis of mycotoxins along with the identification of the pathogen in the grain was established.

It has been determined that the effectiveness of the use of fungicides during the growing season, in particular when seed treatment with Raxil Ultra FS (tebuconazole 120 g / l) is combined with the treatment of crops in the flowering phase with Baizafon (triadimefon 250 g / kg) of the triazole class. In the products obtained, a decrease in damage by an average of 25 % was observed, as well as an average decrease in the levels of mycotoxins: DON - by 88 %, ZEA - by 65 %, FUM - by 76 %, T-2 toxin - by 52 %.

Studied toxin screening methods and confirmatory methods. The method of immunoassay (Elisa-test) has the necessary sensitivity when detecting low concentrations of mycotoxins, so using it can help to carry out additional measures to reduce the risks of mycotoxin accumulation during storage and processing of grain. Using the method of high performance liquid chromatography allowed us to confirm the results of established excesses of the maximum permissible level (MRL). Also, the improvement of the screening method of thin-layer chromatography provides wide opportunities for toxicological screening of grain without expensive equipment in small production laboratories. The essence of the improvement lies in the method of

purification of extracts using column purification with silica gel, which has shown high specificity for toxins: T-2 toxin, zearalenone, deoxynivalenol.

Keywords: pathogens, fungi, metabolites, mycotoxins, deoxynivalenol, zearalenone, T-2 toxin, fumonisin, toxicity.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.),** Ю. М. Новожицька, О. В. Балагура. Які ж грибкові інфекції найчастіше зустрічаються на озимій пшениці в зоні Правобережного Лісостепу України. *Зерно і хліб*. 2011. Вип. 2. С. 66-67. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).
2. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.).** Токсиногенні властивості грибів роду *Fusarium* за ураження зерна пшениці озимої. *Карантин та захист рослин*. 2013. 5. С. 4-5.
3. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)** Порівняємо різні методики визначення мікогенної токсичності зерна і кормів. *Зерно і хліб*. 2014. 2 С.
4. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.),** Новожицька Ю.М. Порівняльна характеристика сучасних методів визначення мікотоксинів. *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*. 2014. Вип. 25. С. 86. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

5. **Камінська О. В.,** Марченко Т. В., Шевченко Л. В., Кирик М. М. Сезонна динаміка накопичення мікотоксинів в зерні кукурудзи Біоресурси і природокористування. 2020. Т.11, № 1–2. <https://doi.org/10.31548/bio2019.01.004> (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Статті у інших наукових виданнях України:

6. **Камінська О. В.,** Марченко Т. В., Євтушенко Т. В. Аналіз стану і небезпеки забруднення зерна кукурудзи деоксиніваленолом протягом 2014-2017 років. *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*. 2018. Вип. 32 (2). С. 208-

214. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Тези наукових доповідей:

7. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)** Гриби роду *Fusarium* – небезпечні токсикогенні міксоміцети: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 10-річчю спеціальності «Якість, стандартизація та сертифікація»: Київ, 11-12 жовтня 2012. С. 22-23.

8. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)** Токсигенний потенціал грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій в умовах природного інфікування: матеріали міжнародної науково-практичної конференції присвяченої, 50-річчю заснування факультету захисту рослин: Київ, 15-18 жовтня 2012. С. 186-187.

9. **Камінська О. В.** Екологічна оцінка вмісту Т-2 токсину в зерні та зерновій продукції: матеріали Регіонального наукового симпозиуму в рамках концепції «Єдине здоров'я» та семінару із рецензування та відборі наукових робіт за підтримки ПЗСБД в Україні: Київ, 24-28 квітня 2017. С. 139.

Навчальний посібник:

10. Левченко В. І., Розумнюк А. В., Новожицька Ю. М., Куцан О. Т., Омельчун Ю. А., **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.),** Іванова О. В., Дяченко С. В.. Лабораторна ветеринарна токсикологія. Біла Церква. 2012. 216 с.

Методичні вказівки:

11. **Камінська О. В.,** Марченко Т. В., Третьякова І. В. Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії: Методичні рекомендації. Київ: ДНДІЛДВСЕ. 2019. 28 с.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	13
ВСТУП	14
РОЗДІЛ 1. УРАЖУВАНІСТЬ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ТА КУКУРУДЗИ ГРИБАМИ РОДУ <i>FUSARIUM</i>	20
1.1. Видовий склад збудників фузаріозу колоса пшениці та пліснявіння качанів кукурудзи.	20
1.2. Токсиногенні властивості грибів роду <i>Fusarium</i> на зернових культурах	24
1.3. Стан вивчення забруднення зерна мікотоксинами (розповсюдження мікотоксинів)	27
1.4. Роль екологічних чинників у розвитку та поширенні фузаріозних захворювань зерна та утворенні мікотоксинів	35
1.5. Вплив хімічних засобів захисту рослин на токсикогенні властивості грибів видів <i>Fusarium</i>	37
Висновки до розділу 1	39
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, УМОВИ, ПРОГРАМА, МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	41
2.1. Об'єкти та місце проведення дослідів	41
2.2. Програма і методи досліджень	42
2.3. Методика визначення видового складу грибів роду <i>Fusarium</i> та ураженості зерна пшениці озимої	42
2.4. Методика визначення мікогенної токсичності зерна і кормів	44
2.5. Методика визначення вторинних метаболітів грибів роду <i>Fusarium</i>	46
Висновки до розділу 2	50
РОЗДІЛ 3. ВИДОВА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГРИБІВ РОДУ <i>FUSARIUM</i> ТА ЇХ ТОКСИКОГЕННИЙ ПОТЕНЦІАЛ НА ОЗИМІЙ ПШЕНИЦІ	52

Висновки до розділу 3	57
РОЗДІЛ 4. ЗАБРУДНЕННЯ МІКОТОКСИНАМИ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ В УМОВАХ ПРИРОДНОГО ІНФЕКЦІЙНОГО ФОНУ	59
Висновки до розділу 4	63
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ТА КУКУРУДЗИ ПРИ ВИЯВЛЕННІ МІКОТОКСИНІВ	65
Висновки до розділу 5	69
РОЗДІЛ 6. ЗНИЖЕННЯ УРАЖЕННЯ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ГРИБАМИ РОДУ <i>FUSARIUM</i> ТА РІВНІВ МІКОТОКСИНІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФУНГІЦИДІВ	71
6.1. Ефективність використання фунгіцидів проти ураження зерна пшениці озимої грибами роду <i>Fusarium</i>	71
6.2. Контамінація зерна пшениці озимої мікотоксинами при використанні фунгіцидів	78
Висновки до розділу 6	91
РОЗДІЛ 7. МОНІТОРИНГ ВМІСТУ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ ГРИБІВ РОДУ <i>FUSARIUM</i> НА ФУРАЖНОМУ ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ	93
Висновки до розділу 7	100
РОЗДІЛ 8. УДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИКИ ВИЯВЛЕННЯ МІКОТОКСИНІВ У ЗЕРНІ ТА ПРОДУКТАХ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ	102
Висновки до розділу 8	106
ВИСНОВКИ	108
РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	110
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	112
ДОДАТКИ	130

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ДОН	дезоксиніваленол
ЗЕА	зеараленон
ФУМ	фумонізін
мкг/кг	мікрограми на кілограм
мг/кг	міліграм на кілограм
л/т	літр на тонну
г/л	грам на літр
л/га	літр на гектар
МДР	максимально допустимий рівень
ІФА	імуноферментний аналіз
ВЕРХ	високоефективна рідинна хроматографія
ТШХ	тонкошарова хроматографія
LC-MS/MS	рідинна хроматографія з маспектронетричним детектуванням
Sr	збіжність
S _R	відтворюваність
год.	години
TrMT	трихотеценові мікотоксини
FAO	Food and Agriculture Organization (Продовольча та сільськогосподарська організація Об'єднаних Націй)
WTO	World Trade Organization (Всесвітня торгівельна організація)
EFSA	European Food Safety Authority (Європейське агентство з безпеки харчових продуктів)
TDI	допустиме добове споживання
д.р.	діюча речовина
т.к.с.	текучий концентрат суспензії
в.с.к.	водно-суспензійний концентрат
з.п.	порошок, що змочується

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми досліджень. Проблема ураження зерна грибами роду *Fusarium* має велике значення у всьому світі. Вторинні метаболіти, які продукують фузарії, мають ґрунтовні докази небезпеки для організму людей і тварин. Всесвітні організації ФАО і ВОЗ приділяють багато уваги даній проблемі. Тим самим направляють дослідження в напрямок оцінки ризиків інфікування та розробки заходів щодо зменшення контамінації мікотоксинами зерна. Залежно від екологічних, ґрунтово-кліматичних умов вирощування, від культури рослин видовий склад патогенів є досить різноманітним, а отже і потребує детального вивчення.

Вченими доведені токсикогенні властивості певних видів *Fusarium*, присутність яких на колосі може бути причиною наявності мікотоксинів у зерні. Останнім часом все частіше для опису видової належності грибів роду *Fusarium* використовують молекулярно-генетичні методи і аналіз вторинних метаболітів. Це пов'язано з постійною публікацією нових видів *Fusarium*, а також зі складністю ідентифікації і схожістю морфологічних ознак цих грибів. Саме тому визначення мікотоксинів у зерні виступає на перше місце при мікологічному аналізі якості та безпеки зерна і продуктів його переробки.

Не менш важливим і актуальним завданням слід зазначити розробку скринінгового методу визначення мікотоксинів, який дозволить швидко і з високою точністю встановити небезпечний вміст мікотоксинів та вчасно провести заходи зі зменшення ступеня контамінації партії зерна.

З огляду на різноманітність видового складу патогенних грибів роду *Fusarium*, в різних екологічних умовах вирощування зернових необхідно оцінювати ризики, що існують на конкретній території, чітко розуміти, які патогени і мікотоксини становлять небезпеку і які заходи щодо поліпшення ситуації необхідно вживати.

Головні завдання даної проблеми повинні бути направлені на зменшення джерел інфекції, зменшення швидкості розповсюдження розвитку

захворювання та зниження токсикогенного потенціалу патогенів у вегетаційний період.

Завдання селекціонерів направлені на отримання сортів стійких до захворювань, однак уникнути контамінації рослин грибами досить важко. Певні стресові ситуації у випадку посухи або надмірної вологи можуть спричинити шкоду від грибних захворювань, що призводить до зниження обсягів та якості врожаю.

Фузаріоз зерна пшениці і початків кукурудзи – дуже поширені хвороби у всьому світі. В останні роки це питання набуло ще більшої актуальності з огляду на те, що гриби роду *Fusarium* мають токсикогенні властивості і це впливає на безпечність зерна кукурудзи і пшениці та продуктів його переробки.

Останніми роками, у зв'язку зі значним збільшенням посівних площ під кукурудзу, суттєво зростає і ареал патогенів. Найбільшу кількість токсичних грибів має рід *Fusarium*, що потребує ретельного дослідження його токсикогенного потенціалу. Вивчення проблеми аліментарних токсикозів у тварин дедалі більше спонукає з'ясуванню ризиків контамінації зерна мікотоксинами та розробки заходів зниження рівнів його забруднення на всіх етапах вирощування, зберігання та переробки. Щорічні втрати світового врожаю зернових через ураження грибами, що продукують мікотоксини сягає близько 25 % (за даними Управління з Продовольства й сільського господарства ООН (FAO)).

Здійснення оперативного контролю вмісту мікотоксинів у зерні на виході з поля має важливе значення для виготовлення кормів та продуктів харчування. Наявність токсинів вказує на присутність грибів роду *Fusarium* у відібраних зразках, що може слугувати причиною збільшення рівнів мікотоксинів при подальшому зберіганні сировини та її переробки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі фітопатології ім. академіка В. Ф. Пересипкіна Національного університету біоресурсів і природокористування України. Лабораторні дослідження проведено в

Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи на базі науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу у рамках науково-дослідних тем: «Розробка, вивчення і порівняння різних методів і засобів ветеринарно-санітарної оцінки і контролю якості та безпеки продукції тваринного і рослинного походження та кормів» (номер державної реєстрації 0109U001082, 2009–2018 рр.), «Розробка нових та вдосконалення існуючих підходів, методів та засобів моніторингу та лабораторних досліджень (випробувань) показників безпечності та окремих показників якості об'єктів санітарних заходів, побічних продуктів тваринного походження, кормових добавок, преміксів, кормів, ґрунту і води», (номер державної реєстрації 0118U100597, 2019-2028 рр., ДНДІЛДВСЕ), під час вивчення яких авторка залучалася як виконавець окремих підрозділів.

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було виявити видовий склад мікоміцетів грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій – потенційних продуцентів токсинів, які контамінують та ушкоджують зерно пшениці озимої в Правобережному Лісостепу України. З'ясувати ступінь ураження зерна патогенною мікобіотою. Визначити токсиноутворюючі види *Fusarium*, що часто зустрічаються на пшениці озимій в природних умовах та дослідити їхній токсиногенний потенціал.

Встановити небезпечні рівні накопичення фузаріотоксинів під час зберігання зерна кукурудзи.

Оцінити біологічну ефективність застосування фунгіцидів в умовах природного інфекційного фону. Визначити ефективність застосування хімічних засобів для зменшення ступеня розвитку фузаріозу зерна та зниження ступеня забруднення мікотоксинами. Порівняти методи визначення мікотоксинів і розробити скринінговий метод одночасного виявлення мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

–визначити ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* у районі проведення досліджень;

- проаналізувати рівні мікотоксинів, які накопичувались у польових умовах у зерні пшениці озимої;
- дослідити вплив фунгіцидів на ураженість зерна грибами роду *Fusarium* та на рівень їх токсичних властивостей;
- зменшити грибне зараження рослин та утворення токсинів;
- провести аналіз сезонної динаміки накопичення мікотоксинів грибів роду *Fusarium* у зерні кукурудзи, призначеного для продовольчих і технічних потреб та експорту;
- розробити методичні рекомендації з визначення мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки за допомогою тонкошарової хроматографії.

Об'єкт дослідження – токсикологічні властивості грибів роду *Fusarium*

Предмет дослідження – частота поширення фузаріозу колоса, токсичність патогену.

Методи дослідження: загальнонаукові (спостереження, аналіз, синтез, системний підхід); спеціальні (фітопатологічні, світлової мікроскопії, мікробіологічні, спектрофотометричні, імуноферментний аналіз, хроматографічні); польові методи та бібліографічний пошук. Дисперсійний аналіз у процесі статистичної обробки результатів досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Основні положення дисертації полягають у наступному:

Вперше в Україні:

- проведено багаторічний аналіз ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* у поєднанні із нагромадженням мікотоксинів у зерні в умовах природного інфекційного фону Правобережного Лісостепу України;
- встановлено ступінь забруднення та сезонну динаміку накопичення вторинних метаболітів грибів роду *Fusarium* під час зберігання зерна кукурудзи;
- досліджено шляхи зменшення ступеня ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* та зниження накопичення мікотоксинів у ньому під час вегетації;

– удосконалено скринінговий метод тонкошарової хроматографії визначення мікотоксинів: афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні та продукції із нього шляхом проведення очистки екстрактів на колонках із силікагелем.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертації мають теоретичне і практичне значення для розуміння небезпеки накопичення вторинних метаболітів грибів роду *Fusarium* у зерні в польових умовах та з'ясування заходів обмеження накопичення їх під час вегетації.

Одержані результати виступають фундаментальною і методологічною основою для подальшої розробки заходів зменшення ризиків накопичення мікотоксинів під час зберігання та переробки зерна.

Розроблені методичні рекомендації «Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії», які дають можливість одночасно і якнайшвидше визначати небезпечні рівні токсинів та своєчасно проводити заходи зменшення їх накопичення. Нині вони використовуються в Державних лабораторіях Держпродспоживслужби, затверджені науково-методичною радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів за протоколом №3 від 20.12.2018 р. (Додаток Н).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійним дослідженням автора, виконаним протягом 2009–2019 рр. Спільно з науковим керівником, доктором біологічних наук, професором, академіком НААН М. М. Кириком розроблено науковий напрям досліджень, висунуто робочі гіпотези та обґрунтовано методологію експериментів.

Здобувачем особисто здійснено літературний пошук, збір фактичного матеріалу під час польових досліджень та його опрацювання в лабораторних умовах, апробовано методики, виконано запланований обсяг експериментальних робіт, проведено статистичне опрацювання одержаних результатів та їх інтерпретацію, написано тексти публікацій. Наукові

результати, що викладені в дисертації, отримано автором особисто та у співавторстві. У наукових працях здобувачу належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. У спільних публікаціях права співавторів не порушено.

Визначення вмісту вторинних метаболітів *Fusarium* (зеараленону, фумонізіну, дезоксиніваленолу, Т-2 токсину) скринінговим методом ІФА та підтвердження методом ВЕРХ, ідентифікацію видів грибів виконано на базі науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ) самостійно. Розроблення скринінгового методу тонкошарової хроматографії «Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, дезоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії» та валідацію методу виконано на базі науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу ДНДІЛДВСЕ спільно з головними фахівцями відділу Марченко Т. В. та Третьяковою І. В.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційних досліджень доповідалися на: Міжнародній конференції «Сучасні епідеміологічні виклики в концепції єдиного здоров'я» (Тернопіль, 11-15 червня 2018 р.); на 7 Міжнародній науково-практичній конференції «Лабораторні дослідження як інструмент забезпечення епізоотичного благополуччя та безпеки харчових продуктів» (Київ, 19 жовтня 2018р.); на VIII науково-практичній конференції «Лабораторні дослідження як інструмент забезпечення епізоотичного благополуччя та безпеки харчових продуктів» (Київ, 25 вересня 2019 р.).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація складається з анотацій, вступу, восьми розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Загальний її обсяг викладено на 144 сторінках. Робота містить 12 рисунків та 26 таблиць. Список використаних джерел налічує 167 найменувань, у тому числі 107 латиницею.

РОЗДІЛ 1

УРАЖУВАНІСТЬ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ТА КУКУРУДЗИ ГРИБАМИ РОДУ *FUSARIUM*

1.1. Видовий склад збудників фузаріозу колоса пшениці та пліснявіння качанів кукурудзи

Надзвичайно важливе значення для практикуючого фахівця із захисту рослин та біотехнолога набуває ідентифікація мікроміцетів у зерні та кормах різного походження. Від цього залежить стратегія профілактики розповсюдження патогенів та використання засобів захисту рослин.

Христенсен (Christensen C. M., та інші, 1965) вважає, що види *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium* в умовах США уражують зерно хлібних злаків під час вегетації. Якщо інфікування зразків свіжезібраного врожаю грибами роду *Alternaria* та іншими видами відмічались майже у 100 % випадків, то ізолятами *Fusarium* близько 10-15 %.

Видовий склад патогенів у різних еколого-географічних зонах може бути різний і залежить від культури-попередника. Відомий той факт, що після кукурудзи зернові значно сильніше уражуються *F. graminearum* ніж після інших попередників (Cromeu M. G. і інш., 2002; Dill-Mackay R., Jones R. K., 2000). У Німеччині та Великобританії на посівах зернових культур виявляли 15 видів збудників фузаріозу колоса. Найчастіше причиною захворювання були види *F. graminearum*, *F. nivale*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*. Випадки фузаріозу злаків спостерігали в країнах колишньої Югославії, де із 27 ізольованих культур 16 (59 %) продукували Т-2 токсин у концентраціях 0,6 – 1136 мг/мл. В Японії із колосся та зерна пшениці виділено 12 видів роду *Fusarium*. В основному хворобу викликали ті ж види, що й в Європі, крім того часто зустрічались види *F. acuminatum*, *F. sporotrichiella*. Значного поширення в останні десятиліття набув фузаріоз зерна на території Північної Америки, де він носить епіфітотійний характер. Випадки фузаріозу реєструють по всій території

Великих озер, у центральних і південно – східних штатах, у деяких районах Великих рівнин і в провінції Квебек. На Тихоокеанському узбережжі фузаріоз колосу поширений на зрошуваних посівах пшениці. 75 % ізолятів належать до виду *F. graminearum*, 17 % – до *F. poae*. В Україні ця хвороба поширена на пшениці озимій в зонах Лісостепу і Полісся (Харківська, Полтавська, Київська, Вінницька, Чернівецька, Рівненська, Волинська області). Її збудники представлені в основному видами *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichiella* var. *poae*. Як наслідок такого значного поширення фузаріозу зернових є часті випадки отруєнь тварин Т-2 токсином. Частота його виявлення була максимальною у зернах вівса (21 %), а в інших злакових складала 3 – 6 % (Баширова А. В., 2012). *F. poae* окремі автори відносять до тих грибів, що не вимогливі до тепла і вологості (Brennan J. M. і інш., 2003; Doohan F. M. і інш., 2003). Його виявляють в більшості випадків на зернових злакових культурах а також на соняшнику.

За різними джерелами літератури збудниками фузаріозу колоса є недосконалі гриби роду *Fusarium* Link. Найпоширеніші з них це – *F. graminearum*, *F. sporotrichiella*, *F. culmorum* і *F. avenaceum* (Бублик Л. І. і інш., 1999, Ковалишина Г. М. і інш., 2008, Деревенець К. А., 2007). Здатність виду *F. sporotrichioides* утворювати хламідоспори дозволяє йому існувати за різних умов, на широкому спектрі господарів. *F. verticillioides* вважають одним з основних патогенів кукурудзи, хоч і зустрічається на рисі, пшениці, сорго, рапсі та інших культурах в умовах підвищеної вологості. Як правило, досить не часто проявляється *F. tricinctum*, який вважається розповсюдженим всюди на зернових культурах. Серед мікрофлори зерна виявляють з низькою частотою: *F. anguioides*, *F. dimerum*, *F. heterosporum*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. merismoides*, *F. torulosum* та інші види цього роду. *F. langsethiae* – новий токсинпродукуючий вид гриба з секції *Sporotrichiella*, в останні роки широко розповсюджений у країнах Європи (Torp M, Langseth W., 1999; Wilson A. і інш., 2004; Yli-Mattila T. і інш., 2004, Lukanowski A. і інш., 2008).

Важливо, що при слабкому ураженні зерна грибниця патогену розташовується в перикарпії або в оболонці зернівок, тоді як при більш сильному ураженні вона проникає в алеїроновий шар, де розкладає білок з виділенням аміаку та інших токсичних речовин (Пересипкін В. Ф., 1989). Це відбувається за рахунок того, що в зародку раніше, ніж в оболонці та екзоспермі створюється рівноважна вологість, в результаті чого деякими видами грибів він може уражуватися швидше (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970).

Ураження кормових рослин видами *Fusarium* має місце під час їх вегетації до збирання врожаю (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970). Критичним періодом для зараження є фаза цвітіння. Цей процес відбувається сумкоспорами та конідіями, які поширюються за допомогою вітру, дощу, комах (Трибель С. О. і інш., 2009). Хвороба більш інтенсивно розвивається на ослаблених рослинах, її шкідливість підвищується за умов посухи (Бублик Л. І. і інш., 1999). Існують дані, що кукурудза уражувалась збудниками фузаріозу до 29 % у фазу повної стиглості зерна (Оменюк В. Я., Антоненко О. Ф., 2017).

Вирішальне значення має вміст вологи в зерні. За наявності вільної води відбувається різке підвищення активності окислювальних і гідролітичних ферментів, що спонукає ураження зерна мікроорганізмами. Рівні значень критичної вологості для зерна пшениці сягають 14,5-15,5 % (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970). Підвищена вологість в результаті дощу, туману, крапель роси протягом 36-72 годин сприяє інтенсивному зараженню (Andersen A. L., 1948).

Тому головною турботою в зонах з холодним та вологим періодом збору врожаю є сушка зібраного зерна. Проте в зонах з теплим і сухим періодом першочерговими стають питання захисту від задухи та самозігрівання (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970).

Дослідники також зазначають, що дрібні та щуплі зерна утримують більше вологи та сильніше уражуються грибами, ніж крупні та виповнені.

Зерно з порушеною цілісністю оболонки більш доступне для проникнення грибів і ураження (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970).

За сприятливих умов деякі види *Fusarium* легко формують забарвлену масу макроконідій. Це проявляється як на штучному поживному середовищі, так і в природних умовах на зерні, у таких грибів, як *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. heterosporum*. Фузаріоз, спричинений видами *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, може протікати без помітних ознак, і лише мікотоксикологічний аналіз зібраного зерна встановлює високу зараженість патогенами та присутність мікотоксинів (Иващенко В. Г. і інш., 1997, Кононенко Г.П. і інш., 1999, Гагкаєва Т. Ю. і інш., 2009).

Розвиток фузаріозу значно вищий під час епіфітотії хвороби на полях зернових, посіяних після пшениці або кукурудзи, ніж після інших культур.

Основне масове заспорення зерна відбувається при збиранні врожаю, коли до поверхні зернівки пристають спори і фрагменти гіф грибів. Поверхнєве заспорення насіння не обов'язково призводить до зараження зернівки, оскільки існує висока ймовірність загибелі початкової інфекції в процесі зберігання зерна. Однак при підвищеній вологості під час зберігання відбувається проникнення його з поверхні в глибинні шари зернівки.

Зараження здорових зерен також може відбуватись від інфікованих у післязбиральний період на току, в складах за умов підвищеної вологості зерна (> 14 %). У цьому випадку відсоток ураження зерна за добу може збільшитися в 1,5-2 рази (Christensen С. М. і інш., 1969). Існує ризик росту плісені протягом декількох днів до сушки, що може супроводжуватись самозігріванням. Такий ріст мікрофлори, за останніми даними, можна спинити за допомогою органічних кислот, наприклад, пропіонової кислоти та її солей. Обробку здійснюють негайно після збору врожаю лише для зерна на корм тварин (Commission Recommendation 2006/583 EU). Проте відсутність мікотоксинів у зерні не можна гарантувати за умови використання таких консервантів.

У профілактиці фузаріозу колоса значення має: вчасний збір врожаю, просушка, очистка зерна, протруєння насіння, внесення мінеральних добрив та

сумішей з мікроелементами для стійкості рослин до хвороб (Пересипкін В. Ф. і інш., 1989). Найефективнішим методом захисту кукурудзи від грибних хвороб залишається протруєння насіння та обприскування рослин під час вегетації фунгіцидами (Марков І. Л. і інш., 2014).

1.2. Токсиногенні властивості грибів роду *Fusarium* на зернових культурах

Інфекційне навантаження грибів роду *Fusarium* не однакове на зерні в різних природно-кліматичних регіонах. Їх видовий склад, а також агресивність залежать від метеорологічних змін та комплексу агротехнологічних заходів.

Різні види *Fusarium* можуть продукувати низку різноманітних мікотоксинів групи трихотеценів (ТрМТ), таких як дезоксиніваленол (ДОН), ніваленол (НІВ), токсин Т-2 і токсин НТ-2 та деякі інші токсини – зеараленон і фумонізени. Окремі з цих видів грибів роду *Fusarium* продукують два або більше цих токсинів (Commission Recommendation 2006/583/EU). Основні продуценти ТрМТ групи В – види *F. graminearum*, *F. culmorum* і *F. cerealis*.

Звертають на себе увагу види: *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. avenaceum* і *F. verticillioides*, ідентифікація яких може свідчити про небезпеку забруднення зерна мікотоксинами (Гагкаєва Т. Ю. та інш., 2009). За даними останніх публікацій авторами (Кононенко Г. П. та інш., 2004; Bottalico A., Perrone G., 2002; Leslie J. F., Summerell B. A., 2006; Moss M. O., Thrane U., 2004; Thrane U., 2001; Thrane U. та інш., 2004; Jestoi M. та інш., 2008; Vogelgsang S. та інш., 2008) досліджено токсинопродукуючу здатність певних видів грибів, ідентифікація яких підтверджена молекулярно-генетичними методами. Тобто вивчення генів, відповідальних за біосинтез тієї чи іншої групи мікотоксинів, дозволяє встановлювати генетичну детермінованість цієї ознаки для певного виду гриба.

Доведено, що види *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. sporotrichioides*, *F. poae* продукують трихотеценові мікотоксини (ТрМТ) і

нездатні синтезувати фумонізін. У той же час види *F. sporotrichioides* і *F. langsethiae* утворюють ТрМТ тільки групи А, а види *F. graminearum*, *F. cerealis*, *F. culmorum* продукують Трихотецени групи В. За даними А. Местерхази (Mesterhazy A., 2002), ДОН є продуцентом *F. graminearum*. Гриб *F. poae* утворює в основному Трихотецени групи В (Ніваленол), але також здатний до біосинтезу невеликих кількостей трихотеценів групи А (Pettersen H., 1991, Буркин А. А. і інш., 2008; Vogelgsang S. і інш., 2008; Thrane U. і інш., 2004).

Нині вважається, що зераленонон виробляється *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti* та *F. semitectum* (Marasas W. F. O. і інш., 2018, Thrane U., 1989, Рухляда В. В. і інш., 2011).

Описаний новий вид грибів *F. langsethiae* (Torp M., Langseth W. і інш., 1999; Torp M., Nirenberg H. I., 2004, Gavrilova O. і інш., 2010) з високим потенціалом токсиноутворення. При цьому він має низьку швидкість росту, відсутність повітряного міцелію та пігменту. Його вважають джерелом Т-2 токсину як і *F. sporotrichioides* (Гагкаева Т. Ю. і інш., 2006; Gavrilova O. і інш., 2009). У той же час, доведено, що ізоляти грибів *F. graminearum* і *F. culmorum* генетично не здатні продукувати Т-2 токсин і фумонізін, тоді як *F. sporotrichioides* ніколи не продукує ніваленол. Встановлено також неможливість видів *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. tricinctum*, комплексу *G. Fujikuroi* (*F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*) утворювати трихотеценові мікотоксини.

Встановлена підвищена агресивність ізолятів гриба *F. verticillioides* на кукурудзі з продукуванням Фумонізину В1 (ФВ₁) (Desjardins A. E. і інш., 1995). За сприятливих умов гриб *F. graminearum* здатний утворювати 3–4 генерації в періоди цвітіння – молочно-воскової стиглості.

Умови навколишнього середовища значно впливають на патогенні властивості грибів та продукування ними вторинних метаболітів, але встановлено, що не завжди ці умови збігаються зі сприятливими умовами для росту гриба. Так, оптимальна температура для росту гриба *F. sporotrichioides*

коливається від 22 до 25 °C, а для токсиноутворення – від 2 до 10 °C (Білай В. Й., 1953). Доведено, що оптимальна температура утворення ДОН – 28-30 °C, зеараленону – 20 °C, а Нив і 3-АсДОН – 20 і 15 °C, відповідно (Llorens A. і інш., 2004, Kuiper-Goodman T і інш., 1987).

Встановлено, що розвитку фузаріозу сприяють температура вище 15 °C у фазу цвітіння - дозрівання рослин, підвищена вологість більше 71 % у вигляді опадів (більше 10 мм протягом 10 діб), роси, близьке знаходження водойм. За літературними даними оптимальна температура для *F. graminearum* становить 25 °C, при активності води вище 0,88, а для *F. culmorum* – 21 °C, при активності води вище 0,87 (Canady Richard A. і інш., 2001). За наведеними даними досліджень в умовах відносної вологості понад 90 % при зараженні макроконідіями гриба *F. graminearum* привело до більшого накопичення ДОН, ніж при зараженні аскоспорами цього гриба. У той же час при відносній вологості 53 і 80 % значно більше ДОНу в зерні виявлено при зараженні аскоспорами (Beyer M. і інш., 2006).

Відповідно до даних, одержаних у своїх дослідженнях Мартінс М. Л. і Мартінс Н. М. (2002), найсприятливіші умови, при яких *F. graminearum* продукує ДОН у кукурудзі в кількості 6,0 мг/кг та 5,5 мг/кг є температура відповідно 22 °C та 28 °C, після 35 днів інкубації. Ці автори також виявили, що при температурі 37 °C *F. graminearum* не виробляє DON. Особливо високі концентрації DON у пшениці виявляли там, де кукурудза була попередньої культурою, оскільки вона є альтернативним господарем для *F. graminearum*, який є потужним продуцентом DON (Commission Recommendation 2006/583 EU).

Американські вчені Р. Стренге і Х. Сміт (Strange R. M., Smith H. A., 1971, 1978) довели зв'язок між інтенсивністю захворювання та наявністю відкритих квітів у колосі, оскільки пилок, що містить холін і бетаїн, посилює ріст грибів *F. graminearum*, *F. culmorum* і *F. avenaceum*.

1.3. Стан вивчення забруднення зерна мікотоксинами (розповсюдження мікотоксинів)

Забруднення зернових культур мікотоксинами є у всьому світі проблемою, яка призводить до значних економічних втрат у сільському господарстві (Пересипкін В. Ф. та інш., 1989). Токсикологічні синдроми, що виникають при попаданні мікотоксинів в організм знаходяться в діапазоні від раптової смерті до репродуктивних розладів та порушення в рості. Споживання зерна з грибними токсинами може також зменшити стійкість до інфекційних хвороб (Пересипкін В.Ф. та інш., 1989, Хомченко А.В. і інш., 2012).

Проблемі вивчення продукування токсинів грибами роду *Fusarium* у зерні приділяється велика увага науковців всього світу. Результати багатьох досліджень свідчать, що токсини *Fusarium* набули широкого поширення в харчовому ланцюгу. А основними джерелами дієтичного споживання токсинів цих видів є продукти, отримані зі злаків, зокрема пшениці та кукурудзи. За даними ФАО, 25 % врожаю зернових культур у всьому світі забруднено мікотоксинами.

На сьогодні в Євросоюзі існують спільні програми ФАО (продовольча та сільськогосподарська організація Об'єднаних Націй) та WTO (Всесвітньої торгівельної організації) щодо розробки проектів Кодексу (codex alimentarius), які направлені на запобігання забруднення зернових мікотоксинами, а також розробки рівнів максимально допустимих концентрацій мікотоксинів у зерні і продуктах його переробки. Такі максимальні рівні встановлюються для токсинів *Fusarium* зернових і зернових продуктів враховуючи токсикологічну оцінку, результатів впливу і можливостей досягнення таких рівнів. Багато міжнародних організацій у всьому світі переглядають нормативні документи, встановлюючи граничні значення вмісту токсинів для забезпечення максимальної безпеки продуктів харчування і фуражу. Цей процес ускладнюється низкою факторів, включаючи економічні, політичні, комерційні інтереси кожної країни, а також нестачу відповідної методичної і технічної бази

для здійснення досліджень. В Україні відповідно до ДСТУ 4525:2006 для кукурудзи регулюються максимально допустимі рівні (МДР) трьох фузарієтоксинів, залежно від виду та цілей: ДОН – 0,5-2 мг/кг; Т- 2 токсин – 0,1-0,2 мг/кг; ЗЕА – 1-3 мг/кг зерна. Для пшениці встановлені граничні рівні мікотоксинів відповідно до технічних умов ДСТУ 3768-2019 (ДСТУ 3768:2010), а саме: ДОН – 1,25; Т- 2 токсин – 0,1; ЗЕА – 0,1 мг/кг зерна.

Регламентом Ради ЄС № 1881/2006 (доповнення 1126/2007) встановлено для країн - членів ЄС, як обов'язковий аналіз вмісту в зерні та продуктах його переробки, два фузаріотоксини для пшениці (ДОН і ЗЕА) та три – для кукурудзи (ДОН, ЗЕА, фумонізін). З метою гармонізації законодавства з Регламентом Європейського Союзу від 19 грудня 2006 р. № 1881/2006 Міністерством охорони здоров'я України затверджено Державні гігієнічні правила і норми «Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах» від 13.05.2013 № 368, відповідно до чого встановлені рівні ДОН – 1,75 мг/кг для необробленої кукурудзи і пшениці; ЗЕА – 0,35 і 0,1 для необробленої кукурудзи та пшениці відповідно; сума фумонізинів В1, В2 – 4 мг/кг встановлена для необробленої кукурудзи (таблиця 1.1).

Таблиця 1.1

Максимально допустимі рівні мікотоксинів у зерні пшениці і кукурудзи відповідно до Наказу МОЗ від 13.05.2013 № 368⁽¹⁾, Рекомендації Комісії ЕС 2013/165 від 27.04.2013⁽²⁾[22, 77]

№ п/п	Вид продукції	МДР, мкг/кг
1	2	3
Дезоксиніваленол ⁽¹⁾		
1	Необроблені зерна злакових культур, крім твердих сортів пшениці, вівса і кукурудзи	1250
2	Необроблені зерна пшениці твердих сортів і вівса	1750

Продовження таблиці 1.1

1	2	3
3	Необроблені зерна кукурудзи, крім необробленої кукурудзи, призначеної для переробки шляхом мокрого млива	1750
4	Зерна злакових культур, призначені для безпосереднього вживання людиною, злакова мука, висівки і зародки, а також кінцева продукція, безпосередньо призначена для вживання людиною	750
Зеараленон ⁽¹⁾		
5	Необроблені злаки, крім кукурудзи	100
6	Необроблена кукурудза, крім необробленої кукурудзи, призначеної для переробки шляхом мокрого млива	350
7	Злаки, призначені для прямого споживання людиною, злакова мука, висівки і зародки у вигляді кінцевої продукції, призначеної для споживання людиною, крім кукурудзяних	75
8	Кукурудза, призначена для безпосереднього споживання, закуски і сніданки на основі кукурудзи	100
Фумонізини, сума В і В2 ⁽¹⁾		
9	Необроблена кукурудза, крім необробленої кукурудзи, призначеної для переробки шляхом мокрого млива	4000
10	Кукурудза, призначена для безпосереднього споживання, продукти харчування на основі кукурудзи для прямого вживання	1000
Т-2, НТ-2 токсин ⁽²⁾		
11	Необроблені злаки: ячмінь (включно пивоварений ячмінь) і кукурудза	200
12	Необроблені злаки: пшениця, жито та інші злаки, крім вівса	100
13	Кукурудза і пшениця, призначені для прямого споживання людиною	50

До теперішнього часу країни ЄС не погодили максимально допустимий вміст Т-2 і НТ- 2 токсинів, хоча нормування цих мікотоксинів у зерні, що йде на різні цілі, обговорюється вже з 2013 року, про що зазначено в орієнтовних рівнях згідно до Рекомендації Комісії ЕС 2013/165 від 27 березня 2013 року.

Регламентовані межі, згадані в цих Рекомендаціях, є орієнтовними рівнями, вище яких, безумовно, в разі повторних результатів, слід проводити дослідження факторів, що призводять до присутності токсинів Т-2 і НТ-2. Орієнтовні рівні засновані на даних про випадки виявлених токсинів, наявних у базі даних EFSA. Натомість, зазначено, що орієнтовними не є рівні безпеки кормів і харчових продуктів.

Водночас потрібно враховувати, що МДР розроблені для окремих мікотоксинів і відповідність даним рівням не може гарантувати безпечність зернової продукції, оскільки контамінація декількома мікотоксинами одного зразка може посилити їх токсичну дію. Нажаль, для суми фузаріотоксинів не розроблені МДР. При виявленні в зерні грибів роду *Fusarium* і відсутності мікотоксинів не можна також стверджувати про безпечність зерна, оскільки вміст токсинів нестійкий і з часом може збільшуватись.

Присутність токсинів *Fusarium* у продуктах харчування та кормах для тварин може призвести до серйозних токсичних ефектів (Smith J. E., 1991). Для уникнення негативного впливу на організм людини та для зменшення присутності токсинів видів *Fusarium* у злаках та продуктах їх переробки розробляються рекомендації щодо посилення контролю певних груп мікотоксинів, щодо профілактики і зниження рівнів фузаріотоксинів, а також допустимі межі токсинів у злаках та зернових продуктах (Commission Recommendation 2006/583/EC).

За визначенням рівнів ризиків небезпечності масових отруєнь, мікотоксини можна розмістити у такий ряд за зменшенням величини ризиків: мікробні токсини – мікотоксини – альготоксини – токсини вищих грибів – токсини тваринні – токсини рослин (Храпак В. В., 1999).

Слід зазначити, що концентрації і структура вторинних метаболітів залежать від видів *Fusarium*, а також від видів злаків (Bernhoft A. і інш., 2012).

Трихотеценові мікотоксини мають значне поширення. За хімічною будовою їх поділяють на групи А (включає Т-2 і НТ-2 токсини, діацетоксісцірпенол – ДАС, моноацетоксісцірпенол – МАС, неосоланіол – НЕО) і групу В (ДОН, Нив і їх моноацетат та діацетат похідні) (Ueno Y., 1983; Miller J. D. і інш., 2001., Mirocha Ch. J. і інш., 2003). Окремі автори вважають, що Трихотецени групи А мають більш токсичну дію, ніж групи В (Miller J. D. і інш., 2001, Foround Nora A., 2009). Перший метаболіт з цієї групи був описаний у 1961 р. як такий, що продукується грибом *F. equiseti* (Miller J. D. і інш., 2001). До найбільш вивчених трихотиценових мікотоксинів відносять ДОН – продуцент *F. graminearum*, *F. culmorum*, ниваленол – *F. poae*, *F. cerealis*, Т-2 и НТ-2 токсини – *F. sporotrichioides*, *F. langsethiae*, ДАС – *F. equiseti*, *F. poae*, *F. langsethiae*.

За даними різних науковців найбільш поширеними трихотеценовими мікотоксинами є дезоксиніваленол (ДОН) та Т-2 токсин, які продукуються грибами роду *Fusarium* (Jajic I. і інш., 2008). За даними Miller J. D. (2001), дезоксиніваленол і зеараленон найчастіше зустрічаються в зерні пшениці, яке уражене *Fusarium graminearum* і *F. culmorum*. ДОН характеризується як високотоксичний мікотоксин і зазвичай його виявляють у зерні кукурудзи та пшениці: зерно набуває біло-сірого кольору, стає зморшкуватим, легким.

Т-2 токсин має гостро токсичну дію серед фузаріотоксинів. Як правило він утворюється у зерні з підвищеним вмістом вологи. За даними Комісії ЄС (Commission regulation EC 1126/2007), Т-2 і НТ-2 токсини досить часто зустрічаються на зернових: 28 % – у зразках кукурудзи, 21 % – у пшениці і 21 % – у вівсі; НТ-2 токсин виявлено в 41 % зразків вівса, 24 % – кукурудзи та 17 % – жита. Згідно з даними аналізу одержаних даних, важливими продуцентами ДОНу і НТ-2 / Т-2 є *F. graminearum* і *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* (Gagkaeva T. і інш., 2006).

Токсин Т-2 швидко метаболізується в велику кількість продуктів, причому токсин НТ-2 є основним метаболітом. Наукова група щодо забруднювачів у харчовому ланцюгу (група CONTAM) Європейського органу з безпеки харчових продуктів (EFSA) прийняла висновок на запит Комісії, що стосується ризиків для здоров'я тварин і населення, пов'язаних з присутністю Т - 2 і НТ - 2 токсинів у їжі та кормах. Група «CONTAM» встановила допустиме для добового споживання (TDI) 100 мг/кг маси тіла для суми токсинів Т-2 і НТ - 2. Оцінка хронічного харчового впливу на людину суми токсинів Т - 2 і НТ - 2, нижче TDI для груп населення всіх вікових груп, а, отже, не становить небезпеку для здоров'я.

Що стосується ризику для здоров'я тварин, група CONTAM прийшла до висновку, що передбачуваний вплив токсинів Т - 2 і НТ - 2 для здоров'я жуйних, кроликів і риб вважається малоімовірною проблемою. Оцінки впливу токсинів Т - 2 і НТ - 2 для свиней, домашньої птиці, коней і собак засвідчують, що ризик несприятливих наслідків для них є низьким. Коти є одними з найбільш чутливих видів тварин до даних мікотоксинів (Commission Recommendation 2013/165/EU).

Ураженість сільськогосподарської продукції ДОН як за кількісним вмістом (з небезпечним вмістом близько 33 ± 6 % проб), так і за відсотком забруднення кормів має більший ризик для здоров'я продуктивних тварин та отримання безпечної харчової сировини (Хомченко А.В. і інш., 2012). Гострі отруєння не характерні для ДОН, проте при хронічній інтоксикації низькими концентраціями відбувається характерне ураження центральної нервової системи, кровотворної та імунної системи. Дослідження, які охоплюють велику кількість країн свідчить, що ДОН був частим забруднювачем зернових. З 11444 проаналізованих зразків пшениці ним були забруднені 57 % (діапазон концентрацій 1-5,700 мг/кг) (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 2001*).

Досить багато публікацій вказують на взаємозв'язок між фузаріозом колоса і наявністю ДОНу. Канадськими дослідниками Дж. Федак і В. Цао

(Fedak J., Cao W, 2000) було доведено зв'язок між проявом хвороби та забрудненням дезоксиніваленолом. Високу кореляцію ($R = 0,78-0,81$) між наявністю видимих симптомів на колосі і рівнем ДОН виявили австрійські і німецькі дослідники (Lemmens M. і інш., 1997; Miedaner T. і інш., 2004). Проте, інші вчені, вивчаючи природню інокуляцію, доводять протилежний зв'язок між видимими симптомами і наявністю ДОН (Snijders C. H. A., Perkowski J., 1990; Birzele B. і інш., 2002).

Зеараленон (ЗЕА) та 15 його похідних відносять до слаботоксичних мікотоксинів. Він характеризується анаболічною і естрогенною дією, призводить до порушень репродуктивної функції. Цей токсин продукується грибами *F. graminearum* і *F. culmorum*, тому його часто знаходять разом з ДОН. Зеараленон – небезпечний мікотоксин у помірних і теплих регіонах світу, зустрічається в основному в кукурудзі, а також у менших концентраціях у зерні рису, пшениці і ячміню та солоді.

Фумонізени (ФУМ) вперше були ідентифіковані в 1988 р. у культурі гриба *F. verticillioides*, ізолюваного з цвілого зерна в південноафриканських Республіках (Marasas W. F. O., 2001). У даний час описано більше десятка різних ФУМ, чотири з яких відносяться до групи В (В1, В2, В3, В4), частіше за інших зустрічаються в зерні і кормах. Інтерес до вивчення цієї групи мікотоксинів виник після виявлення її зв'язку із захворюваннями у тварин: енцефаломаліяція – розм'якшення мозку у коней, набряк легень у свиней і рак печінки у щурів (Marasas W. F. O., 2001). Найчастіше ФУМ зустрічаються в продуктах і кормах на основі кукурудзи, рідше – в сорго, рисі, спеціях (Thiel P. G. і інш., 1992; Visconti A., Doko M. B., 1994). Вони забруднюють кукурудзу, як під час вегетації, так і після збирання врожаю (Doko M. B. і інш., 1995). Збільшення концентрації ФУМ В1 відбувається в міру дозрівання качанів, досягаючи максимального рівня в твердих качанах. За різними даними ФУМ В1 був виявлений в зерні кукурудзи, на перший погляд не ураженому, на рівні 1-3 мг/кг (D'Mello J. P. F. і інш., 1999). У США рівень ФУМ у продуктах харчування не повинен перевищувати 4 мг/кг. (Marasas W. F. O., 2001). Для

європейських країн та України, відповідно з Регламентом Ради ЄС № 1881/2006 та Наказом МОЗ від 13.05.2013 №368, ФУМ нормований тільки в продуктах на основі кукурудзи – 0,2-1 мг/кг і в необробленій кукурудзі на рівні 2 мг/кг. Американська асоціація ветеринарних діагностичних лабораторій встановила ГДК ФУМ у кормах на основі кукурудзи для коней і кролів – 5 мг/кг, для свиней – 10 мг/кг, для жуйних тварин – 60 мг/кг і для птахів – 100 мг/кг (Marasas W. F. O., 2001).

У процесі вирощування сільськогосподарських культур науковці пов'язують низький ступінь проростання насіння з високою концентрацією фумонізину (ФУМ) (Doehlert D. C. і інш., 1994). Тим самим вони доводять фітотоксичний ефект фумонізину.

Оскільки гриби роду *Fusarium* заражають злаки в полі, утворення токсинів в основному відбувається перед збиранням врожаю, але також може відбутися після його збирання, якщо врожай не оброблений та не висушений належним чином (СХ / FAC 98/18, 1991). Крім того, волога погода перед збором врожаю, особливо небезпечна для забруднення зернових НТ-2 / Т-2, а також ДОН.

Зараженню мікотоксинами також сприяє неправильна сівозміна різних злаків, що мають схожі симптоми захворювання і спільних патогенів. Гриби роду *Fusarium* залишаються на стерні та інших рослинних рештках, прекрасно переносять зиму і навесні потрапляють на молоді рослини, а далі – на колос. Норвезькими вченими визначено, що сівозміни з незерновими культурами значно зменшують концентрації мікотоксинів, а також будь-які прояви фузаріозу (Bernhoft A., і інш., 2012).

За даними багатьох дослідників доведено, що мікотоксини - досить стійкі хімічні сполуки до дії температур, а саме: при температурі 125 °С руйнується лише 25–30 % фумонізинів, вище 175 °С – 90 % і більше (Bullerman L. B. і інш., 2002). За даними Скота і Лоуренса нагрівання зерна кукурудзи до 190 °С руйнує 60 % ФУМ, а вологого борошна – 70–80 % (Scott P. M., Lawrence G. A.,

1994). Для руйнування Т-2 токсину потрібні температури не менше 250-300 °C (Trusal L. R., 1985).

Маленьке, зморщене зерно може містити більшу кількість мікотоксинів, ніж здорове нормальне зерно (Commission Recommendation 2006/583/EC).

1.4. Роль екологічних чинників у розвитку та поширенні фузаріозних захворювань зерна і утворенні мікотоксинів

Найбільш ефективним прийомом зменшення шкідливості захворювання вважається вирощування стійких сортів. Сорти зернових культур, що мають імунітет до фузаріозу відсутні, проте відмічається стійкість рослин до певних патогенів (Schroeder H. W., Christensen J. J., 1963; Snijders C. H. A., 1990). Оскільки нині стійких генотипів не багато, тому прогнозувати рівні накопичення мікотоксинів, залежно від видимих симптомів захворювання не завжди є доцільним.

Необхідно враховувати, що ураження, особливо видами *Fusarium*, відбувається, як під час вегетації рослин, так і при зберіганні зерна. Значне ураження може виявитись за сприятливих погодних умов (підвищена вологість) протягом тривалого часу (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970). Ураження рослин відбувається за вологості ґрунту вище 40 % повної польової вологоємності. Існує думка, що гриби роду *Fusarium* по відношенню до температури є психротолерантними, мезофільними, можуть рости в межах від 3 до 37-38 °C, з температурним оптимумом 18-27 °C (Пересипкін В. Ф. і інш., 1989, Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970).

За даними вчених утворення макроконідій *F. graminearum* відбувається протягом 5 діб при температурі 20 °C і протягом 3 діб – при 25-30 °C. Їх утворення значно знижується при температурі нижче 16 °C і вище 36 °C. Доведено, що інфекційний процес гальмується при температурі нижче 15 °C і вище 32 °C. Для проростання аскоспор при температурі 20 °C достатньо відносної вологості вище або на рівні 53 %, тоді як макроконідії проростають

при вологості вище або в межах 80 % (Beyer M. і інш., 2005, Reid L.M. і інш., 1996, 2002). Норвезькими і канадськими дослідниками доведено розвиток симптомів, викликаних грибом *F. graminearum* при температурі нижче 20 °C за умови рясних опадів (Gordon W.L., 1952, Mc Mullen M. P. і інш., 1997; Hall R., Sutton J. C., 1998). Встановлено, що на кукурудзі в більш північних і відносно теплих та вологих кліматичних умовах частіше зустрічаються *F. graminearum* і *F. subglutinans*, тоді як *F. verticilliioides* і *F. proliferatum* - звичайні патогени кукурудзи в жаркому і сухому кліматі (Sutton J. C., 1982; Vigier B. і інш., 1997; Kosiaka B. і інш., 2004).

Місцем перебування токсиноутворюючих видів мікроскопічних грибів є ґрунт. Їх чисельність у ґрунті може бути невелика. Але основним джерелом розповсюдження грибів, є субстрати, рослинні рештки, що уражуються ними, або бур'яни, на яких утворюється комплекс епіфітної мікрофлори. Також можуть уражуватися грибами роду *Fusarium* і незернові сільськогосподарські рослини (Gilbert J. і інш., 2003). Так, наприклад, у Бразилії, у випадку коли сою і пшеницю сіють один за одним, *F. graminearum* ізолюють з високою частотою як із залишків сої (12-65 %), так і з пшеничної соломи (35-85 %) (Fernandez M. R., Fernandes J. M. C., 1990).

У ґрунтових залишках значно довше зберігаються види, які здатні рясно утворювати хламідоспори: *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*. Хламідоспори зберігають життєздатність до десяти років і при настанні сприятливих умов проростають в новий міцелій (Білай В.Й., 1977, Марланд А. Г., 1935, Пересипкін В. Ф., 1989). Більшість патогенів (*F. poae*, *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. verticilliioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*) здатні інтенсивніше утворювати мікроконідії, ніж макроконідії. Такі 1-2 клітинні мікроконідії, що швидко ростуть, є основним джерелом інфекції в період вегетації, оскільки здатні швидше розноситись вітром, водою, комахами.

Німецькі дослідники показали достовірну кореляцію ($r = 0,74$) між виявлених грибів на рослинних рештках у ґрунті і зараженням зерна (Birzele B. і інш., 2002, Franc L. і інш., 1999). Доведено, що види

F. graminearum і *F. verticillioides* виживають на залишках пшениці і кукурудзи, залишених на поверхні ґрунту протягом 3 років і більше та утворюють численні перитеції (Khonga E. B., Sutton J. C., 1988; Inch S. A., Gilbert J., 2003). Це відбувається у випадку відсутності оранки, коли близько 30-60 % рослинних залишків залишаються на поверхні ґрунту. Заглиблення рослинних залишків на 7,5-20 см у польових умовах значно знижувало виживаність гриба *F. graminearum* (Pereyra S. A. і інш., 1999).

Добре відомий факт залежності розвитку фузаріозу качанів від пошкодження кукурудзяним метеликом і бавовняною совкою (Munkvold G. P., Desjardins A. E., 1997). *F. graminearum* був вилучений із дорослих жуків блестянки чотирьохкрапкової (*Glischrochilus quadrisignatus*) і личинок довговусої блішки (*Diabrotica longicornis*), трипсів, коників (Gordon W. L., 1959; Sturz A. V., Johnston H. W., 1985; Parry D. W. і інш., 1995; Kemp G. H. J. і інш., 1996; Munkvold G. P., 2003). Окремі автори наукових праць вказують, що *F. poae* знаходиться в симбіозі з комахами, наприклад з трипсами (*Limothrips*), попелицями (*Sitobion*), і кліщами (*Siteroptes graminum*, *S. avenae*), які живляться цим грибом (Pettersson H., Olvang H., 1997).

Таким чином, розвитку і поширенню захворювання сприяють, в першу чергу, наявність інфекційного фону патогену, а також сприятливі екологічні чинники (волога і температура).

1.5. Вплив хімічних засобів захисту рослин на токсикогенні властивості видів *Fusarium*

Відомо, що для здійснення контролю хвороб сільськогосподарських культур слід проводити низку захисних заходів. Важливо враховувати при цьому вид збудника і його агресивність, а також метеорологічні умови. Проти багатьох хвороб необхідно проводити підбір фунгіциду з певною діючою речовиною, його норму витрати та строки застосування. Ефективним методом

захисту зернових від фузаріозу є протруєння насіння та обприскування рослин фунгіцидом під час вегетації.

Основні зусилля при цьому повинні бути спрямовані на зниження джерел інфекції, обмеження або уповільнення швидкості розвитку захворювання в умовах, що склалися у вегетаційний період. Складність дії фунгіцидів полягає у постійній і повсюдній наявності інфекції, періоді інфікування, швидкому проникненні патогену у внутрішні тканини колоса, якісному обробітку останнього препаратом. Крім того, на ефективність дії фунгіцидів при обприскуванні впливає температура, вологість, стійкість сорту, тип і норма витрат фунгіциду, час обприскування, чутливість видів і ізолятів патогенів (Magan N. і інш., 2002). Фунгіцидів, здатних ефективно оберігати зерно від проникнення патогену, небагато. Як правило, найбільша ефективність сучасних препаратів щодо зниження видимих симптомів захворювання в полі оцінюється не вище 60-70 %.

Існує багато публікацій, в яких продемонстрована ефективна дія фунгіцида на патоген і, навпаки, збільшення накопичення мікотоксинів. Існує інформація про те, що застосування фунгіциду Matador (суміш тебуконазолу і тріадіменола) на озимій пшениці, інокульованої *F. culmorum*, зменшило розвиток фузаріозу колоса, але в 16 разів збільшило концентрацію ниваленолу (Gareis M., Seynowa J., 1994). За даними С. Хомдорка з співавторами (Homdork S. I. і інш., 2000), рівень ЗЕА в зерні підвищився з 60 мкг/кг, при обробці класів тебуконазол за 3 доби до інокуляції суспензією конідій гриба *F. culmorum*, до 140 мкг/кг при обробці через 5 діб після інокуляції.

Оскільки в патогенному процесі беруть участь кілька видів фузарієвих грибів, то чутливість видів до однієї діючої речовини фунгіциду може бути неоднаковою (Соколова Г. Д., та інш., 2001; Ioos R. і інш., 2005). Доведено, що Фолікур в лабораторних дослідах надавав більше пригнічуючий вплив на розвиток *F. roae*, ніж на *F. graminearum*. Показано, що ефективність фунгіцидів вища проти виду *F. avenaceum*, ніж до *F. culmorum* (Simpson D. R. і інш., 2001). Норвезькі дослідники відзначають, що деякі фунгіциди підвищують

чисельність *F. tricinctum* на зерні пшениці. Можливе виникнення резистентності у грибів під впливом фунгіцидів. Так, ізоляти *F. graminearum*., *F. culmorum*, *F. avenaceum* і *F. poae* знижували чутливість до карбендазиму і тебуконазолу (Bateman G.L., 1993; Xu X. і інш., 2007; Becker R. і інш., 2010).

На основі результатів наукових досліджень автори вважають, що ефективність фунгіцидів відносно фузаріозу зернових культур необхідно оцінювати комплексно, враховуючи показники зниження поширення захворювання на колосках, зменшення інфікованості зерна, збільшення врожаю, зниження рівня мікотоксинів у зерні.

На думку науковців найефективніша обробка фунгіцидами для зернових досягається в кінці колосіння – початку цвітіння. Оптимальним терміном обробки пшениці вважаються 2 - 4 дні перед цвітінням. Підвищити ефективність фунгіцидів можливо шляхом більш якісного покриття колоса, з додаванням прилипачів.

Висновки до розділу 1:

Проведено аналіз літературних джерел щодо видового складу патогенів роду *Fusarium* на зерні пшениці озимої та кукурудзи, особливостей їх поширення та прояву токсикогенних властивостей.

1. Як свідчать наведені літературні дані, складність в ідентифікації грибів роду *Fusarium*, обумовлені близькістю певних видів за морфологічними ознаками, що затруднює одержати достовірну інформацію стосовно видового складу патогенів на зерні. З огляду на це важливо більш широко вивчати природу патогену і його токсиногенний потенціал у зерні в районі проведення досліджень у поєднанні з токсикологічними дослідженнями вмісту мікотоксинів. Потребує також детального вивчення впливу ступеня ураження зерна на продукування мікотоксинів.

2. Враховуючи той факт, що певні фунгіциди здатні діяти на патоген, але не забезпечують зменшення забруднення мікотоксинами, потребує детального дослідження вплив протруйників на ступінь ураження зерна

патогенами в поєднанні з проявом їх токсикогенних властивостей. Це дозволить надалі ефективно протидіяти агресивному впливу збудників хвороб та забезпечить зменшення рівнів фузаріотоксинів у польових умовах та, як результат, сприятиме отриманню безпечної зернової продукції.

3. Наведена вище інформація про токсикогенні властивості видів *Fusarium* та стан вивчення накопичення в рослинній продукції вторинних метаболітів свідчить про необхідність удосконалення методології з питань визначення вмісту мікотоксинів, що дасть змогу з'ясувати необхідність поліпшення скринінгових, не інструментальних методів, застосування яких дозволить проводити аналіз вмісту мікотоксинів у більшості лабораторій, що функціонують в Україні.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, УМОВИ, ПРОГРАМА І МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та місце проведення дослідів

Дослідження виконано упродовж 2009-2019 рр. Об'єктом досліджень були токсикологічні властивості грибів роду *Fusarium*.

Польові експерименти проводили у Державному підприємстві «Дослідному господарстві Шевченківське», Київської області, Тетіївського району, с. Денихівки. Розмір облікової ділянки становив 300 м² протягом трьох років поспіль, що відповідало вимогам до проведення польових досліджень (Доспехов Б. А., 1985, Трибель С. О., 2001). Оцінку біологічної ефективності фунгіцидів проводили в умовах природного інфекційного фону. Для протруювання насіння використовували Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (діюча речовина – 200 г/л карбоксина + 200 г/л тирама) із нормою витрати 2,5 л/т насіння та Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (діюча речовина – тебуконазол 120 г/л) із нормою витрати 0,2 л/т насіння. У період вегетації застосовували фунгіцид Байзафон, з.п. (діюча речовина – триадимефон 250 г/кг) у кількості 1 л/га. Контролем слугували 2 сорти озимої пшениці: Перлина Лісостепу та Поліська 90, які не були оброблені фунгіцидами. У кінці вегетації відбирали зразки зерна для подальших лабораторних досліджень. У всіх варіантах було проаналізовано поширення хвороби та визначено видовий склад патогенів і накопичення мікотоксинів у зерні. Біологічну ефективність розраховували на основі показника розвитку хвороби в порівнянні з контролем. Отримані експериментальні дані статистично були опрацьовані методом двохфакторного дисперсійного аналізу (Доспехов Б.А., 1985).

Лабораторні дослідження виконували на базі лабораторії визначення мікотоксинів науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного

науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Програмою досліджень було передбачено вивчення ступеня зараження зерна міксоміцетами, вилучення та ідентифікація патогенної мікофлори роду *Fusarium*, а також виділення вторинних метаболітів в отриманому урожаї пшениці озимої.

Вирішувалось також питання щодо удосконалення скринінгового методу визначення мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки.

2.2. Програма і методика досліджень

Вплив фунгіцидів на розвиток фузаріозного захворювання озимої пшениці вивчали в умовах природного інфекційного фону. Видовий склад грибів роду *Fusarium* при ендогенному ураженні зерна визначали під час проведення лабораторних досліджень.

Забруднення зерна пшениці озимої вторинними метаболітами грибів роду *Fusarium* з'ясовували у дослідках з використанням фунгіцидів у різні фази росту рослин. Під час проведення лабораторних досліджень визначали наявність мікотоксинів у зерні на виході з поля. Вияснили зв'язок між вилученими патогенами та мікотоксинами накопиченими у зерні.

На основі результатів проведених досліджень було передбачено з'ясування шляхів зменшення токсичних властивостей грибів роду *Fusarium* у польових умовах.

2.3. Методика визначення видового складу грибів роду *Fusarium* та ураженості зерна пшениці озимої

У польових дослідженнях, проведених у ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., були використані два сорти озимої пшениці (Перлина Лісостепу та Поліська 90), зерно яких було оброблене перед сівбою протруйниками Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (діюча речовина – 200 г/л карбоксина +

200 г/л тирама) із нормою витрати 2,5 л/т насіння та Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (діюча речовина – тебуконазол 120 г/л) із нормою витрати 0,2 л/т насіння. У фазу цвітіння рослини були обприскані препаратом Байзафон, з.п. (діюча речовина – триадимефон 250 г/кг) із розрахунку 1 кг на гектар. Протягом 2010-2012 рр. у кінці вегетації відбір зерна пшениці озимої для лабораторних досліджень проводили безпосередньо на дослідних ділянках, дотримуючись вимог, вказаних у працях Б. Доспехова (1985), С. Трибеля та ін. (2001), Державного реєстру пестицидів (2017). Оскільки багато видів роду *Fusarium* є патогенами на кукурудзі і пшениці, до того ж кукурудзу вони колонізують в більшому ступені, то було обрано для пшениці попередник кукурудзу.

Відібраний середній зразок представляв собою сніп із 50 продуктивних рослин, який розподіляли на колос і соломку, що мала довжину 20 см від основи колоса. Визначали ступінь зараження насіння. Колос розподіляли на три частини: а) колоскові лусочки, б) зерно, в) колосові стержні.

Зразки зерна сортів пшениці озимої Поліська 90 та Перлина Лісостепу піддавали мікологічному аналізу з виділенням культур грибів на поживних середовищах з подальшою ідентифікацією грибів загальноприйнятими методиками (Антонов Б. И, 1991, Ображей А. та інш., 1998). Ураженість зерна встановлювали шляхом пророщування. Мікологічні дослідження ураженого зерна грибами роду *Fusarium* проводили протягом 2010 – 2012 рр. на базі лабораторії Elisa-test та визначення мікотоксинів науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи згідно з методичними вказівками щодо санітарно-мікологічної оцінки та поліпшення якості кормів, затвердженими Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України № 15-14/73 від 06 березня 1998 року (Ображей А. та інш., 1998, Курасова В. В. та інш., 1971). Вивчення морфологічних структур ізольованих грибів здійснювали за допомогою світлового лабораторного мікроскопа Leica, Німеччина. Для ідентифікації видів

мікроміцетів використовували визначники вітчизняних і зарубіжних авторів (Білай В. Й., Курбацька З.О., 1990, Саттон Д. та інш., 2001).

Для ідентифікації поверхневого заспорення проводили посів на поживне середовище недезінфікованого зерна. Виявлення глибинної (ендогенної) мікофлори здійснювали після дезінфекції зерен 3 % розчином формаліну протягом 5 хвилин з подальшим промиванням у стерильній воді, в яку додавали для нейтралізації формаліну невелику кількість 5 % розчину аміаку (на 50 г води 2-3 краплі). Зерна, по 10 штук, розміщали на поверхні поживного середовища в чашки Петрі так, щоб вони не торкались одне одного. Таких чашок було не менше 5, в результаті загальна кількість зерен складала 50 штук (Ображей А. та інш., 1998, Курасова В. В., 1971).

Чашки Петрі з посівами, завернуті в стерильний пергаментний папір, поміщали в термостат і витримували за температури від 22 до 27 °С. Термін культивування – різний, залежно від виду гриба *Fusarium*, до утворення характерного спороношення. Із метою виділення чистої культури через 3–5 днів робили пересів колоній, що проросли на скошений агар Чапека з подальшим інкубуванням при t 22–27 °С. Спостереження за характером росту грибів фіксували на 7, 9 добу, та за необхідності, після 14 доби для видів з повільним ростом. Для ідентифікації грибів проводили мікроскопічне дослідження з попереднім приготуванням препарату із маленьких частинок міцелію зі спороношенням, розмістивши матеріал на предметне скло у краплі фіксуючої рідини (Курасова В. И та ін., 1971). При цьому аналізували макроморфологічні характеристики колоній, враховуючи колір, форму, консистенцію колоній, характер росту, ступінь розвитку повітряного міцелію із використанням визначників грибів (Білай В.Й., Курбацька З. О., 1990, Пидопличко Н. М., 1977, Саттон Д. та ін., 2001, Ашмарин И. П., 1962).

2.4. Визначення мікогенної токсичності зерна і кормів

Лабораторні дослідження з визначення загальної токсичності зерна пшениці озимої, відібраної на дослідному полі Державного підприємства

Дослідне господарство «Шевченківське», Київської області, Тетіївського району, протягом 2010 – 2012 рр. проводили на базі лабораторії визначення мікотоксинів науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Для встановлення токсичності використовували метод постановки біопроб на інфузорії Тетрахімена піріформіс (*Tetrahymena pyriformis*) згідно до ДСТУ 3570-97.

Експрес-метод визначення токсичності оснований на екстракції токсинів із субстрату та постановці біопроб на інфузорії Тетрахімена піріформіс (*Tetrahymena pyriformis*). Він дає змогу швидко охарактеризувати токсичну дію корму за рахунок дії токсинів на одноклітинні організми (ДСТУ 3570:1997).

Метод оснований на екстракції ацетоном з досліджуваної проби токсичних речовин мікогенного походження і наступному впливі водних розчинів цих фракцій на інфузорії Тетрахімена піріформіс. Для цього до 50,0 г наважки попередньо гомогенізованого зразка зерна, додавали ацетон 100 см³, перемішували протягом 1 год., фільтрували. Проводили повторну екстракцію ацетоном (50 см³) протягом 30 хв. Фільтровані екстракти об'єднували і випаровували на водяній бані при температурі 50-60 °С. Сухий залишок змивали 10 см³ пептонового середовища. Дослідження кожної проби проводили в трьох паралелях, для цього у три флакони вносили по 1 см³ екстракту і додавали 0,1 см³ культури інфузорії Тетрахімена піріформіс. Спостереження за морфологічними ознаками і підрахунок іфузорії проводили через 30 і 60 хв. У досліджуваних пробах обчислювали кількість живих і загиблих інфузорій, яка залежала від ступеня токсичності корма. Спостереження проводили на фоні контролю пептонового середовища. При цьому всі інфузорії в контролі були живі.

У випадку, коли всі інфузорії були живі і відсутні їхні морфологічні зміни протягом 60 хв. спостереження, зерно вважали нетоксичним. Якщо відмічались морфологічні зміни і часткова загибель інфузорій (25-30 %) протягом 60 хв.

спостереження, зерно відносили до слаботоксичного. Загибель усіх інфузорій протягом 60 хв. спостереження свідчила про токсичність зерна.

Оскільки метод постановки біопроби на інфузорії Тетрахімена піріформіс вважається скринінговим, то всі зразки, які були зафіксовані як слаботоксичні і токсичні підлягали повторному дослідженню методом постановки біопроби з подальшими мікологічним і токсикологічним аналізом.

2.5. Визначення вторинних метаболітів грибів роду *Fusarium*

Питання виявлення мікотоксинів у рослинній продукції розглядається вже досить давно, а отже існують і багато методів. Для скринінгового аналізу використовують методи тонкошарової хроматографії (ТШХ), імуноферментний аналіз (ІФА), а також вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з ультрафіолетовим детектуванням. У разі виявлення перевищення МДР у якості арбітражних методів підтвердження результатів використовують методи вискоєфективної рідинної хроматографії з флуоресцентним детектуванням та рідинну мас - спектрометрію (LS-MS/MS) (Commission Decision 2002/657/EC).

Розподіл у партії мікотоксинів є досить нерівномірним, оскільки контамінація грибами рослин відбувається в різній мірі. Виходячи з цього відбір проб грає вирішальну роль у достовірності визначення рівнів мікотоксинів. Тому регламентами ЄС встановлено необхідно критерії, яким повинні відповідати методи відбору проб. Регламентом Комісії (ЄС) № 401/2006 з доповненням Регламентом Комісії ЄС № 519/2014 встановлюють критерії відбору проб для контролю рівня мікотоксинів, а також критерії до методів офіційного їх контролю [82, 83]. Оскільки все частіше для методу контролю мікотоксинів використовують методи скринінгу, Регламентом Комісії ЄС № 519/2014 передбачено вимоги до методів скринінгу при виявленні мікотоксинів (табл. 2.1).

Методи вибирали виходячи з їх практичного застосування. Всі методи, які були використані, обов'язково проходили оцінку придатності на

відповідність критеріїв до методів контролю мікотоксинів встановлених Регламентом комісії ЄС 401/2006 (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Критерії ефективності для методів визначення мікотоксинів [83]

Рівень концентрацій, мкг/кг	Збіжність (RSD _r), %	Відтворюваність (RSD _R), %	Повернення %
Дезоксиніваленол			
> 100 – ≤ 500	≤ 20	≤ 40	60 – 110
> 500	≤ 20	≤ 40	70 – 120
Зеараленон			
≤ 50	≤ 40	≤ 50	60 – 120
> 50	≤ 25	≤ 40	70 – 120
Фумонизин В1 або В2			
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 – 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 – 110
Т-2 токсин			
50 – 250	≤ 40	≤ 60	60 – 130
> 250	≤ 30	≤ 50	60 – 130

Всі методи, які використовуються для контролю рівнів мікотоксинів повинні мати межу кількісного визначення (табл. 2.2.) нижчу за максимально допустимі рівні встановлені нормативними документами (Наказ МОЗ №368, 2013). Якщо законодавством країни не вимагають застосування певного методу для визначення рівнів мікотоксинів в сировині та харчовій продукції, лабораторії можуть обирати будь-який метод, за умови відповідності їх вимогам (табл. 2.1.), а також мати достатню межу кількісного визначення. Відповідно до встановлених вимог нами було відвалідовано методи на рівнях межі кількісного визначення вказаного у таблиці 2.2.

**Порівняльна характеристика чутливості методів визначення мікотоксинів
[20, 21, 36, 51, 57, 58, 59, 60, 107]**

Мікотоксин	Межа кількісного визначення, мг/кг			
	ТШХ [36]	ІФА [57, 58, 59, 60]	ВЕРХ [51, 107]	LS-MS [20, 21]
Зеараленон	0,02-0,04	0,017	0,008-0,05	0,025-0,5
Т-2 токсин	0,1	0,035	-	0,005-0,1
Фумонізін	-	0,05	-	-
Дезоксиніваленол	0,2	0,07	0,35	-

Імуноферментний метод (ІФА) є достатньо чутливим при досить низьких концентраціях, оскільки ґрунтується на взаємодії антигену-мікотоксину з антитілом. Оцінка реакції проводиться автоматично на спеціальній апаратурі, що дозволяє стандартизувати дані методи. Це скринінговий метод, що дозволяє за короткий термін провести дослідження великої кількості зразків. Він є досить специфічним, високочутливим, з високим відсотком відтворюваності (в межах 90 % – для Т - 2 токсину, 85-10 % – для ДОН, 80-115 % – для ЗЕА, 70-110 % – для ФУМ), про що свідчать валідаційні дані та збіжність результатів (в межах 40 % – для Т - 2 токсину, 20 % – для ДОН, 25 % – для ЗЕА, 50 % – для ФУМ) у порівнянні з іншими високоточними методами.

Метод рідинної хроматографії (ВЕРХ) з флуорисцентним детектором використовували, як підтверджувальний метод визначення мікотоксинів. Як спосіб аналізу, ВЕРХ входить до складу групи методів, яка, зважаючи на складність досліджуваних об'єктів, включає попереднє розділення вихідної складної суміші на відносно прості компоненти. Використовували імуноафінну хроматографію для очистки зразків (імуноафінні колонки виробництва R-Biopharm), що ґрунтується на утворенні комплексу антиген-антитіло. За умов

використання імуноафінних колонок метод є досить специфічним і селективним. Принцип рідинної хроматографії полягає в розділенні компонентів суміші, заснованому на відмінності в рівноцінному розподілі їх між двома фазами, що не змішуються, одна з яких нерухома, а інша рухома. Для хроматографії використовували високоточне обладнання рідинний хроматограф Varian ProStar з обернено фазною колонкою C18. За даних умов аналіз надає досить високий відсоток вилучення аналіту (для ДОН – в межах 85-94 %, для ЗЕА – в межах 97-105 %).

У якості скринінгового методу було обрано імуноферментний аналіз (ІФА) з використанням тест-наборів фірми R-Biopharm AG, Німеччина. Планшет, що входить до складу набору сенсibiliзований уловлюючими антитілами, специфічними до мікотоксину антитіл. В основі процедури конкурентного ІФА лежить взаємодія антигенів з антитілами. Молекули мікотоксину, що містяться в пробі або в стандартному розчині і молекули кон'югату мікотоксину з ферментом, конкуруючи між собою, зв'язуються антитілами до анти-мікотоксину в об'ємі розчину (конкурентний імуноферментний метод). Одночасно відбувається імуносорбція антитіл до певного мікотоксину уловлюючими антитілами на поверхні планшета. При промиванні з лунок планшета видаляються вільні молекули кон'югата мікотоксину з ферментом.

Після промивання планшета за допомогою вошера для мікропланшет PW40 виробництва Біо-Рад, в його лунки дозується розчин субстрат/хромоген. У процесі інкубації, за хімічної взаємодії з молекулами кон'югата, зв'язаними на поверхні лунки, що виступають як каталізатор, утворюються забарвлені продукти реакції. Оптична густина у лунках, вимірювана на імуноферментному рідері SunriseRC за 450 нм, обернено пропорційна концентрації мікотоксину в досліджуваних зразках. Результати аналізу обраховувались автоматично методом зовнішніх стандартів за допомогою програми RIDA®Soft.

Екстракцію дезоксиніваленолу зі зразків зерна кукурудзи проводили бідистильованою водою з подальшим розведенням та проведенням

конкурентного імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-системи Ridascreen® DON (R-Biopharm AG, Німеччина, Art № R5906), яка дозволяла виявляти досліджувану речовину на рівні від 0,07 мг/кг [58].

Екстрагування Т-2 токсину та зеараленону із зразків зерна проводили 70 % розчином метанолу з подальшим розведенням екстракту та проведенням конкурентного імуноферментного аналізу на відповідних тест-системах. Вміст зеараленону в зерні кукурудзи визначали на рівні від 0,017 мг/кг, використовуючи тест-систему Ridascreen® Zearalenone (R-Biopharm AG, Німеччина, Art №R1401) [59]. Для встановлення вмісту Т-2 токсину в зерні використовували тест-систему Ridascreen® T-2 toxin (R-Biopharm AG, Німеччина, Art № R3801), межа кількісного визначення методу складала від 0,035 мг/кг [60].

Для дослідження вмісту фумонізину в зерні використовували тест-систему Ridascreen® Fumonisin (R-Biopharm AG, Німеччина, Art № R3801), межа кількісного визначення методу складала від 0,035 мг/кг [57].

Висновки до розділу 2

1. Поширення фузаріозного захворювання та ураження зерна пшениці озимої патогенною мікобіотою роду *Fusarium* у польових умовах вивчали в кінці вегетаційного періоду (в липні місяці).

2. Ідентифікацію видового складу патогенів роду *Fusarium* виконували на зерні пшениці озимої за загальноприйнятими мікологічними методами з використанням світлової мікроскопії.

3. Визначення загальної токсичності зерна проводили біологічним методом, шляхом постановки біопроби на інфузоріях. Для виявлення природи токсину та його кількості необхідний більш детальний аналіз корму з проведенням мікологічних досліджень посівів на поживне середовище, з подальшою ідентифікацією грибів.

4. Встановлення рівнів продукування мікотоксинів у зерні пшениці озимої в польових умовах здійснювали за загальноприйнятими методами:

імуноферментного аналізу в поєднанні з методом високоефективної рідинної хроматографії для підтвердження результатів.

5. Порівняльну ефективність фунгіцидів відносно фузаріозу колоса пшениці озимої проводили шляхом дисперсійного аналізу за наступними показниками: ступінь уражуваності зерна, зменшення інфікованості зерна патогенами; зниження рівня мікотоксинів у зерні.

6. За матеріалами цього розділу автором дисертації опубліковано дві наукові праці:

Пріщенко О.В. (Камінська О.В.) Порівняємо різні методики визначення мікогенної токсичності зерна і кормів. *Зерно і хліб*. 2014. С. 2.

Пріщенко О.В. (Камінська О.В.), Новожицька Ю.М. Порівняльна характеристика сучасних методів визначення мікотоксинів. *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*. 2014. Вип. 25. С. 86. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

РОЗДІЛ 3

ВИДОВА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM* ТА ЇХ ТОКСИКОГЕННИЙ ПОТЕНЦІАЛ НА ПШЕНИЦІ ОЗИМІЙ

Пшениця займає перше місце в світі за площами посіву та валовому збору зерна. Збільшення її врожайності на 50 % відбувається за рахунок використання добрив, на 25 % – завдяки успіхам селекції і на 20-25 % за рахунок покращення системи землеробства, агротехніки та заходів захисту рослин (Шелепов В.В. та інш., 2004). Незважаючи на значний ріст врожайності пшениці, потенційні можливості сучасних сортів використовуються не в повній мірі. Разом з тим, недобір урожаю цієї культури потрібно аналізувати комплексно, оскільки до зниження маси зерна та поживних якостей призводять грибні хвороби. Такий недобір урожаю від комплексу хвороб становить у середньому 12-18 %, а в роки епіфітотій – 25-50 % і більше (Бублик Л. І., та інш., 1999). Видовий склад патогенів у різних еколого-географічних зонах може бути різний та залежить від культури-попередника (Пересыпкин В. Ф. та інш., 1989, Грисенко Г. В., Дудка Е.Л., 1980).

Дослідження ступеня ураженості пшениці озимої протягом вегетації грибами роду *Fusarium* доводить, що найбільш сприятливим до ураження патогенами є зерно. Саме це призводить до найбільших економічних збитків (втрата маси зерна та його якостей). Найбільш небезпечним є ураження зерна фузаріями в роки з вологою і теплою погодою під час вегетації (Пересипкін В. Ф., 1989, Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970). Тому є необхідність контролювати вміст мікотоксинів у зерні вже на виході з поля.

При ураженні пшениці озимої грибами роду *Fusarium* спостерігали характерне знебарвлення колоскових лусочок, що добре помітно на фоні здорового зеленого колосся. За сприятливих умов на ураженому колосі, залежно від виду збудника, проявлявся наліт міцелію білого, рожевого кольору (рис. 3.1). У кінці вегетації деякі види збудників здатні утворювати перитеції чорного кольору – сумчасту стадію гриба. При ранньому і сильному ураженні зернівка стає легкою, зморшкуватою, білою, втрачає блиск та скловидність,

ендосперм крихкий, боріздка глибока (рис. 3.2 – верхній ряд). При більш пізніх строках ураження зернівка за зовнішніми ознаками не відрізняється від здорової, але несе в собі внутрішню інфекцію.



Рис. 3.1. Колос пшениці озимої а) здоровий, б) уражений грибами роду *Fusarium* (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)



Рис. 3.2. Зерно пшениці озимої: **верхній ряд** – уражене грибами роду *Fusarium*, **нижній ряд** – здорове (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Впродовж 2010-2012 рр. нами проведена ідентифікація видового складу грибів роду *Fusarium* та встановлений зв'язок між видом гриба і продукуванням ним мікотоксинів у рослині. Виділені види, за класифікацією Білай В.Й. (1977), належать до 5-х секцій роду *Fusarium*: *Roseum*, *Discolor*, *Sporotrichiella*, *Liseola*, *Eupionnotes*. Секція *Roseum* була представлена одним видом *F. avenaceum* (Fr.) Sacc); секція *Discolor* – видами *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc (1892) і *F. graminearum* (Schwabe 1839), секція *Sporotrichiella* – трьома видами: *F. sporotrichiella* var. *sporotrichoides* (Sherb. 1915) Bilai, *F. sporotrichiella* var. *poae* (Peck) Bilai, *F. chlamidosporum* (Wollenweber et Reinking; 1925) та секція *Liseola* – видом *F. monilliforme* (Sheld., 1904). Культуральні ознаки досліджували на середовищі Чапека.

За результатами проведеного нами аналізу встановлено високий рівень ураження зерна пшениці озимої патогенами роду *Fusarium* на контрольних ділянках у ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл. протягом 2010-2012 рр. (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Видовий склад грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Показники	Виявлені види грибів		
	2010 р.	2011 р.	2012 р.
1	2	3	4
Сорт Поліська 90			
Виявлені види <i>Fusarium</i>	<i>F. graminearum</i> <i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. graminearum</i>	<i>F. graminearum</i> <i>F. moniliform</i> <i>F. sp. sporotrichioides</i>
Ураження, %	37 %	33 %	31 %

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Сорт Перлина Лісостепу			
Виявлені види <i>Fusarium</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. avenaceum</i> <i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. sporotrichioides</i> <i>F. moniliform</i> <i>F. chlamidosporum</i> <i>F. culmorum</i>	<i>F. sp. sporotrichioides</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. chlamidosporum</i>
Ураження, %	33 %	31 %	31,5 %

Проведений мікологічний аналіз видового складу патогенів роду *Fusarium* свідчить про ймовірне забруднення його мікотоксинами. Слід зазначити, що поряд із ізолятами *F. sp. sporotrichioides* та *F. sp. poae*, на уражених рослинах пшениці озимої були виділені також *F. culmorum*, *F. graminearum*, що вказує на небезпеку продукування декількох токсинів (табл. 3.1).

У результаті досліджень мікобіоти роду *Fusarium* на інфікованому зерні було ізольовано та ідентифіковано 6 видів мікроміцетів (табл. 3.2). Серед виявлених грибів (табл. 3.1), домінуюче положення займали вид *F. graminearum* – 30,4 %, а також *F. sporotrichiella* – 30,4 % представлена двома варіантами: *F. sp. poae* – 17,4 %, *F. sp. sporotrichioides* – 13,0 % (рис. 3.3).

З меншою частотою зустрічались *F. culmorum* – 17,4 %, по 8,7 % – види *F. chlamidosporum* і *F. monilliforme* та 4,3 % – *F. avenaceum* (рис. 3.3).

У наших дослідженнях не всі види *Fusarium* стабільно виявляли з року в рік на пшениці озимій. Деякі види виділяли лише в певні роки: *F. avenaceum* - 2010 року, *F. culmorum* і *F. moniliforme* (*verticillioides*), *F. chlamidosporum* - 2011, 2012 рр. (табл. 3.2).

Найстабільнішим за частотою вилучення протягом проведення нами польових досліджень був вид *F. sporotrichiella*. *F. graminearum* домінував в

окремі роки, однак в 2010 р. на пшениці було виявлено його близько 57 %, тоді як у 2011 році частота інокуляції складала 12,5 %. (табл. 3.2).

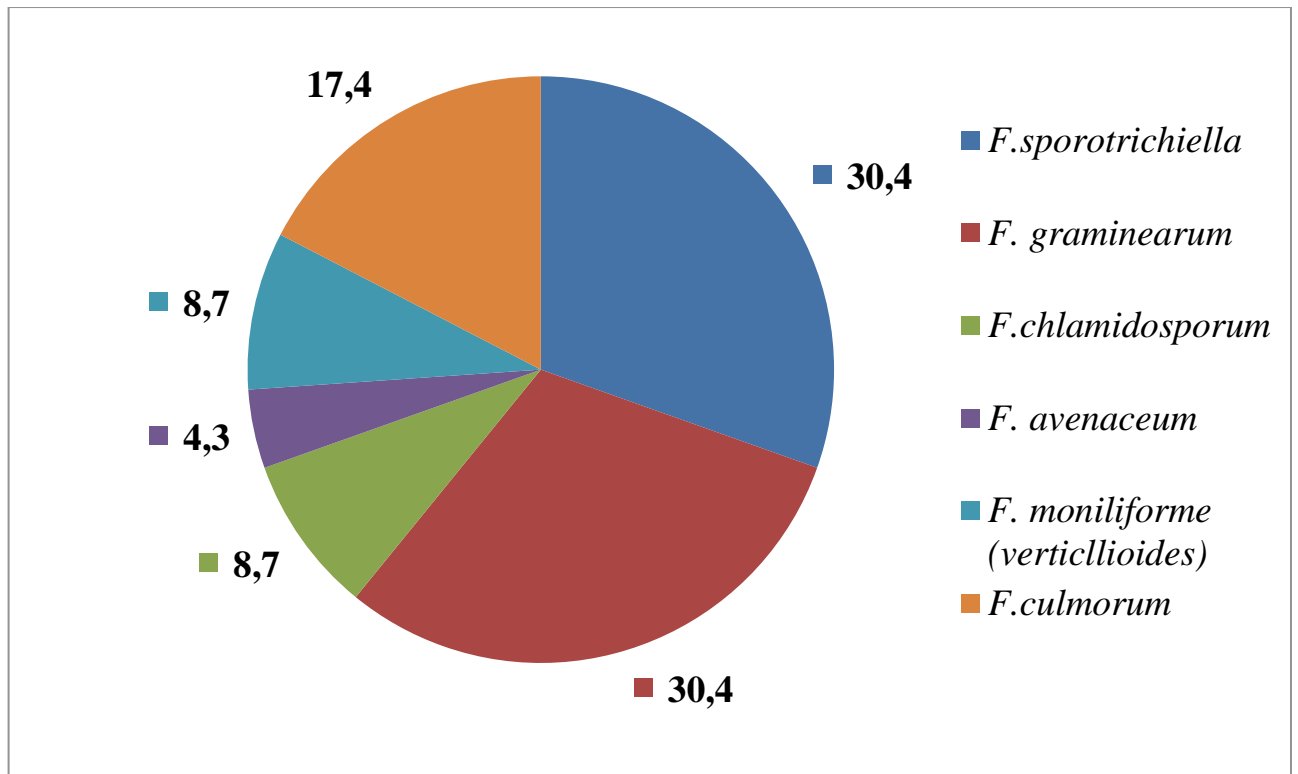


Рис. 3.3. Інфікування пшениці озимої різними видами *Fusarium*, %
(ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Таблиця 3.2

**Частота ізоляції (питома частка, %) видів роду *Fusarium*
на пшениці озимій сортів Перлина Лісостепу та Поліська 90 (ДП ДГ
«Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)**

Вид	2010 р.	2011 р.	2012 р.
<i>F. sporotrichiella</i>	28,6	37,5	25,0
<i>F. graminearum</i>	57,1	12,5	25,0
<i>F. culmorum</i>	-	25,0	25,0
<i>F. chlamidosporum</i>	-	12,5	12,5
<i>F. avenaceum</i>	14,3	-	-
<i>F. moniliforme (verticillioides)</i>	-	12,5	12,5

За даними В. Й. Білай (1970), значну роль у біології розмноження і збереження окремих видів *Fusarium* відіграють мікроконідії. У грибів роду секцій *Elegans*, *Sporotrichiella*, наприклад, ці морфологічні структури утворюються в значній кількості і нерідко можуть знову проростати в тій же культурі. Саме такі особливості даного виду могли слугувати значному його поширенню протягом 2010-2012 рр: від 25 до 37,5 % від загальної кількості виділених ізолятів (табл. 3.2).

На думку В.Й. Білай (1970), міцелій гриба секції *Sporotrichiella*, що розповсюджується по клітинних оболонках, здатний пронизувати наскрізь тканину ендосперму та викликати глибоке ураження тканин зерна.

Однією з форм перебування патогенних фузаріїв у ґрунті є хламідоспори, утворення яких характерно для *F. roseum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* (Strange R. M, Smith H. A., 1978; Sutton J. C., 1982, Марланд А. Г., 1935). Ця властивість дає можливість *F. graminearum* зберігатись у ґрунті за різних умов навколишнього середовища і тим самим забезпечило інфікування рослин з року в рік.

На зростання рівня ураження фузаріями впливає також неправильна сівозміна, так як певні види злаків мають однакові захворювання, а отже і спільних патогенів. Оскільки попередника пшениці озимої на дослідних ділянках було вибрано саме кукурудзу, висока частота вилучення ізолятів *F. graminearum*, близько 30,4 % (табл. 3.2), як основного патогену кукурудзи є закономірною.

Висновки до розділу 3:

1. У Правобережному Лісостепу України зерно пшениці озимої можуть одночасно колонізувати декілька видів грибів роду *Fusarium*. Серед них домінуючими є види *F. sporotrichiella* – 30,4 %, *F. graminearum* – 30,4 %, *F. culmorum* – 17,4 %.

2. Види *F. sporotrichiella*, *F. graminearum*, паразитують на зерні пшениці озимої стабільно, що обумовлює можливість продукування ними

небезпечних мікотоксинів.

3. Менш розповсюдженими на пшениці озимій у наших дослідженнях були види *F. avenaceum* – 4,3 %, *F. moniliforme* (*verticillioides*) – 8,7 %, *F. chlamidosporum* – 8,7 %.

4. У виробничих умовах великий ризик інфікування пшениці озимої грибами роду *Fusarium* сприяє попередник її у сівозміні – кукурудза.

5. За матеріалами цього розділу автором дисертації опубліковано дві наукові праці:

Пріщенко О. В. (Камінська О. В.), Ю. М. Новожицька, О. В. Балагура. Які ж грибкові інфекції найчастіше зустрічаються на озимій пшениці в зоні Правобережного Лісостепу України. Зерно і хліб. 2011. Вип. 2. С. 66-67.

Пріщенко О.В. (Камінська О.В.). Токсигенні властивості грибів роду *Fusarium* за ураження зерна пшениці озимої. Карантин та захист рослин. 2013. Вип. 5. С. 4-5.

РОЗДІЛ 4

ЗАБРУДНЕННЯ МІКОТОКСИНАМИ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ В УМОВАХ ПРИРОДНОГО ІНФЕКЦІЙНОГО ФОНУ

Результати збору даних SCOOP, датовані вереснем 2003 року, про наявність токсинів *Fusarium* в їжі і оцінки раціону населення країн-членів ЄС, показують, що токсини *Fusarium* широко поширені в харчовому ланцюгу в ЄС. Основними джерелами дієтичного споживання токсинів *Fusarium* є продукти, отримані із злаків, зокрема пшениці і кукурудзи (Commission Recommendation, 2006/583/EC).

Регламент Комісії (ЄС) № 1881/2006 та «Технічні умови для пшениці ДСТУ 3768-2010» передбачають максимальні межі для певних мікотоксинів у зерні пшениці для різних цілей використання. Максимальні рівні, встановлені для токсинів *Fusarium* зернових і продуктах їх переробки, враховують токсикологічну оцінку, результати оцінки впливу і можливість досягнення таких рівнів (Commission Recommendation, 2006/583/EC).

Визначення вмісту мікотоксинів (дезоксініваленолу, Т - 2 токсину, зеараленону, фумонізину) у зерні ми проводили за допомогою імуноферментного аналізу на тест-системах Redascreen (виробництва R - Biopharm, Німеччина) [58, 59, 60]. На основі результатів трьохрічних досліджень було з'ясовано здатність грибів роду *Fusarium* продукувати мікотоксини в зерні вже під час його дозрівання.

Було встановлено, що близько 58,3 % проб містили фумонізін у кількості менше ніж 0,5 мг/кг, проте у певні роки у контрольних варіантах на сорті Поліська 90 та Перлина Лісостепу було виявлено токсин на рівні 0,541; 0,572 та 1,18 мг/кг, відповідно (табл. 4.1). Фумонізін є продуцентом *Fusarium moniliforme*, а ризик його утворення виявлено удвох пробах. Для продукування і накопичення мікотоксину у великих кількостях були недостатні умови. Цей вид *Fusarium* є менш агресивним патогеном для пшениці і є більш характерним на качанах кукурудзи. Оскільки максимально допустимі рівні фумонізину для пшениці не регламентовані, стає обов'язковим аналіз ризиків небезпеки

забруднення пшениці фумонізином у разі, якщо культурою-попередником була кукурудза.

Таблиця 4.1

Результати досліджень на вміст фузарієтоксинів у необробленому зерні пшениці озимої (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., протягом 2010-2012 рр.)

Сорт	Вміст мікотоксинів, мг/кг		
	2010 р.	2011 р.	2012 р.
Фумонізін			
Поліська 90	<0,05	<0,05	0,541
	<0,05	<0,05	0,572
Перлина Лісостепу	<0,05	1,18	0,132
	<0,05	<0,05	0,104
Зеараленон			
Поліська 90	<0,02	0,020	0,116
	<0,02	0,103	0,105
Перлина Лісостепу	0,072	0,174	0,038
	<0,02	0,196	0,048
Т-2 токсин			
Поліська 90	<0,035	0,083	0,087
	0,036	0,06	0,085
Перлина Лісостепу	0,042	0,120	0,116
	<0,035	0,116	0,119
Дезоксиніваленон			
Поліська 90	2,471	1,733	1,105
	1,759	1,642	1,379
Перлина Лісостепу	1,686	1,051	0,761
	2,931	1,636	0,515

Встановлено, що в польових умовах гриби роду *Fusarium* продукують фумонізін у незначній кількості у зерні пшениці, яку можна регулювати під час

закладки зерна в зерносховища шляхом його просушування, очищення та сортування.

Забруднення зерна пшениці озимої зеараленоном, у кількостях 0,05 до 0,1 мг/кг (більше $\frac{1}{2}$ МДР), мало місце в 8,3 % перевірених зразків (рис. 4.1). Найвищий рівень зеараленону, що утворювався в польових умовах в зерні пшениці озимої сорту Перлина Лісостепу, досягав рівня 0,196 мг/кг на контролі, при встановленому максимально допустимому рівні (МДР) 0,1 мг/кг, та найнижчої межі детектування тест-системи – 0,017 мг/кг (табл. 4.1). За результатами наших досліджень встановлено 41,7 % зразків з небезпечним вмістом зеараленону, більше зазначеного МДР (рис. 4.1). В даних випадках рівень токсину зафіксовано на рівнях 0,103 – 0,196 мг/кг.

Результати досліджень в різні роки мають незначні відмінності за встановленими рівнями токсинів (таб. 4.1), що безпосередньо пов'язано із наявністю патогенів у зерні пшениці.

Високий рівень ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium*, у більшості випадків декількома видами патогенів у контрольній групі провокував продукування токсинів у зерні. Спостерігалась тенденція накопичення мікотоксину ДОН у кількості від 1,051 до 2,931 мг/кг і Т-2 токсину у кількостях в межах 0,116–0,119 мг/кг, що перевищували максимально-допустимий рівень (МДР) (табл. 4.1).

Серед перевірених проб пшениці озимої за вмістом фузаріотоксинів у зерні переважали дезоксиніваленол (100 %), Т-2 токсин (66,7 %), зеараленон (50 %), фумонізін В1 (41,7 %). Мало місце перевищення гранично – допустимих рівнів мікотоксинів: 83,3 % всіх проб містило дезоксиніваленол, 33,3 % – Т-2 токсин, 41,7 % – зеараленон (рис. 4.1). Причиною великого відсотку проб з небезпечним рівнем токсинів може слугувати контамінація зерна, у більшому ступені продуцентами дезоксиніваленолу – *F. graminearum* (30,4 %), та Т-2 токсин – *F. sporotrichiella* (30,4 %).

І хоча ДОН є найменш токсичним з трихотеценових, він є одним із найбільш часто виявлених мікотоксинів, його присутність вважається індикатором можливої присутності інших більш токсичних трихотеценів [7].

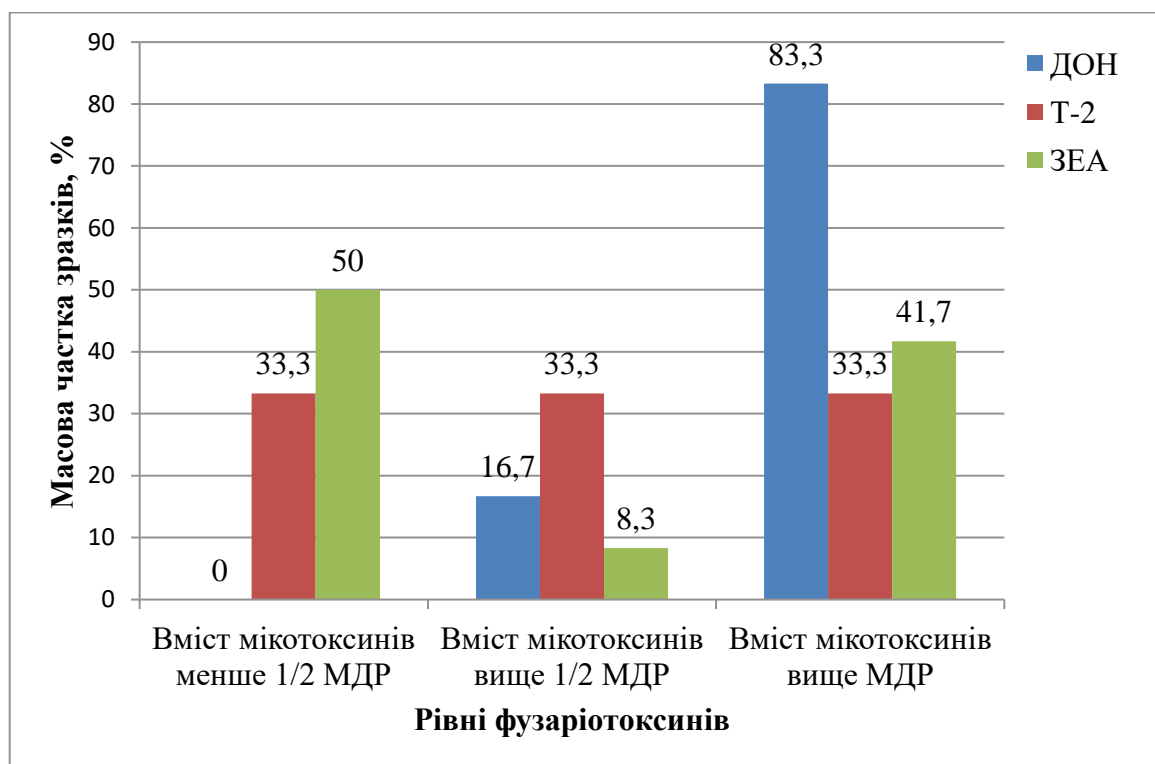


Рис. 4.1. Рівні утворення фузаріотоксинів у зерні пшениці озимої в польових умовах, % (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Т-2 токсин нами було виявлено в 33,3 % перевічених проб зерна, вміст мікотоксину був у незначній кількості – менше $\frac{1}{2}$ максимально-допустимого рівня (МДР) і близько 33,3 % перевищував МДР (рис. 4.1). Між тим, 33,3 % зразків містили Т-2 токсин у кількостях від $\frac{1}{2}$ МДР (0,05 мг/кг) до МДР (1,0 мг/кг). Саме ці зразки несуть ризики до накопичення вмісту під час зберігання. Отже зерно, що містить токсинів більше за $\frac{1}{2}$ МДР, потребує додаткового періодичного контролю, а також впровадження додаткових заходів обмеження накопичення цих речовин. Враховуючи вищезазначене, виникає необхідність використання скринінгових методів аналізу з чутливістю на рівні $\frac{1}{2}$ МДР.

Накопичення в зерні дезоксиніваленолу головним чином спостерігалось при ураженні зерна *F. sporotrichiella*, *F. graminearum*, *F. clamosporum*, а також часто в різних комбінаціях з іншими видами *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. moniliform*, *F. culmorum*. При контамінації зерна озимої пшениці грибами *F. sporotrichiella*, *F. culmorum*, *F. clamosporum* у ньому було виявлено Т-2 токсин у кількостях, що перевищували максимально допустимі рівні. Однак виділення декількох видів грибів роду *Fusarium* в одному зразку та визначення при цьому декількох мікотоксинів одночасно не дозволяє стверджувати, який саме із них вид є продуцентом того чи іншого мікотоксину. Також встановлено, що певні види грибів, такі як *F. sporotrichiella*, *F. culmorum*, *F. graminearum* у різному поєднанні мають високий токсиногенний рівень до продукування ДОН і Т-2 токсину.

Висновки до розділу 4

1. За результатами наших досліджень в інфікованому зерні пшениці озимої грибами роду *Fusarium* у різній кількості накопичувались мікотоксини. Крім того, в 16,7 % перевірених зразків мало місце одночасне утворення декількох токсинів дезоксиніваленолу у поєднанні із зеараленолом або 25 % – дезоксиніваленолу, зеараленолу і Т-2 токсину у кількостях, що перевищують максимально допустимий рівень.

2. У польових умовах гриби роду *Fusarium* продукували в зерні головним чином дезоксиніваленол та Т-2 токсин. Ураження зерна високопатогенними видами, з частотою виділення *F. graminearum* 30,4 %, *F. sporotrichiella* 30,4 %, напряду пов'язані з продукуванням небезпечних рівнів (вище МДР) дезоксиніваленолу – 83,3 %; Т-2 токсину – 33,3 % та зеараленону – 41,7 %. Вміст токсинів досягав рівнів дезоксиніваленолу від 1,379 до 2,931 мг/кг; Т-2 токсину – від 0,116 до 0,119 та зеараленону – від 0,103 до 0,196 мг/кг.

3. Встановлено, що в польових умовах гриби роду *Fusarium* у зерні пшениці озимої продукують фумонізін у незначних кількостях. В одному випадку вміст його в зерні досягав рівня 1,18 мг/кг.

4. Доведено, що високий вміст токсинів спостерігався при ендоефітному знаходженні міцелію у зерні. На цей факт впливав ступінь ураження зернівки грибами роду *Fusarium* у 34 % перевірених проб пшениці озимої.

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ПРИ ВИЯВЛЕННІ МІКОТОКСИНІВ

Зміни погодних умов, еколого – географічних зон потребують постійного вивчення їх впливу на якість зерна та продуктів його переробки. Інформація щодо патогенів зернових культур постійно змінюється. Це пов'язано з появою нових сортів зернових, удосконалення агротехнічних заходів, умовами зберігання та переробки зерна. Найнебезпечнішими патогенами, що знижують врожай, продукують токсини, і тим самим знижують якість зерна є мікроміцети патогенних грибів, що уражують зерно та представляють для нас інтерес, умовно можна поділити на дві групи. До першої групи (*Penicillium sp*, *Aspergillus sp.*) відносяться так звані складські гриби, сапротрофи, що попадають у зернові й грубі корми, головним чином, у період збирання врожаю, але інтенсивно розвиваються в "мертвій" масі корму, особливо при порушенні режимів зберігання. Друга група включає польові гриби. Вони охоплюють види грибів роду *Fusarium sp.*, токсини яких найнебезпечніші для тварин і людей (Руда М. Є. і інш., 2019). Продуцентами мікотоксинів є багато видів мікроскопічних грибів. Дослідники не можуть точно визначити їхню кількість через виявлення все нових видів і токсинів. З огляду на широкий діапазон температурно-вологісних параметрів росту даних грибів, не можна виключати можливість контамінації кормів мікроскопічними грибами в будь-який період року. Імовірність токсиноутворювання зростає в зимово-весняний сезон, особливо в поєднанні з поганими несприятливими умовами зберігання, коли виникають "вогнища горіння", тобто зони усередині маси зерна, де концентрація токсинів дуже висока.

На рослинах злакових культур можуть одночасно колонізувати кілька видів фузаріум, один із яких є домінуючим. Кожний з видів при колонізації суцвіть і зерна здатний синтезувати й забруднювати одержану продукцію одночасно дезоксиніваленолом та зеараленоном або Т-2 токсином та

зеараленоном. У різних країнах існує певний перелік тих чи інших мікотоксинів, згідно якого перевіряють корми на показники безпеки. Максимально допустимі рівні (МДР) цих токсинів відрізняються залежно від ступеню ризику їхньої дії на людину та тварину. Нажаль не існує норм, що враховують сумарну кількість мікотоксинів у зерні та продуктах його переробки. При виявленні в кормі одного токсину в кількості допустимого МДР, дозволяється використовувати його для продовольчих та кормових цілей, оскільки він вважається безпечним для живого організму. У випадку з виявленням декількох токсинів у межах МДР, корм може бути більш токсичним і негативно впливати на живий організм. Однак такі корми, згідно з діючими нормативними документами, також допускаються до споживання. А отже через певний проміжок часу є необхідність повторного токсикологічного аналізу кормів, які містять навіть незначні кількості мікотоксинів або міцелію грибів, у зв'язку з тим що останні з часом можуть накопичуватись при наявності в кормі міцелію грибів-продуцентів. Враховуючи це, важливо визначати загальну або сумарну токсичність корму.

Існують дані, що плісєневі гриби набувають токсичних властивостей тільки в період їх спороношення, коли у міцелії грибів починається аутоліз (ферментативний розпад складових речовин), у результаті чого утворюються отруйні продукти розпаду. Вчені стверджують, що саме в цій стадії розвитку плісєневі гриби стають небезпечні для тварин (Вильнер А. М., 1959).

Сьогодні у напрямку консервування вологого зерна (16-35 %) перед закладкою до зерносховищ багато компаній пропонують препарати-інгібітори грибів на основі пропіонової кислоти (низькомолекулярна органічна кислота). Такий консервант впливає на міцелій плісєневих грибів, дріжджі, бактерії, знищує комах та кліщів та є безпечним для людей та тварин (Малінін О.А. і інш., 2002). Але молекули мікотоксинів мають більш стійку хімічну структуру, і нині відсутні дані щодо детоксикації мікотоксинів за рахунок пропіонової кислоти. Оскільки встановлено, що фузарії здатні утворювати токсини в зерні в польових умовах, то у таких випадках за відсутності міцелію гриба

мікотоксини можуть бути присутні в ньому вже до закладки на зберігання. Тому у таких випадках при дослідженні зерна є імовірність відсутності росту грибів при мікологічному посіві за наявності мікотоксинів та виявлення загальної токсичності в досліджуваному зразку.

Існує багато методів визначення токсичності для зернових, в основному постановка біопроби на найпростіших організмах (інфузорії тетрагімени піріформіс (*Tetrahymena pyriformis*), інфузорії колподі (*Colpodasterehii*) та інфузорії стилоніхії (*Stylonychia*), на білих мишках (для шроту, макухи). Всі ці методи є скринінговими і потребують додаткового підтвердження токсичності мікогенного походження (Вильнер А. М., 1959, Ображей А. Ф. і інш., 1996, Малінін О. А. і інш., 2002).

Оскільки розподіл мікотоксинів у партії загалом негомогенний, зразки, що надходять на дослідження необхідно гомогенізувати з надзвичайною обережністю. Кожну лабораторну пробу слід мілко подрібнити та ретельно перемішати до отримання однорідної маси (Commission Regulation (EC) № 401/2006). Враховуючи це, проби, що надходять на дослідження, мають бути відібрані належним чином, відповідно до Регулювання комісії (EC) № 401/2006, щодо методів відбору зразків та методів аналізу для офіційного контролю рівнів мікотоксинів у продуктах харчування.

За результатами наших досліджень встановлено частоту виявлення токсичних зразків протягом 2010-2012 рр. у ДП ДГ «Шевченківське», Тетіївського р-ну, Київської обл. Слаботоксичні і токсичні зразки, насамперед були виявлені у контрольних варіантах, а також у варіантах з використанням протруйників насіння, де спостерігався найбільший ступінь ураження зерна 38 та 22 % відповідно. Кількість токсичних зразків на дослідних ділянках з контролем у різні роки сильно варіювала – від 25 до 100 % (рис. 5.1). Це безпосередньо пов'язано з тим, що на даних варіантах був виявлений великий відсоток зразків з вмістом мікотоксинів, який перевищував МДР: дезоксиніваленол – у 67 % всіх перевірених зразках; Т-2 токсин – у 33 %; ЗЕА – у 42 % (рис. 5.2). На контрольних дослідних ділянках також відмічено високу

частоту виділення грибів *F. graminearum*, *F. sporotrichiella* (по 30,4 %). Це доводить мікогенну природу токсичності, що викликана вторинними метаболітами роду *Fusarium*.

У варіантах із протруєнням насіння частота виявлення токсичних зразків складає 12,5 %, слаботоксичних – 17 %, оскільки зафіксований великий відсоток зразків забруднених високими концентраціями дезоксиніваленолу – 17 % і Т-2 токсину – 8 % (рис. 5.2).

У дослідях із застосуванням обприскування у період вегетації Байзафон, з.п. (триадимефон 250 г/кг) всі зразки були не токсичні, що пов'язано із зниженням уражуваності зерна до 4-10 %, а також відсутністю зразків із високим вмістом токсинів.

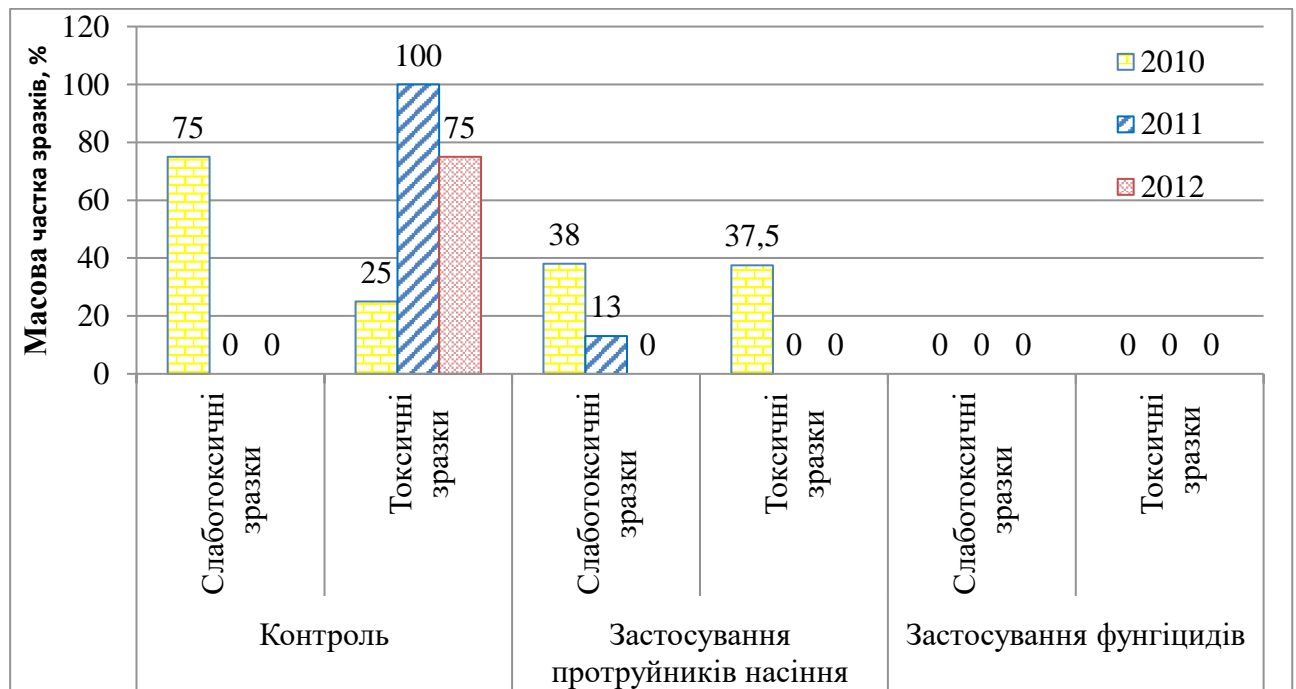


Рис. 5.1. Частота виявлення токсичних зразків зерна пшениці озимої, % (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

З'ясовано причини токсичності зразків зерна пшениці озимої. Існує пряма залежність між виявленими мікотоксинами з високими концентраціями, а також між токсичністю зразків.

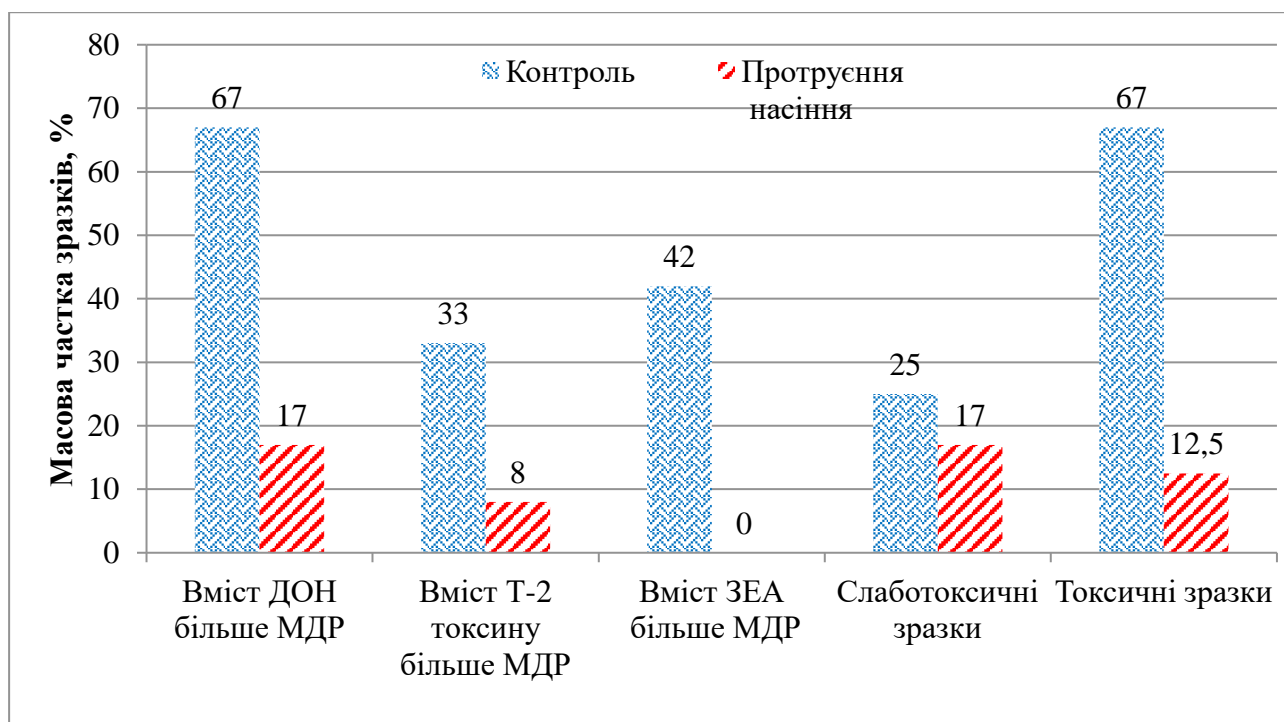


Рис. 5.2. Наявність зразків зерна пшениці озимої із небезпечним вмістом токсинів, % (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., 2010-2012 рр.)

У зв'язку з тим, що токсичність зерна безпосередньо пов'язана із ендегенним ураженням його грибами роду *Fusarium*, у результаті чого утворюються мікотоксини, спостерігали виявлення токсичності в тих зразках, що містили два або три мікотоксини із концентраціями, які перевищували $\frac{1}{2}$ МДР і навіть більше за МДР. Зразки, в яких перевищення МДР було встановлено лише по одному дезоксиніваленолу біопроба давала слаботоксичну реакцію на найпростіших і на шкірі кроля.

Метод визначення токсичності не є специфічний до певного роду токсинів і може бути як додатковим для токсикологічного аналізу зерна та встановлення рівня безпечності зернової продукції.

Висновки до розділу 5

1. Визначення токсичності мікогенного походження в зерні та продуктах його переробки потребує проведення комплексного аналізу, що включає постановку біопроби на токсичність, вилучення міцелію токсичного

гриба, підтвердження його токсичних властивостей та визначення вторинних метаболітів грибів (мікотоксинів) у субстраті

2. У випадку, наявності росту пліснявих грибів при мікологічному аналізі, необхідно уточнити токсичні властивості даних видів грибів, оскільки не всі вони мають токсикогенний потенціал.

3. Експрес - метод постановки біопроб на Тетрахімені періформіс виявився чутливим до наявності декількох мікотоксинів у великих кількостях, що може слугувати швидким контролем для виявлення небезпечних зразків. Недоліком методу є нездатність виявити природу токсину та його кількість. Для цього необхідно проводити більш детальний аналіз зерна з мікробіологічними посівами на поживне середовище з подальшою ідентифікацією грибів. У даному випадку при виявленні токсичних грибів та їх вторинних метаболітів можливо стверджувати, що токсичність корму спровокована наявністю токсичних грибів.

4. Встановлено, що зразки з Т-2 токсином у поєднанні із високим вмістом дезоксиніваленолу мали різко виражену токсичну реакцію. Зразки де було визначено лише високий вміст дезоксиніваленолу мали слаботоксичну реакцію, тоді як зразки із зеараленоном показували нетоксичну реакцію. Одже метод постановки біопроб підтверджує токсичність зерна у випадку високих концентрацій декількох токсинів Т-2 токсину і дезоксиніваленолу.

5. При виявленні в рослинній продукції токсичних грибів та детальному вивченні їх токсичних властивостей, є підстави стверджувати, що токсичність корму спровокована наявністю вторинних метаболітів.

6. За матеріалами цього розділу автором дисертації опублікована наукова праця: Пріщенко О. В. Порівняємо різні методики визначення мікогенної токсичності зерна і кормів. Київ: Зерно і хліб, 2014. 2. С. 14-15

РОЗДІЛ 6

ЗНИЖЕННЯ УРАЖЕННЯ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ГРИБАМИ РОДУ *FUSARIUM* ТА РІВНІВ МІКОТОКСИНІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФУНГІЦИДІВ

Результати наших досліджень щодо накопичення в зерні пшениці озимої мікотоксинів свідчать про доцільність оцінювання ефективності застосування фунгіцидів з урахуванням наступних показників: зниження поширення захворювання на колосках; зменшення інфікованості зерна; підвищення врожаю; зниження рівня мікотоксинів у зерні.

Оцінювання біологічної ефективності фунгіцидів ми проводили в умовах природного інфекційного фону на сортах Перлина Лісостепу і Поліська 90. У досліді використовували: протруйники Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (діюча речовина – 200 г/л карбоксина + 200 г/л тирама) із нормою витрати 2,5 л/т насіння, Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (діюча речовина – тебуконазол 120 г/л) із нормою витрати 0,2 л/т насіння, фунгіцид Байзафон, з.п. (діюча речовина – триадимефон 250 г/кг) із розрахунку 1 кг на гектар. Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. і Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. використовували для протруєння насіння, Байзафон, з.п. застосовували для обприскування рослин в період вегетації. Контролем слугували рослини, не оброблені фунгіцидами. В усіх варіантах було проаналізовано поширення хвороби, видовий склад патогенів та накопичення мікотоксинів у зерні.

6.1. Ефективність застосування фунгіцидів проти ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium*.

Стверджувати, що хвороби рослин викликані одним видом збудника або навіть конкретним штамом не завжди відповідає дійсності, оскільки у природі мікроорганізми знаходяться у складних взаємозв'язках. Існує небагато повідомлень про синергічні взаємодії патогенів при захворюванні рослин, але

механізми цих взаємовідносин на сьогодні вивчені не достатньо. Наприклад, кореневі гнилі пшениці викликаються грибами *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* та *F. sporotrichioides*, а фузаріозу колосу – комплексом видів, насамперед, *Fusarium graminearum*. Кореневі гнилі кукурудзи спричиняються *F. meridionale* та *F. boothii*, а ураження качанів – *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, *Pyrenochaeta indica*, *F. moniliforme*, *F. graminearum* та *F. oxysporum* (Білай В. Й., Підоплічко Н. М., 1970). Відомості про взаємодію збудників хвороб, зокрема про механізми їх впливу на рослину, можуть бути важливими для розроблення захисних заходів.

Потрібно зазначити і те, що більшість досліджень здійснено науковцями на окремих штаммах мікроорганізмів, вирощених у чистій культурі. Тому стає важливим з'ясування міжвидової взаємодії патогенних грибів роду *Fusarium* в умовах природного інфікування, а також вплив на їх агресивність і токсиногенні властивості. Зміни балансу мікрофлори в агрофітоценозі потребує розгляду питання застосування окремих діючих речовин фунгіцидів. Це завжди створює складність при розробці ефективних заходів захисту.

Не можна забувати про контроль ураження пшениці озимої грибними хворобами, особливо у роки зі сприятливими для цього умовами. Фузарії набули найбільшого поширення і уражують рослину на всіх етапах її розвитку. Так, уже після зимівлі варто робити мікологічний аналіз рослин на ураження кореневими гнилями і проводити оцінку видового складу патогенів, що дасть змогу більш чітко прогнозувати подальші дії стосовно обробки посівів. Відомо, що саме на рослинних рештках накопичується велика кількість патогенних мікроміцетів, тому якісна їх заробка дуже актуальна при розміщенні озимої пшениці після кукурудзи і багаторічних трав. Патогени зберігаються і поширюються через насіння, ось чому необхідно перевіряти посівний матеріал перед закладкою на зберігання та обробляти насіння протруйниками перед сівбою (Lombaert G. A. і інш., 2002).

Складність контролювання фузаріозу полягає у неможливості впливати на різні патогени однаково ефективно. Оскільки деякі зразки у наших

дослідженнях були контаміновані двома, а деколи і трьома видами грибів роду *Fusarium*, вміст мікотоксинів у зерні в різних варіантах був досить нестабільним. Залежно від ґрунтово-кліматичних умов регіонів у них переважають різні типи збудників. Так, у наших дослідженнях у контрольному варіанті (без застосування фунгіцидів) спостерігалось домінування певних видів в межах варіанту: *F. sporotrichiella* – 30,4 %, *F. graminearum* – 30,4 %, *F. culmorum* – 17,4 % (рис. 3.1).

Вид *F. sporotrichioides* був найбільш поширеним на колосі пшениці озимої, проте його токсикогенний потенціал дещо пригнічувався більш агресивним видом – *F. graminearum* у контролі (без використання протруйників насіння і обприскування рослин). Під дією фунгіциду Байзафон, з.п. в поєднання із протруйниками насіння на пшениці озимій спостерігали зменшення частоти контамінації зерна *F. graminearum* в середньому в 7 раз, *F. sporotrichiella* в 1,8 раз та відсутність *F. culmorum* (табл. 6.1). Зменшення відсотку виділених ізолятів високо патогенних видів безпосередньо вплинуло на зниження ступеня ураження зерна.

В умовах природного інфекційного фону ми спостерігали нестійке виявлення певних видів *Fusarium* у розрізі різних років (додаток Б), що в свою чергу вплинуло на неоднозначний вплив фунгіцидів на наявність грибів. При використанні протруйників насіння знижувався відсоток виділених ізолятів виду *F. graminearum* в 4,6 рази, *F. moniliforme*, *F. culmorum* – в 4 рази. Проте до дії протруйників насіння були достатньо стійкими види *F. sporotrichiella* (var. *sporotrichioides*, var. *poae*), *F. chlamidosporum*, *F. avenaceum* (табл. 6.1). На варіантах із використанням протруйників насіння без обприскування фунгіцидами спостерігали збільшення відсотку виявлення *F. sporotrichiella* у 1,4 рази (табл. 6.1).

Ефективність дії фунгіцидів на зниження інфікування зерна грибами роду *Fusarium* з'ясовували шляхом встановлення ступеня ураження зерна. Максимальний рівень ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* спостерігали протягом 2010-2012 рр. у контрольному варіанті (без застосування

протруйників насіння та обприскування рослин фунгіцидом у фазу цвітіння) на сортах Поліська 90 – 33,7 %, та Перлина Лісостепу – 31,7 % (табл. 6.2).

Таблиця 6.1

Співвідношення виділених видів *Fusarium* на пшениці озимій залежно від застосування фунгіцидів, % (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., 2010-2012 рр.)

Варіант		Кількість виділених ізолятів, %						
протруйник	фунгіцид	<i>F. sporotrichiella</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. chlamidosporum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. moniliforme</i> (<i>verticillioides</i>)	<i>F. culmorum</i>	<i>F. dimerum</i>
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		8,2	8,2	2,4	1,2	2,4	4,7	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	11,8	1,2	-	1,2	-	2,4	-
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	10,6	2,4	3,5	-	1,2	-	-
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	4,7	3,5	1,2	1,2	-	2,4	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	4,7	2,4	3,5	1,2	1,2	-	1,2
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	4,7	-	1,2	2,4	3,5	-	-

Обробка насіння протруйниками призвела до зменшення відсотку уражуваності зерна в середньому на 6,5 % при використанні Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. та на 8,5 % – Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. За умови одноразового

обприскування рослин фунгіцидом Байзафон, з.п. у поєднанні із використанням протруйників отримали зниження ураження зерна на 25,3 – 26 %.

Таблиця 6.2

Зниження рівня ураження зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium* при використанні фунгіцидів, % (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Поліська 90		Перлина Лісостепу	
протруйник насіння	фунгіцид	ураження, %	різниця із контролем	ураження, %	різниця із контролем
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		33,7	—	31,7	—
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	28,7	-5	23,7	-8
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	26,0	-7,7	22,3	-9,3
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	19,3	-14,3	17,3	-14,3
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	8,0	-25,7	5,7	-26
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	8,3	-25,3	6,3	-25,3
НІР _{0,5}			4,76		3,7

Проте, у варіанті із обприскуванням фунгіцидом Байзафон, з.п. без використання протруйників насіння зниження уражуваності зерна спостерігали

лише на 14,3 % (табл. 6.2). Істотної різниці між двома сортами пшениці озимої відносно уражуваності зерна грибами роду *Fusarium* не спостерігали.

Ефективність застосування фунгіциду Байзафон, з.п. у наших дослідках становила 44 % без використання протруйників насіння 79,1 % – в поєднанні з протруйником Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. і 77,6 % – при використанні в комплексі з Вітаваксом 200 ФФ, в.с.к. Технічна ефективність протруйників без використання обприскування фунгіцидом була в 3 – 4 рази нижчою (26,1 % – у варіанті з Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. і 19,9 % – Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с.). Отже, за незначного прогнозованого розвитку хвороби, за результатами наших досліджень, достатньо одноразового застосування фунгіциду у фазу цвітіння з обов'язковим протруєнням насіння для зменшення впливу патогенів на рослини під час вегетації.

Для успішного розвитку зернового господарства велике значення має отримання високих і сталих урожаїв озимої пшениці, яка займає чільне місце в зерновому балансі країни. Важливою умовою високого врожаю зерна є оптимальний розвиток вегетативної маси пшениці. Цьому фактору сприяє багато чинників, найбільш важливими з них є: сівозміни, вибір сорту або гібриду та правильне використання фунгіцидів (Lombaert G., 2002).

Шкідливість від ураження озимої пшениці фузаріями проявляється у недоборі врожаю та скритого ураження, що призводить до зниження поживних якостей зерна та накопичення мікотоксинів, небезпечних для людей і тварин (Lombaert G., 2002.) Запобігання використанню інфікованого зерна для виробництва продуктів харчування або кормів, у значній мірі сприяє мікологічний контроль.

Обліки ступеня ураження рослин, проведені в кінці стадії повної стиглості зерна пшениці озимої, засвідчують, що обприскування фунгіцидом Байзафон, з.п., після використання різних протруйників Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. та Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. в обмеженні розвитку фузаріозу пшениці озимої, забезпечило різну технічну ефективність. На сорті Поліська 90 ураження патогенами контрольного варіанту складало 33,7 %, а урожайність – 5,6 т/га.

Кращим варіантом на даному сорті було використання протруйника Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. і обприскуванням рослин Байзафон, з.п. Урожайність при цьому перевищувала контроль на 1,03 т/га. На рослинах сорту Перлина Лісостепу розвиток хвороби зменшився відповідно на 26 % – урожайність складала 5,72 т/га, що на 0,95 т/га перевищувало контроль (табл. 6.2; 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив використання фунгіцидів на врожайність зерна пшениці озимої грибами роду *Fusarium*, т/га (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Сорт Поліська 90		Сорт Перлина Лісостепу	
протруйник насіння	фунгіцид	врожайність, т/га	різниця із контролем	врожайність, т/га	різниця із контролем
1	2	3	4	5	6
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		4,56	-	4,77	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	4,67	0,11	4,90	0,13
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	4,65	0,093	4,85	0,08
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	4,87	0,31	5,0	0,23
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	5,58	1,026	5,72	0,95

Продовження таблиця 6.3

1	2	3	4	5	6
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	5,17	0,61	5,47	0,7
НІР_{0,5}			0,57		0,65

Нижчі показники ефективності на сорті Поліська 90 виявлено у варіанті з обробкою фунгіцидом Байзафон, з.п. із протруюванням насіння Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. Уражуваність патогенами на якому склала 8,3 і 6,3 %, а урожайність – 5,17 т/га, що на 0,61 т/га вище за контроль на Поліській 90 та на 0,7 т/га, ніж на Перлині Лісостепу за тих же норм і умов обробітку (табл. 6.2; 6.3).

Найвищі показники врожайності зафіксовано за умови використання протруйника Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. з оприскуванням фунгіцидом Байзафон, з.п. на сорті Поліська 90 – 5,3 т/га; 5,5 і 5,95 т/га протягом 2010, 2011 і 2012 рр. та на сорті Перлина Лісостепу – 5,5 т/га; 6,0 і 5,65 т/га відповідно.

6.2. Контамінація зерна пшениці озимої мікотоксинами при використанні фунгіцидів

Використання фунгіцидів на основі тебуконазолу, комплексу тираму і карбаксину, триадимефону, не дає змоги знищити збудників фузаріозу в повному обсязі, а лише зменшує інфекційне навантаження на колос і ефективно знижує його токсикогенні властивості.

У дослідях з використанням протруйників без обприскування рослин фунгіцидом у фазу цвітіння інфекційний фон на зерні був досить високий – від 22,3 до 28,7 %, що призвело до накопичення мікотоксинів в одержаному урожаї (табл. 6.2, 6.4). Захисні заходи часто дають належний результат від ураження кореневої системи, але не можуть гарантувати захист колоса від інфікування патогенними грибами. Це доводить, що в роки інтенсивного розвитку хвороби не можна нехтувати додатковими заходами обробки посівів від грибних

інфекцій. Оцінювання фітосанітарного стану в період вегетації, виявлення потенційно небезпечних організмів допомагає правильно спрямувати проведення заходів захисту на озимій пшениці та врахувати запобігання врати врожаю.

У варіантах із значним рівнем інфікування колоса грибами роду *Fusarium* застосуванням лише протруйників насіння Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. та Вітавакс 200 ФФ., в.с.к., по відношенню до забруднення Т - 2 токсину протягом 2010-2012 рр., засвідчили неістотне зниження вмісту Т - 2 токсину, що безпосередньо пов'язане із незначним зниженням ступеня ураження зерна пшениці озимої – в середньому на 5 – 9,3 % (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Зниження рівня продукування Т-2 токсину в зерні пшениці озимої при використанні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну Київської обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Вміст Т-2 токсину, мг/кг	Різниця із контролем	Ефективність застосування фунгіцидів, %
протруйник насіння	фунгіцид			
1	2	3	4	5
Сорт Поліська 90				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,064	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,059	-0,006	8,55
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,048	-0,016	20,21
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,047	-0,017	26,94
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,037	-0,027	42,23

Продовження таблиці 6.4

1	2	3	4	5
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,051	-0,013	20,21
НІР_{0,5}			0,04	
Сорт Перлина Лісостепу				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,091	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,073	-0,019	20,62
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,057	-0,035	21,84
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,05	-0,041	50,91
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,036	-0,056	60,95
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,038	-0,053	47,13
НІР_{0,5}			0,061	

У результаті цього спостерігалось утворення небезпечних рівнів Т-2 токсину (від 0,116 до 0,118 мг/кг), що перевищувало МДР (рис. 6.1, Додаток В).

При додатковому обробітку рослин у фазу цвітіння фунгіцидом Байзафон, з.п. ураженість зерна патогенами роду *Fusarium* знизилась на 25,6 %, зафіксовано також неістотне зниження рівнів Т-2 токсину (табл. 6.1). Композиція Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. і Байзафон, з.п. була найбільш ефективною у зниженні вмісту Т-2 токсину (42,2 % у рослинах сорту Поліська 90 та 61 % – Перлина Лісостепу) (табл. 6.4). Менш ефективними виявились варіанти з протруєнням насіння Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т) у поєднанні з обприскуванням Байзафон, з.п., що знизило вміст Т-2 токсину на

20,2 % у рослинах сорту Поліська і 47 % – у рослинах сорту Перлина Лісостепу (табл. 6.4). Усі задіяні фунгіциди приводили до неістотного зниження вмісту Т-2 токсину, хоча й існувала певна варіабельність між сортами. Даний показник є досить нестабільний в межах одного варіанта на різних сортах у зв'язку із розбіжностями в ступені ураження зерна пшениці та нерівномірним ураженням посівів колосу грибами *F. sp. sporotrichioides*, *F. sp. poae*, *F. avenaceum* у різні роки.

Оскільки середні рівні Т-2 токсину в контролі були наближені до МДР і складали від 0,036 до 0,118 мг/кг (додаток В) протягом 2010-2012 рр. відповідно (рис. 6.1, табл. 6.4), зафіксовано зниження на небезпечні рівні (близько $\frac{1}{2}$ МДР, що дорівнює 0,05 мкг/кг) при використанні фунгіциду для обприскування рослин. Це підтверджує необхідність введення додаткових заходів обробітку посівів фунгіцидами і протруєння насіння.

Протягом 2010-2012 рр. виявлено досить високий рівень забруднення зерна пшениці озимої дезоксиніваленолом у контролі. Так, середній вміст токсину знаходився на рівні 2,21; 1,52; 0,91 мг/кг, відповідно по роках (рис. 6.3, додаток Г).

Результати досліджень, щодо застосування Вітавакса 200 ФФ, в.с.к. для протруєння насіння по відношенню до забруднення ДОНом протягом різних років, мали неоднакову ефективність. Так, у 2010 р. зниження рівнів вмісту дезоксиніваленолу відбулось на 31,6 %, тоді як у 2012 р. – на 94 % (рис. 6.3, додаток Г). Таку різницю можна пояснити, використовуючи результати виявлення патогенів у 2010 р. на зерні пшениці озимої *F. graminearum* і *F. sp. var. poae*, зокрема, у варіантах із застосуванням протруйників, тоді як у 2012 р. були виділені гриби *F. sp. var. poae*, *F. sp. sporotrichioides*, *F. chlamidosporum*.

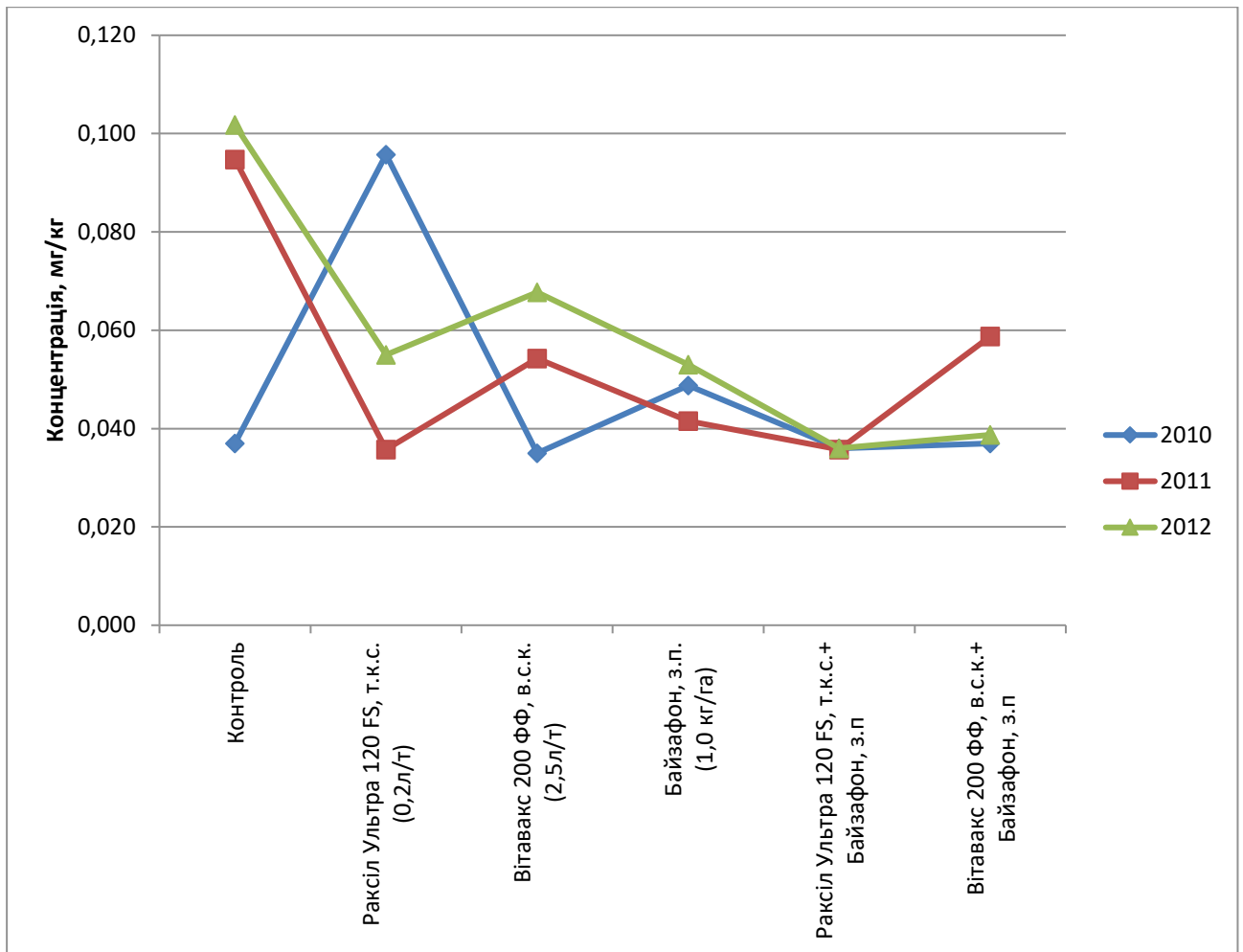


Рис. 6.1. Вміст Т-2 токсину в зерні пшениці озимої залежно від застосування фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївський р-н, Київська обл., 2010-2012 рр.)

Для контролювання вмісту в зерні пшениці озимої ДОНу найбільш ефективним виявилось використання Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. з обприскуванням Байзафон, з.п. – 82 % та 93 %, а також не менш ефективним – застосування протруйника Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. у поєднанні з обприскуванням Байзафон, з.п. – 95 % та 92 % на сортах Поліська 90 та Перлина Лісостепу відповідно (рис. 6.3, табл. 6.5). Обробіток посівів у період вегетації був більш ефективним, порівняно із застосуванням протруєнням насіння, що також зменшило в середньому ураженість зерна патогенами роду *Fusarium* на 26 % (див. табл. 6.2).

Протягом 2010-2012 рр. ДОН показував найбільші перевищення МДР у зерні пшениці озимої на контрольних варіантах (без протруєння насіння та обприскування рослин у фазу цвітіння) і досягав рівнів від 1,242 до 2,309 мг/кг (додаток Г, рис. 6.3). Використання фунгіциду Байзафон, з.п. (1 кг/га) після протруювання насіння приводили до істотного зниження вмісту ДОНу на небезпечні рівні – менше 0,5 мг/кг.

Таблиця 6.5

Зниження вмісту дезоксиніваленолу в зерні пшениці озимої при використанні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р - ну, Київська обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Вміст ДОНу, мг/кг	Різниця із контролем	Ефектив- ність фун- гіцидів, %
протруйник насіння	фунгіцид			
1	2	3	4	5
Сорт Поліська 90				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		1,682	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,687	-0,995	59,1
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,961	-0,721	42,9
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,505	-1,176	70
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,305	-1,376	81,8
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,086	-1,596	94,9
НІР₀₅			0,83	

Продовження таблиці 6.5

1	2	3	4	5
Сорт Перлина Лісостепу				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		1,430	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,597	-0,833	58,3
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,455	-0,976	68,2
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,233	-1,197	83,7
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,105	-1,325	92,7
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,124	-1,306	91,4
НІР_{0,5}			0,9	

Результати трьохрічних досліджень Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. та Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. у продовж 2009-2012 рр. засвідчили відсутність істотної різниці впливу використання протруйників насіння на зниження вмісту дезоксиніваленолу. В середньому вміст дезоксиніваленолу в варіантах з протруйниками коливався в середньому в межах 0,642 мг/кг – для Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. та 0,708 мг/кг – для Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (табл. 6.5).

Одноразова обробка посівів пшениці озимої фунгіцидом із класу триазолів (триадимефон, 1,0 кг/га) у фазу цвітіння після протруєння насіння Раксілом Ультра 120 FS, т.к.с. або Вітаваксом 200 ФФ, в.с.к., може призвести до суттєвого зниження вмісту мікотоксину (ДОН) – в середньому на 90 % (табл. 6.5) і підвищення врожайності зерна порівняно із контролем на 0,82 т/га (табл. 6.3).

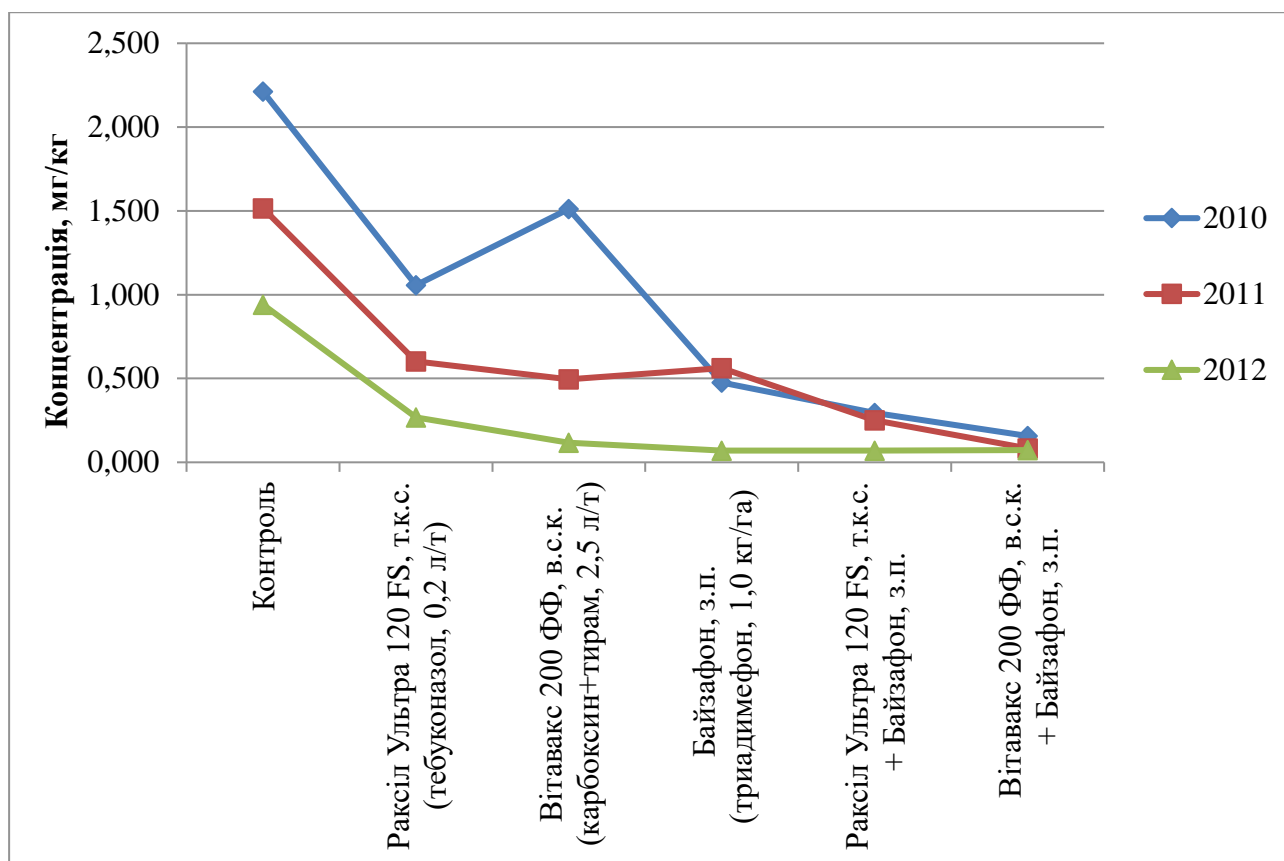


Рис. 6.2. Вміст дезоксиніваленолу в зерні пшениці озимої при застосуванні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл.)

Відповідно імплементації міжнародних угод на шляху до євроінтеграції все більше гармонізуються європейські нормативні документи, що регламентують вимоги до показників безпеки. Рівні мікотоксинів також гармонізовано відповідно до Регламенту ЄС 1881/2006, що зазначено в оновленому ДСТУ 3768:2019 «Пшениця. Технічні умови». Відповідно до чого максимально допустимий рівень зеараленону став більш жорстким (МДР=0,1 мг/кг), що значно посилює контроль над даним токсином.

Середній рівень зеараленону в пшениці озимій протягом 2010 – 2012 рр. на контрольному варіанті сорту Поліської 90 досягав 0,063 мг/кг, Перліні Лісостепу – 0,091 мг/кг (таб. 6.6). За умови використання комплексу протруйника Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. або Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. з обприскуванням Байзафон, з.п. спостерігалось істотне зниження токсину в зерні сорту Перлина Лісостепу. Різниця в інфікуванні патогенами у різних варіантах протягом трьох років, обумовила різницю у забрудненні зерна

зеараленоном. Таким чином відмічено істотний вплив дії фунгіцидів (76,2 – 80,4 %) у варіантах із високим рівнем забруднення зерна сорту Перлина Лісостепу. Проте, незначне зниження рівнів зеараленону – 43,7 – 57,9 % при використанні обприскування рослин Байзафоном, з.п. зафіксовано при низьких рівнях забруднення токсином у контрольному варіанті сорту Поліська 90 (табл. 6.6).

Таблиця 6.6

Вміст зеараленону в зерні пшениці озимої при використанні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Вміст ЗЕА, мг/кг	Різниця із контролем	Ефектив- ність дії фунгіцидів, %
протруйник насіння	фунгіцид			
1	2	3	4	5
Поліська 90				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,063	—	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,034	-0,029	46,3
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,048	-0,015	24,1
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,027	-0,037	57,9
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,03	-0,033	52,7
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,036	-0,028	43,7
НІР₀₅			0,056	

Продовження таблиці 6.6

1	2	3	4	5
Перлина Лісостепу				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,091	—	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,040	-0,051	56,5
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,018	-0,073	80,4
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,021	-0,070	76,9
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,022	-0,069	76,2
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,034	-0,057	62,9
НІР₀₅			0,06	

На підставі наукових думок і оцінки раціону харчування встановлено максимальні рівні фумонізинів у кукурудзі та продукції виготовленої з неї. Це пов'язано з дослідженнями SCF, які показують, що кукурудза і кукурудзяні продукти можуть бути дуже сильно забруднені фумонізинами. Тому виникає необхідність вживання заходів для запобігання потрапляння їх до харчового ланцюга. Дані про наявність великих концентрацій цього токсину в пшениці і продукції з неї відсутні. У зв'язку з цим нині не розроблені МДР для вмісту фумонізинів у продукції із різних зернових культур.

У наших дослідженнях встановлено, що 42 % зразків зерна пшениці озимої в контролі, без використання протруйників та обприскування рослин фунгіцидом, були контаміновані фумонізином на рівнях від 0,104 до 1,18 мг/кг (рис. 6.3., табл. 6.7.). Вміст токсину на рівні 1,18 мг/кг був встановлений лише в 2011 році у пшениці сорту Перлина Лісостепу. Тобто вміст фумонізину у 75 %

досліджених проб знаходився в межах до 0,5 мг/кг. Це пов'язано з видовим складом патогенів на зерні пшениці, оскільки лише в 8,7 % зразків було виявлено *F. moniliforme (verticillioides)*– продуцент фумонізіну (див. рис. 3.1)

Таблиця 6.7

Вміст фумонізіну в зерні пшениці озимої при використанні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київської обл., 2010-2012 рр.)

Варіанти		Вміст фумонізіну, мг/кг			
протруйник	фунгіцид	2010 р.	2011 р.	2012 р.	Середнє за 3 роки
1	2	3	4	5	6
СОРТ ПОЛІСЬКА 90					
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		<0,05	<0,05	0,556	0,219
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	<0,05	<0,05	0,053	0,051
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	<0,05	<0,05	0,152	0,084
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,096	<0,05	<0,05	0,066
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,072	<0,05	<0,05	0,057
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<0,05	0,096	<0,05	0,065
НІР₀₅					0,21

Продовження таблиці 6.7

1	2	3	4	5	6
СОРТ ПЕРЛИНА ЛІСОСТЕПУ					
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		<0,05	0,615	0,118	0,219
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	<0,05	<0,05	<0,05	0,05
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	<0,05	0,175	<0,05	0,084
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,068	0,066	<0,05	0,066
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<0,05	<0,05	<0,05	0,057
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,051	0,126	<0,05	0,065
НІР₀₅					0,35

Істотної різниці щодо вмісту фумонізину між варіантами з протруюванням насіння Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т) або Вітавакс 200 ФФ, в.с.к (2,5 л/т) і обприскуванням фунгіцидом Байзафон, з.п. (1,0 кг/га) не спостерігали, оскільки рівні фумонізину в усіх випадках знаходились на низькому рівні, менше 0,13 мг/кг (табл. 6.6). Ефективність від використання протруйників з обприскуванням фунгіцидом досягала від 70 до 81 % (додаток Е).

За умови високої ураженості зерна (32-34 %), продукування вторинних метаболітів грибів роду *Fusarium* у польових умовах, як видно з наведених

результатів на рисунку 6.3, є суттєвим. Відсоток зразків із вмістом дезоксиніваленолу більше МДР при цьому становив 67 %, зеараленону – 42 %, Т-2 токсину – 33 %. Проте, використання фунгіцидів дає можливість зменшити вміст мікотоксинів до небезпечних рівнів (рис. 6.3).

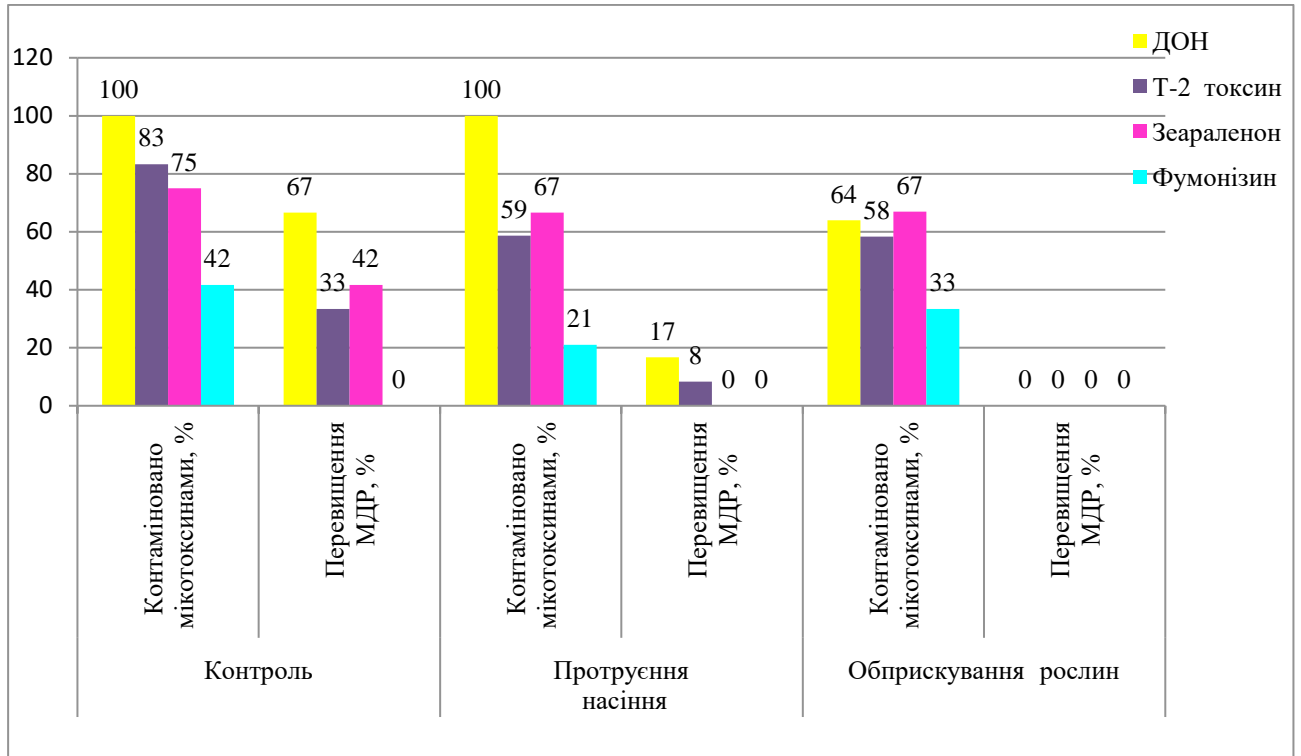


Рис. 6.3. Кількість проб зерна пшениці озимої із забрудненням мікотоксинами при застосуванні фунгіцидів (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., 2010-2012 рр.)

Спостерігалось також зниження загальної кількості контамінованих зразків. При застосуванні протруйників насіння кількість зразків забруднених небезпечним рівнем ДОНу (більше МДР) знизилось на 50 %, ЗЕА – на 42 % та Т-2 токсину – на 25 % (рис. 6.3). За умови додаткового обприскування колосу триадимефоном, зразки пшениці озимої не містили небезпечних рівнів токсинів.

Протруйники насіння в наших дослідженнях не контролювали види *Fusarium* на колосі, що продукують мікотоксини, оскільки рівні ДОН і Т-2 залишались досить високими (більше за $\frac{1}{2}$ МДР), в середньому по роках – близько 0,675 мг/кг і 0,059 мг/кг, відповідно (табл. 6.4, 6.5). Це доводить, що в

роки інтенсивного розвитку хвороб не можна нехтувати обробкою посівів фунгіцидами від грибних інфекцій у період вегетації. Для зниження недобору врожаю пшениці озимої внаслідок ураження її видами *Fusarium* дуже важливо проводити своєчасно моніторинг розвитку збудників хвороб і використовувати ці показники при плануванні захисних заходів.

Висновки до розділу 6

1. З отриманих даних протягом трирічного польового дослідження встановлено зниження врожайності пшениці озимої (0,95-1,09 т/га) у варіантах з високим інфекційним рівнем уражування (33,7 і 31,7 %) сортів Поліська 90 і Перлина Лісостепу. Втрати врожаю в середньому складають 0,95-1,03 т/га порівняно з варіантом із застосуванням протруювання насіння Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. в комбінації із обприскуванням фунгіцидом Байзафон, з.п., де ураження патогенами складала від 5,7 до 8,0 %.

2. У дослідях з використанням протруйників інфекційний фон на зерні був досить високий. Ураженість в середньому складала 25 %, що призвело до накопичення мікотоксинів у зерні озимої пшениці на рівнях вищих за МДР 17 % проб з дезоксиніваленолом і 8 % – із Т-2 токсином. Цей захід не може гарантувати захист колоса від інфікування патогенними грибами, та зменшити утворення мікотоксинів. На варіантах зі значним рівнем інфікування *F. graminearum* застосування лише протруйників не призводило до істотного зниження мікотоксинів: Т-2 токсину, ЗЕА і фумонізіну.

3. Застосування фунгіцидів змінює баланс мікрофлори колосу пшениці в різній модифікації, що впливає на забруднення зерна мікотоксинами. Серед протестованих нами фунгіцидів проти фузаріозу пшениці озимої найбільш ефективним було застосування Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. з обробкою посівів у фазу цвітіння Байзафон, з.п. Досягнуто рівня контролювання фузаріозу колосу в середньому на 25 %, а також зниження в середньому рівнів мікотоксинів: ДОН – на 87 %, ЗЕА – на 65 %, ФУМ – на 76 %, Т-2 токсину – на 52 %. Відзначено ефективність застосування фунгіцида Байзафон, з.п. (1,0 кг/га) щодо контролю фузаріозу колосу та істотне зниження

вмісту дезоксиніваленолу, хоча й існувала незначна варіабельність між сортами.

4. Перевищення максимально-допустимих рівнів (МДР) мікотоксинів дезоксиніваленолу, Т-2 токсину спостерігали лише у варіантах з протруйниками і в контролі, що підтверджує ефективність використання фунгіцидів під час вегетації. Отримані результати можуть свідчити про ефективність профілактичного оприскування з метою захисту зерна пшениці озимої від зараження, поширення та розвитку збудників фузаріозу, а також знижує токсиногенні властивості патогенів.

5. Використання протруйників створювало ефект пригнічення токсичних властивостей грибів роду *Fusarium* лише у поєднанні з оприскуванням фунгіцидом.

РОЗДІЛ 7

МОНІТОРИНГ ВМІСТУ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM* У ФУРАЖНОМУ ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ

У зв'язку із виникненням значного ризику дії мікотоксинів на організми тварин і людей передбачено здійснення контролю їх накопичення у зерні кукурудзи та продуктах його переробки відповідно до встановлених рівнів. Для цього згідно з ДСТУ 4525:2006 «Кукурудза. Технічні вимоги», встановлені максимально допустимі рівні (МДР) мікотоксинів у зерні кукурудзи. Хоча споживання токсинів грибів роду *Fusarium* з їжею для всієї популяції і дорослих часто менше, ніж відповідні допустимі добові дози (ДДД), для груп ризику, таких як немовлята і маленькі діти, в деяких випадках вони близькі або навіть перевищують ДДД.

Присутність токсинів грибів роду *Fusarium* у продуктах для годування тварин може привести до токсичних ефектів у всіх видів тварин (Руда М. Є., 2019). Вони впливають на здоров'я тварин, хоча сприйнятливість серед видів тварин значно варіюється. Ріст грибів та здатність їх до продукування мікотоксинів залежать від цілого ряду чинників, таких як температура, рівень рН, вологість, концентрація кисню й вуглекислого газу, склад субстрату, наявність антагоністів, а також умов і термінів зберігання зерна (Hueza I. M і інш., 2014).

До особливо небезпечних і широко розповсюджених вторинних метаболітів грибів роду *Fusarium*, що накопичуються у злакових культурах, відносяться дезоксиніваленол (ДОН), Т-2 токсин, зеараленон та фумонізини (Hueza I. M і інш., 2014), вміст яких регламентується нормативними документами (табл. 7.1). Небезпека цих мікотоксинів для тварин і людини пов'язана із здатністю викликати інтоксикацію в організмі як кожного окремо, так і в різному поєднанні, проявляючи синергічну дію (Bennett J. W., 2003).

Для утворення Т-2 токсину гриби потребують температуру від 0 до 32°C, але максимальний синтез відбувається за температури нижче 15 °C

(Фисинин В. И., Сурай Питер, 2012). За токсичністю Т-2-токсин належить до першого класу небезпеки. У дозі 2 мг/кг живої маси він викликає виражені клінічні ознаки інтоксикації у великої рогатої худоби, крім того володіє різко вираженою дерматонекротичною дією (Фисинин В.И., Сурай Питер, 2012).

Таблиця 7.1

Максимально допустимі рівні (МДР) мікотоксинів у зерні кукурудзи, мг/кг (ДСТУ 4525:2006)

Мікотоксини	Зерно кукурудзи, що використовується для	
	продовольчих, технічних потреб та експортування	кормових потреб
Зеараленон, мг/кг	1000	2000 – 3000
Т-2 токсин, мг/кг	100	200
Дезоксиніваленол (ДОН), мг/кг	500 – 1000	1000 – 2000

Оскільки одним із важливих критеріїв безпечності продуктів харчування та кормів для тварин є рівень і комбінація в них різних мікотоксинів, контроль вмісту їх є досить актуальним питанням сьогодення.

Дослідження та аналіз сезонної динаміки накопичення мікотоксинів грибів роду *Fusarium* у зерні кукурудзи, призначеного для продовольчих і технічних потреб та експорту ми проводили на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ).

Для визначення вмісту дезоксиніваленолу (ДОН), Т-2 токсину та зеараленону протягом 2014 – 2017 рр. було використано 325 зразків зерна кукурудзи, які надходили з елеваторів та зерносховищ Волинської, Житомирської, Львівської, Київської, Львівської, Сумської, Тернопільської, Рівненської, Черкаської, Чернівецької, Харківської (Додаток Ж).

За результатами проведених досліджень була встановлена частота виявлення мікотоксинів у зерні кукурудзи. Аналіз одержаних результатів показав, що найпоширенішими мікотоксинами у зерні кукурудзи були ДОН та Т-2 токсин, у меншій мірі – зеараленон (табл. 7.2)

Таблиця 7.2

Забруднення зерна кукурудзи мікотоксинами під час зберігання в елеваторах та зерносковищах протягом 2014-2017 рр., (загальна кількість зразків 325 шт.)

Рівні контамінації	Мікотоксин	Кількість зразків зерна, штук	Частка до загальної кількості проб, %
Вміст мікотоксинів в межах МДР для продовольчих, технічних потреб, та експорту	дезоксиніваленол	83	25,5
	Т-2 токсин	91	28
	зеараленон	36	11
Вміст мікотоксинів в межах МДР для кормових потреб та непридатних для продовольчих і технічних потреб	дезоксиніваленол	17	5,2
	Т-2 токсин	20	6,2
	зеараленон	1	0,3
За вмістом мікотоксинів непридатні для кормових потреб	дезоксиніваленол	13	4
	Т-2 токсин	8	2,5
	зеараленон	-	0
Виявлено одночасно комбінацію декількох мікотоксинів	2 мікотоксини	69	21
	3 мікотоксини	6	1,8

Серед мікотоксинів, вміст яких перевищував МДР у зерні кукурудзи, основними були ДОН та Т-2 токсин, рівень зеараленону дещо менше виявляли в концентраціях, що перевищували МДР у зерні, призначеному для

продовольчих, технічних потреб. У загальній кількості зерна кукурудзи 11,7 % партій було непридатним для продовольчих і технічних потреб, проте вміст мікотоксинів становив допустимий рівень для кормових потреб. При цьому основними мікотоксинами, що контамінували зерно кукурудзи були дезоксиніваленон та Т-2 токсин. У той же час за вмістом цих мікотоксинів виявлено 6,5 % партій зерна, непридатного навіть для кормових потреб (табл. 7.2).

Слід відзначити також, що кількість зразків зерна, контамінованого одним видом мікотоксинів, становила 21 % від загальної кількості та 29 % від кількості невідповідних вимогам проб. Серед зерна кукурудзи, яке надходило для досліджень, було виявлено партії з контамінованим зерном одночасно двома і навіть трьома мікотоксинами в різних комбінаціях. Частка їх складала 23 % від загальної кількості проб і 71 % від кількості невідповідних проб, що є результатом контамінації зерна декількома видами грибів роду *Fusarium*. Такі зразки можуть створювати небезпеку для людей в разі використання цієї сировини для виробництва харчових та кормових продуктів (табл. 7.2).

Нами проведено аналіз сезонної динаміки накопичення мікотоксинів грибів роду *Fusarium* у зерні кукурудзи, призначеному для продовольчих і технічних потреб та експорту (рис. 7.1). Діапазон температур, який створюється в процесі зберігання зерна у зерносховищах, особливо у холодний і перехідний сезони року, впливає на прояв токсичних властивостей грибів роду *Fusarium*.

Як свідчать дані наших досліджень вміст Т-2 токсину в зерні кукурудзи, яке надходило для досліджень восени, був мінімальний і не перевищував в середньому 55,8 мкг/кг, тоді як у зимовий, весняний та літній періоди відмічали накопичення цього мікотоксину до рівня 234; 328; 363 мкг/кг відповідно (табл. 7.2).

Крім Т-2 токсину, в зерні кукурудзи було виявлено зеараленон, який є лактоном фенольної резорцилової кислоти і володіє переважно естрогенною дією в організмі тварин.

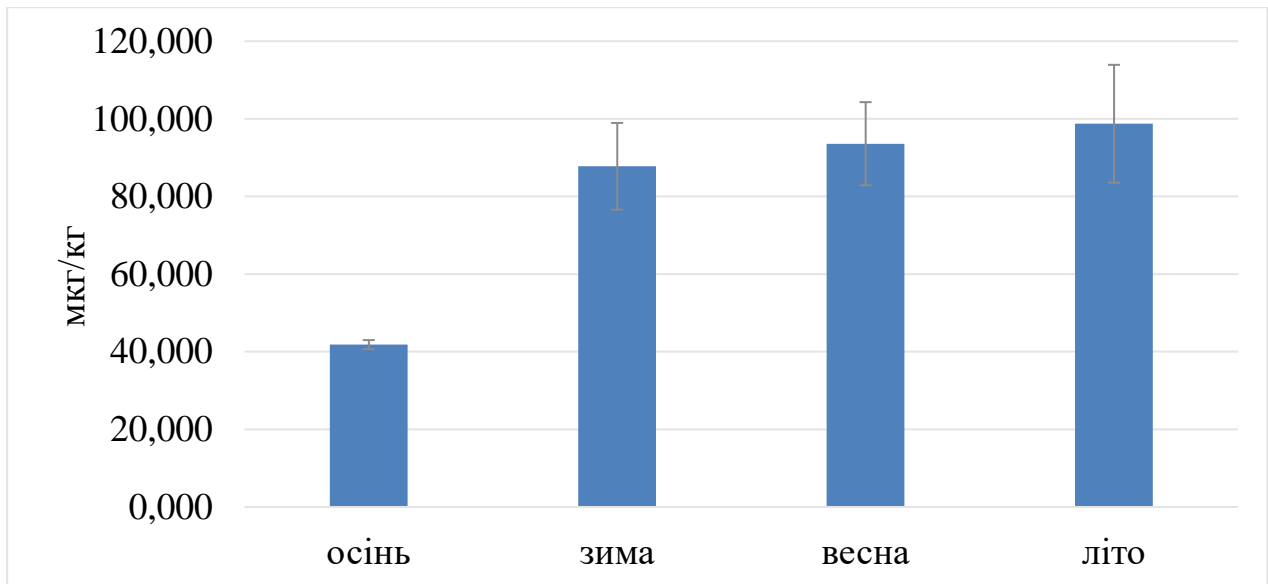


Рис. 7.1. Вміст Т-2 токсину в зерні кукурудзи під час зберігання в елеваторах та зерносховищах протягом 2014-2017 рр.

Коливання рівня зеараленону в зерні кукурудзи, яке надходило на дослідження в різні сезони року, знаходилося в межах МДР (рис. 7.2). Однак найнижчий вміст його виявлено в осінній період (від 22,3 до 37,2 мкг/кг), що певною мірою пов'язано з контамінацією зерна *F. graminearum* (Schwabe), *F. culmorum* (W.G.Sm.), *F. cerealis* (Cooke), *F. equiseti* (Corda) Sacc. і *F. verticillioides* (formerly *F. moniliforme* Sheldon) у польових умовах та незначним терміном його зберігання після збирання врожаю. В зимовий, весняний і літній періоди максимально виявлені рівні мікотоксину складали 136,3, 182; 1841 мкг/кг відповідно (рис. 7.2, табл. 7.2).

Аналіз зразків зерна кукурудзи, яке надходило в лабораторію протягом зимового і весняного періодів, показав, що концентрація зеараленону в ньому була вищою майже в 1,5 – 2 рази, порівняно зі зразками, які надходили в осінній період, що вказує на накопичення цього мікотоксину протягом періоду зберігання (рис. 7.2). Зразки партій зерна кукурудзи, які надходили на дослідження в лабораторію в літній період, містили значно більше зеараленону – максимальний вміст складав 1841 мкг/кг (табл. 7.2)., що може бути пов'язано з його контамінацією спорами грибів-продуцентів у період вегетації кукурудзи та довготривалого зберігання в умовах сприятливих для росту грибів.

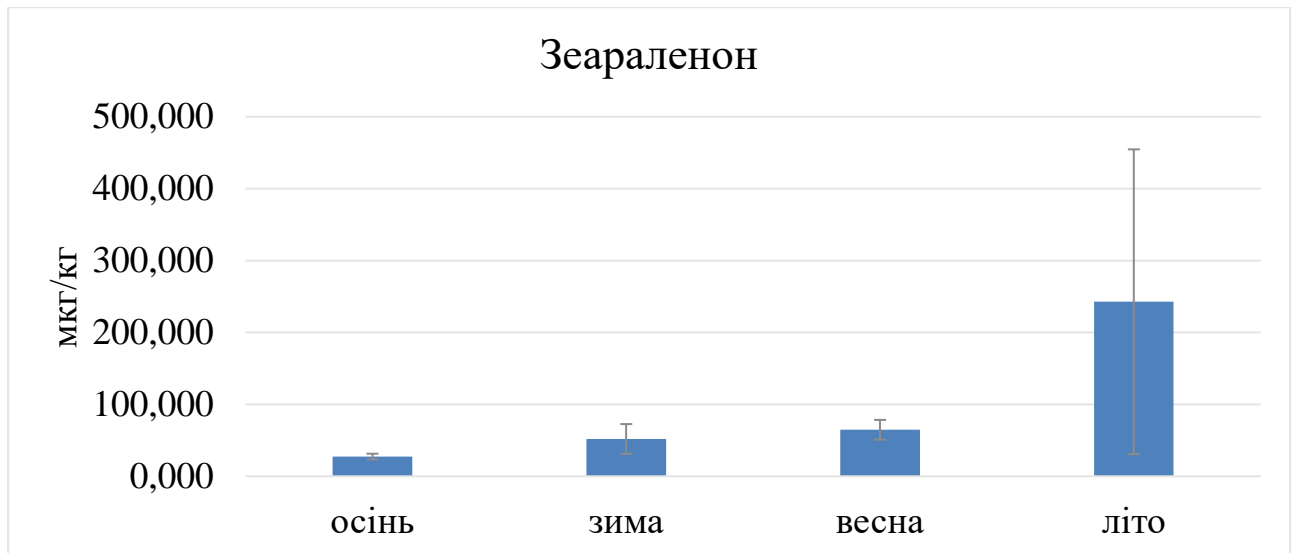


Рис. 7.2. Вміст зеараленону у зерні кукурудзи під час зберігання в елеваторах та зерносховищах протягом 2014-2017 рр.

Одночасно із зеараленоном у зерні кукурудзи часто виявляли дезоксиніваленол (ДОН). Як видно з одержаних даних, вміст цього мікотоксину в зерні кукурудзи, яке надходило для дослідження в лабораторію в осінній період, у середньому не перевищував МДР для зерна, призначеного для продовольчих, технічних потреб та експорту. Проте, окремі зразки кукурудзи були непридатні для харчових потреб і містили даний токсин на рівні 629,3 мкг/кг (табл. 7.3). Зерно кукурудзи, яке надходило для дослідження в зимовий, весняний і літній періоди було забруднене дезоксиніваленолом в більшості випадків на максимально допустимому рівні: від 1171,95 до 1529,1 мкг/кг – в весняний період; від 1025,4 до 1841,1 мкг/кг – у літній період. Окремі партії зерна були непридатні для використання, навіть для кормових потреб, і містили небезпечні рівні токсинів від 2049,5 – 3943,2 мкг/кг (рис. 7.3, табл. 7.3).

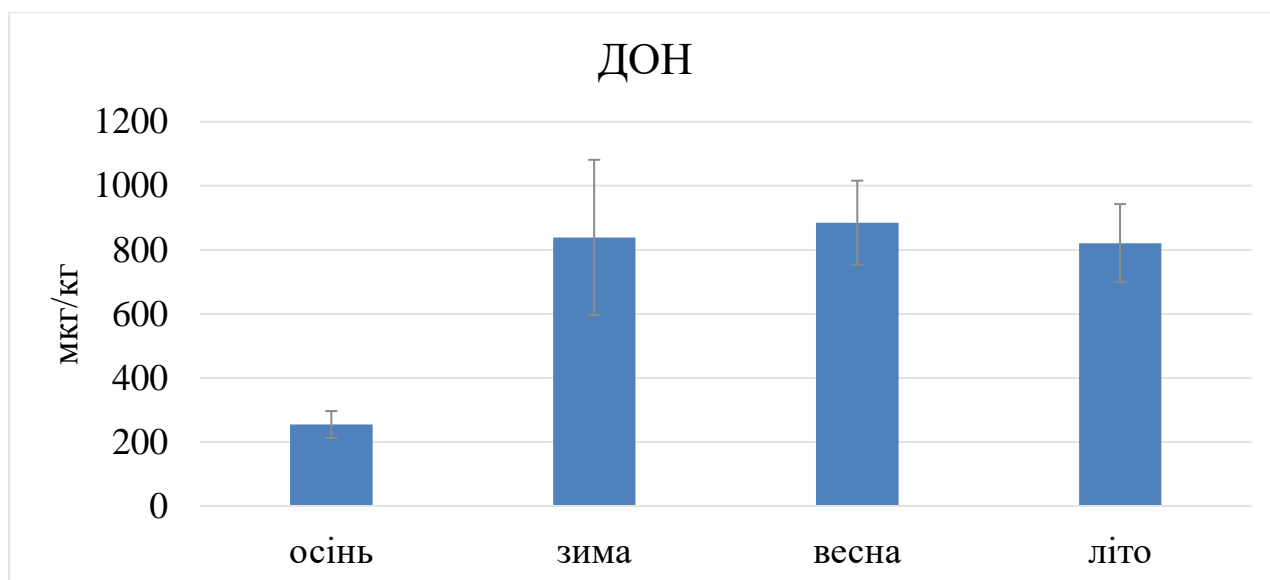


Рис. 7.3. Вміст дезоксиніваленолу в зерні кукурудзи під час зберігання в елеваторах та зерносховищах протягом 2014-2017 рр.

Таблиця 7.3

Концентрації мікотоксинів у зерні кукурудзи виявлені під час зберігання в елеваторах та зерносховищах протягом 2014-2017 рр., (загальна кількість зразків 325 шт.)

Придатність зерна для використання за вмістом мікотоксинів	Концентрації виявлених мікотоксинів, мкг/кг			
	зима	весна	літо	осінь
1	2	3	4	5
Дезоксиніваленон				
Непридатне для використання	2192,2 - 3943,2	2122,35 - 2319,95	2049,5- 3564,4	-
Придатне на кормові потреби	-	1171,95 - 1529,1	1025,4- 1841,1	629,28
Придатне для харчових потреб	96,7 - 870,5	71,25 - 970,5	75,6-928,2	79,5-440,25

Продовження таблиці 7.3

1	2	3	4	5
Зеараленон				
Непридатне для використання	-	-	-	-
Придатне на кормові потреби	-	-	1841	-
Придатне для харчових потреб	20,8-136,3	19,2-181,8	19,7-72,5	22,3-37,2
Т-2 токсин				
Непридатне для використання	204,8-234	208,7-328,2	363,3	-
Придатне на кормові потреби	109,8-154,3	109,5-180	115,6-185,5	-
Придатне для харчових потреб	40,31-95,6	35,8-87,5	37,1-91,7	36,6-55,8

Такі рівні вмісту мікотоксинів свідчать про ураження зерна патогенними грибами роду *Fusarium* перед закладанням на зберігання та високим ризиком забруднення його вторинними метаболітами грибів роду *Fusarium* при довготривалому зберіганні. Контамінація зерна спорами гриба *F. graminearum*, який з ґрунту потрапляє на вегетуючі рослини і за підвищеної вологості (затяжна дощова весна) проростають, уражує колос, продукуючи ДОН.

Висновки до розділу 7.

1. Методом імуноферментного аналізу встановлено, що зерно кукурудзи, вирощене на території України, найбільше контаміноване мікотоксинами грибів роду *Fusarium*: Т-2 токсином, зеараленолом та дезоксиніваленолом у різних комбінаціях.

2. У результаті досліджень було з'ясовано, що найнижчий рівень Т-2 токсину, зеараленолу і дезоксиніваленолу спостерігали в зерні кукурудзи протягом осіннього періоду зберігання. У зимовий, весняний і літній періоди

більше відмічали накопичення Т-2 токсину. Рівень зеараленону зростав протягом літнього періоду. Накопичення ДОН в зерні кукурудзи відбувалося головним чином у зимовий та весняно-літній періоди.

3. Встановлено, що в результаті контамінації мікотоксинами 11,7 % партій зерна кукурудзи було не придатним для використання для продовольчих, технічних потреб та експортування, а 6,5 % партій містили дезоксиніваленол та Т-2 токсин на рівні не допустимому як для продовольчих, так і кормових потреб.

4. Виявлено партії зерна кукурудзи, що були контаміновані одночасно двома і трьома мікотоксинами в різних комбінаціях, загальна кількість яких складала 23 % від загальної кількості проб та 71 % від кількості невідповідних максимально допустимих рівнів проб та є небезпечним для харчових та кормових цілей.

5. Враховуючи, що мікотоксини є природними контамінантами грибної етіології, вміст їх у зерні є нестійким і під час зберігання може збільшуватись. Тому доцільно проводити періодичний контроль сировини на всіх етапах зберігання і переробки зерна. Це є неодмінною складовою в процесі потрапляння зерна до харчового ланцюга.

За матеріалами цього розділу автором дисертації опубліковано наукову працю: Камінська О. В., Марченко Т. В., Шевченко Л. В., Кирик М. М. Сезонна динаміка накопичення мікотоксинів в зерні кукурудзи. Біоресурси і природокористування. 2020. Т. 11, № 1–2.

<https://doi.org/10.31548/bio2019.01.004> (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

РОЗДІЛ 8

УДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИКИ ОДНОЧАСНОГО ВИЯВЛЕННЯ МІКОТОКСИНІВ У ЗЕРНІ ТА ПРОДУКТАХ ЙОГО ПЕРЕРОБКИ

Регламентом Комісії ЄС № 519/2014 передбачено вимоги до методів скринінгу при виявленні мікотоксинів. Передбачені регламентом критерії застосовуються до біоаналітичних методів, заснованих на імуно-розпізнаванні (таких як ELISA) і фізико-хімічних методів, заснованих на хроматографії або прямому виявленні за допомогою мас-спектрометрії, а також для методу тонкошарової хроматографії.

Метод скринінгу означає метод, який використовується для відбору зразків з рівнями мікотоксинів, які перевищують цільову концентрацію скринінгу (ЦКС), з певною вірогідністю [82]. Коли метою є перевірка відповідності нормативним обмеженням, ЦКС дорівнює максимально допустимому рівню. Для цілей скринінгу мікотоксинів достовірність 95 % вважається придатною для цієї мети. Результат скринінгового аналізу є «негативним» або «підозрілим». Методи скринінгу повинні забезпечувати рентабельну високу пропускну здатність, що збільшує шанси на виявлення нових інцидентів з високим рівнем впливу і ризиками для здоров'я споживачів. Результати зразків, що перевищують граничне значення, повинні бути перевірені шляхом повного повторного аналізу вихідного зразка підтверджуючим методом. За вимогами Рішення комісії ЄС 2002/657ЄС до підтверджуючих методів відносять: РХ або ГХ з мас-спектрометричним виявленням, РХ-повносканований DAD, РХ-флуоресценція.

З метою відповідності меті методу скринінгу, нами, спільно з Т. В. Марченко, І. В. Третьяковою, проведена валідація шляхом визначення значення відсічення і визначення рівня помилкових негативних і помилкових підозр. У ці два параметри закладені такі робочі характеристики, як чутливість, селективність і точність та межа кількісного визначення. Також метод був підтверджений міжлабораторними дослідженнями.

Завдання, які були поставлені при розробці методу: проаналізувати відомі методи визначення мікотоксинів, експериментальним шляхом підібрати розчинники для екстракції та очистки проб для кожного мікотоксину окремо та вибрати оптимальні умови для групи мікотоксинів, провести оцінку придатності методу шляхом багаторазових досліджень для нестандартизованих методів, розробити методичні рекомендації з оформленням протоколу оцінки придатності методу. В результаті було проаналізовано методи екстрагування мікотоксинів з сировини рослинного походження та експериментально підібрано оптимальний розчинник для екстракції всіх мікотоксинів. Впроваджена очистка екстрактів методом рідина–рідина та твердофазною екстракцією за допомогою силікагелю.

Отримані елюати були проаналізовані скринінговим методом (ТШХ) та паралельно порівняно з підтверджуючим методом (ВЕРХ). Проведена оцінка придатності методу та розроблені методичні рекомендації [26].

Методичні рекомендації включають опис підготовки зразка, екстрагування органічними розчинниками, твердофазну очистку екстракту за допомогою силікагелю, визначення масової концентрації мікотоксинів у екстрактах методом зовнішніх стандартів на тонкошарових пластинах при УФ випромінюванні. Описаний метод є скринінговим та дозволяє одночасно визначити афлатоксини В1, В2, G1, G2, Т-2 токсин, зеараленон, дезоксиніваленол, охратоксин А, патулін за короткий проміжок часу. У випадку отримання результатів, що перевищують максимально допустимі рівні, зразок підлягає повторному дослідженню за допомогою підтверджуючого методу (високоєфективна рідинна хроматографія).

Межа кількісного визначення розробленого методу ТШХ: для афлатоксинів В1, В2, G1, G2 – 25 мкг/кг; для зеараленону – 480 мкг/кг; дезоксиніваленолу – 496 мкг/кг; Т-2 токсину – 90 мкг/кг; патуліну – 43 мкг/кг; для охратоксину А – 46 мкг/кг (додатки К, Л, М).

Екстрагування мікотоксинів із проби проводили ацетонітрилом з додаванням натрію хлориду. Очищали проби в системі рідина – рідина за

допомогою двократного знежирення гексаном. Очищений екстракт після випаровування перерозчиняли хлороформом. Твердофазне екстрагування здійснювали на хроматографічній колонці з силікагелю. Елюювали мікотоксини з колонки розчином хлороформ – ацетон – оцтова кислота (8,5:1:0,5). Перед хроматографуванням пробу випаровували розчиняючи у етилацетаті. Кожен мікотоксин визначали окремо на хроматографії в тонкому шарі. Рухомою фазою слугувала суміш толуол – етилацетат – мурашина кислота (6:3:1). Активацію пластин для визначення зеараленону і дезоксиніваленолу здійснювали шляхом прогрівання у термостаті за температури 105°C протягом 10 хв, для Т-2 токсину – з послідовним прогріванням у термостаті за температури 130 °C протягом 3 хв., для визначення патуліну – здійснювали над парами хлору з обробкою 0,5 % розчином бензидину. Якісне визначення (ідентифікація) наявності мікотоксинів проводили методом зовнішніх стандартів. Мікотоксини в екстракті повинні проявитись за умови УФ-випромінювання 365 нм: у вигляді плям синього кольору для афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону; блакитного кольору для дезоксиніваленолу, Т-2 токсину, у вигляді плями зелено-блакитного кольору для охратоксину А, жовтих флуоресцентних плям для патуліну.

Rf екстрактів має відповідати Rf стандартних зразків: для афлатоксинів В1, В2, G1, G2– Rf=0,26; 0,2; 0,15; 0,05, відповідно; Rf стандартного зразку зеараленону - 0,6; дезоксиніваленолу - 0,2; Т-2 токсину - 0,4; охратоксину А - 0,55; патуліну - 0,45.

Згідно з Регламентом комісії (ЄС) №401/2006 від 23 лютого 2006 року та Рішення Комісії № 519/2014, якщо законодавство не вимагає використання специфічних методів для визначення рівнів мікотоксинів у харчових продуктах, в лабораторіях можна вибирати будь-який метод, за умови, що він відповідає встановленим критеріям для визначення кожного окремого мікотоксину. Згідно з наведеними вимогами (табл. 8.1) проведено оцінку придатності методу та отримано характеристики: збіжність, відтворюваність, відсоток вилучення, межа кількісного визначення (табл. 8.1).

Придатність аналітичних методів для конкретного застосування проводили за вимогами до сринінгових медодів визначення мікотоксинів встановлених в Commission Regulation (EU) No 519/2014 of 16 May 2014 [82] .

Таблиця 8.1.

Отримані валідаційні характеристики при визначенні мікотоксинів у зерні кукурудзи фуражної.

Вимоги	Рівень концентра- ції, мкг/кг	Межа кількісного визначення (LOQ), мкг/кг	Збіжність (S_r), %	Відтворю- ваність (S_R), %	Поверне- ння, %
Дезоксиніваленол					
Валідаційні дані	1000	490	11,2	13,3	98
Встановлені критерії [82]	>100 – ≤500	–	≤20	≤40	60-110
Зеараленон					
Валідаційні дані	1000	480	8,8	10,4	96
Встановлені критерії [82]	> 50	–	≤ 25	≤ 40	70 – 120
Т-2 токсин					
Валідаційні дані	100	90	10,5	13,6	90
Встановлені критерії [82]	15 – 250	–	≤ 30	≤ 50	60 – 130

Межа кількісного визначення розробленого методу ТШХ для дезоксиніваленолу і зеараленону встановлена на достатньому рівні – $\frac{1}{2}$ від максимально допустимого рівня (МДР). Для Т-2 токсину рівень межі

кількісного визначення методу (LOQ) складає 90 % від МДР, що також є прийнятним для скринінгового методу.

Відсоток вилучення (повернення) аналіту з проби встановлено для дезоксиніваленолу – 98 %, зеараленону – 96 %, для Т-2 токсину – 90 %. Отримані дані відповідають вимогам Регламенту комісії № 519/2014 від 16 травня 2014 р., що встановлює критерії відповідності методів контролю мікотоксинів (табл. 8.1). Оцінені характеристики збіжності, відтворюваності та відсотку вилучення аналіту вказують на високу точність методу і його селективність.

Збіжність (повторюваність) відображає близькість один до одного результатів повторних спостережень, проведених в передбачених умовах. Дана характеристика оцінена з отриманням найнищих значень: 11 % для ДОН, близько 9 % для ЗЕА і 10,5 % для Т-2 токсину за умови встановлених критеріїв на рівнях 20, 25, 30 % відповідно (табл. 8.1).

Відтворюваність відображає близькість один до одного результатів повторних спостережень, проведених у різних умовах. За умови проведення аналізу в різних умовах і різними фахівцями, отримали близько 13 % вилучення токсину із матриці зерна для показників ДОНу і Т-2 токсину, 10 % при визначенні ЗЕА.

Висновки до розділу 8.

1. Суть удосконалення полягає в методиці очистки екстрактів за допомогою колоночної очистки з силікагелем, яка показала високу специфічність до фузарієтоксинів і відтворюваність Т-2 токсину, зеараленону, дезоксиніваленолу, що відповідає критеріям встановленим для методів визначення мікотоксинів в сировині та продукції рослинного походження. Встановлено ефективність використання методу для скринінгу мікотоксинів та виявлення небезпечних рівнів токсинів у зразках зерна та продуктах його переробки.

2. Удосконалення скринінгового методу тонкошарової хроматографії, надає ширших можливостей проводити швидкий токсикологічний скринінг

зерна без дорогого обладнання. Оскільки метод тонкошарової хроматографії має необхідну чутливість при виявленні встановлених концентрацій мікотоксинів, використання його може сприяти проведенню додаткових заходів зменшення ризиків їх накопичення при зберіганні та переробці зерна. Це забезпечить запобігання потрапляння невідповідних зразків до харчового ланцюга.

ВИСНОВКИ

Дисертацію присвячено дослідженню токсикогенного потенціалу грибів роду *Fusarium* та рівнів продукування вторинних метаболітів у зерні пшениці озимої під час вегетації. Вивчення ураження пшениці озимої патогенами та визначення токсичності зерна при дозріванні. Оцінювання впливу дії фунгіцидів на токсикогенний потенціал видів *Fusarium* та з'ясування заходів обмеження їх розвитку в умовах інфекційного фону. Удосконалено метод тонкошарової хроматографії для скринінгу токсинів. На підставі проведених експериментальних досліджень встановлено:

1. На основі результатів багаторічного аналізу фітосанітарного стану пшениці озимої встановлено до 37 % ураження колоса грибами роду *Fusarium* сортів пшениці озимої Поліська 90 та Перлина Лісостепу.

2. Виявлено домінуючі види грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій в умовах природного інфекційного фону в Правобережній Лісостеповій зоні та їхній токсикогенний потенціал. Серед видів *Fusarium* найбільш поширеними були *F. sporotrichiella* (var. *poae*, var. *sporotrichioides*) – 30,4 %, *F. graminearum* – 30,4 %, *F. culmorum* – 17,4 %. Більшість ізолятів цих грибів були патогенні. Дослідження ураженого зерна на вміст мікотоксинів, показали токсичну дію *F. sporotrichiella* (Bilal), *F. graminearum*, *F. culmorum* (W.G.Sm.) Sacc., що свідчить про ураження субепідермальної частини зерна і продукування токсинів у польових умовах.

3. В інфікованому зерні видами *Fusarium* мікотоксини накопичувались у різній кількості. Крім того, в окремих зразках зерна мало місце одночасне утворення декількох токсинів у кількості, що перевищує встановлені максимально-допустимі рівні: дезоксиніваленол (ДОН) та Т-2 токсин – у 25 % досліджених проб, а також дезоксиніваленолу, Т-2 токсину і зеараленону – 16,7 %.

4. Дезоксиніваленол є найменш токсичним з трихотеценів, проте він один з найбільш часто виявлених мікотоксинів – 100 % перевірених проб зерна

пшениці озимої. Виявлення цього токсину вважається індикатором можливої присутності іншого, більш токсичного трихотецену – Т-2 токсину – 67 %. Небезпечні рівні (більше МДР) дезоксиніваленолу містили 83 % проби зерна пшениці, Т-2 токсину – 33 %, зеараленону – 42 %.

5. Доказано високу імовірність ураження грибами роду *Fusarium* зерна кукурудзи, що пов'язано із накопиченням в ньому мікотоксинів під час зберігання. Проведення періодичного аналізу зернової сировини, допомогло з'ясувати високі ризики контамінації зерна цієї культури дезоксиніваленолом, зеараленоном, Т-2 токсином в зимовий та весняно-літній періоди.

6. Встановлено одночасне забруднення двома і трьома мікотоксинами в різних поєднаннях. Загальна кількість яких складала 23 % від загальної кількості перевірених проб. У результаті контамінації мікотоксинами 11,7 % партій зерна кукурудзи були не придатними для використання для продовольчих, технічних потреб та експортування, а 6,5 % партій містили дезоксиніваленол та Т-2 токсин на рівні не допустимому навіть для кормових потреб. Своєчасне виявлення небезпечних рівнів токсинів забезпечує недопущення розповсюдження токсинів у продукції під час переробки сировини, а також зменшує ризики мікотоксикозів тварин та людей.

7. Встановлено, що контролювання фузаріозу можливе у разі проведення комплексних систем захисту з використанням протруювання насіння у поєднанні із обробіткою рослин пшениці озимої фунгіцидом в період вегетації. Отримані експериментальні дані свідчать, що застосування фунгіциду Байзафон, з. п. (триадимефон 250 г/кг) із нормою витрати 1,0 кг/га після протруйника насіння Раксіл Ультра 120 FS, т. к. с. (тебуконазол 120 г/л) із нормою витрати 0,2 л/т стримує ураження зерна патогенами на 79 % і тим самим підвищує врожайність в середньому на 1,03 т/га, порівняно із контролем на сорті Поліська 90 та на 0,95 т/га, порівняно з контролем на сорті Перлина Лісостепу.

8. Композиція протруєння насіння Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. і обприскування Байзафон, з. п. була найбільш ефективною у зниженні вмісту в

зерні мікотоксинів: зеараленону – на 53 і 76 % на сорті Поліська 90 і Перлина Лісостепу відповідно, Т-2 токсину – на 42 і 61 %, ФУМ – на 73,9 і 80,8 % відповідно. За умови використання фунгіциду класу триазолів (триадимефон, 250 г/кг) у фазу цвітіння спостерігали відсутність зразків з небезпечним вмістом (вище МДР) фузаріотоксинів. Показано, що використання сублетальних концентрацій фунгіцидів супроводжується зміною токсикогенності грибів роду *Fusarium*.

9. Багаторічними дослідженнями доведено, що контроль безпечності зерна та продуктів його переробки полягає у визначенні вмісту мікотоксинів на різних етапах вирощування, зберігання та переробки зерна. Інтегрований підхід до цього питання може бути досить ефективним для зниження шкідливості фузаріозу колосу на посівах зернових колосових культур і підвищення якості одержаного урожаю.

10. Удосконалено метод одночасного визначення мікотоксинів в зерні та продуктах його переробки, який показав високу специфічність до фузаріотоксинів: Т-2 токсину, зеараленону, дезоксиніваленолу. Скринінговий метод тонкошарової хроматографії визначення мікотоксинів має відповідну чутливість до зазначених максимально-допустимих рівнів токсинів і надає можливість одночасно в короткі терміни визначати небезпечні рівні токсинів та своєчасно проводити заходи зменшення їх накопичення.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

За результатами проведених досліджень рекомендуємо до впровадження у виробництво наступні заходи захисту пшениці озимої та кукурудзи від токсиногенного впливу мікроміцетів роду *Fusarium*:

1. Здійснювати протруєння насіння пшениці озимої перед сівбою (Раксіл Ультра 120 FS, т. к. с., 0,2 л/т або Вітавакс 200 ФФ, в.с.к., 2,5 л/т) у поєднанні із обприскуванням рослин під час вегетації фунгіцидом (Байзафон, з. п., 1 кг/га). Застосування фунгіцидів дозволяє ефективно контролювати

ураження зерна грибами роду *Fusarium*, а також знижувати рівні накопичення токсинів.

2. Під час зберігання зерна в елеваторах та зерносховищах проводити періодичний його контроль на вміст мікотоксинів, для запобігання забруднення продукції переробки.

3. При проведенні моніторингу (при мікологічному контролі) зерна та продукції його переробки на вміст мікотоксинів рекомендуємо використовувати розроблений метод тонкошарової хроматографії, який впроваджений в роботу лабораторій Держпродспоживслужби для скринінгу на відповідність максимально допустимих рівнів. У випадку виявлення недопустимих концентрацій мікотоксинів, використовувати підтверджуючі методи засновані на високоефективній хроматографії з флуоресцентним детектором.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962. 180 с.
2. База даних agrosience.com.ua. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. URL: <https://agrosience.com.ua/views/perelik-pest-all>
3. Баширова А. В., Залозна О. Е., Новіцька О. В. Забрудненість зернових продуцентами Т-2 токсину: Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів і студентів. Київ, 2012. ч. 1.
4. Билай В. И. Ядовитые грибы на зерне хлебных злаков. Биология и систематика грибов секции *Sporotrichiella Fusarium*. Киев, 1953. 94 с.
5. Билай В. И. Фузариин. Киев: Наукова думка, 1977. 444 с.
6. Билай В. И., Курбацкая З. А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев: Наук. думка, 1990. 236 с.
7. Билай В. И., Пидопличко Н. М. Токсинообразующие микроскопические грибы и вызываемые ими заболевания человека и животных. Киев: Наукова думка, 1970. С. 289.
8. Бублик Л. І., Васечко Г. І., Васильев В. П. Довідник із захисту рослин / за ред. М.П. Лісового. Київ: Урожай, 1999. 744 с. ISBN 966-05-0075-0.
9. Буркин А. А., Соболева Н. А., Кононенко Г. П. Токсинообразующая способность штаммов *Fusarium* роае из зерна хлебных злаков Восточно-Сибирского и Дальневосточного регионов. Микология и фітопатологія, 2008. Т. 42, № 4. С. 354–358.
10. Вильнер А. М. Кормовые отравления сельскохозяйственных животных. Москва: Сельхозиздат, 1959. С. 313, 314.
11. Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю., Буркин А. А., Кононенко Г. П. Фузариоз зерновых культур на Волосовском государственном сортоучастке Ленинградской области . Вестник защиты растений, 2009. № 3. С. 37–43.

12. Гагкаєва Т. Ю., Левитин М. М., Санін С. С., Назарова Л. Н. Зараженість зерна і видовий склад грибів роду *Fusarium* на території РФ в 2004–2006 роках. АГРО XXI, 2009. № 4–6. С. 3–5.
13. Грисенко Г. В., Дудка Е. Л. Методи фітопатологічних досліджень по кукурузі. Дніпропетровськ, 1980. С. 63.
14. Деревенець К. А. Мікофлора зерна кукурудзи. Карантин і захист рослин, 2007. № 9. С. 9-10.
15. ДСТУ 4525:2006. Кукурудза. Технічні умови. Київ: Національний стандарт України, 2006. С. 10.
16. ДСТУ 3768-2010. Пшениця. Технічні умови. Київ: Держспоживстандарт України, 2010. 21 с.
17. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Москва: Агропромиздат, 1985. 5-е изд. С. 351.
18. Державний реєстр пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні (доповнення з 01.01.2017 згідно вимог постанови Кабінету Міністрів України від 21.11.2007 № 1328). Офіційний портал Міністерства енергетики та захисту довкілля.
URL:<https://menr.gov.ua/content/derzhavniy-reestr-pesticidiv-i-agrohimikativ-do-zvolenih-do-vikoristannya-v-ukraini-dopovnennya-z-01012017-zgidno-vimog-postanovi-kabinetu-ministriv-ukraini-vid-21112007--1328.html>
19. ДСТУ 3570:1997. Зерно фуражне, продукти його переробки, комбікорми. Методи визначення токсичності. Чинний від 1999-07-01. Київ: Держстандарт України. 13 с.
20. ДСТУ 4988:2008. Зерно, зернобобові та продукти їх перероблення. Визначення вмісту зеараленону методом рідинної хроматомас-спектрометрії: Чинний від 2009-01-01. Київ: Держстандарт України, 2009. 22 с.
21. ДСТУ 4987:2008. Зерно, зернобобові та продукти їх перероблення.

- Визначення вмісту Т2 токсину методом рідинної хроматомас-спектрометрії. Чинний від 2009-01-01. Київ: Держстандарт України, 2009. 22 с.
22. Державні санітарні правила і норми. Регламент максимальних рівнів окремих забруднюючих речовин у харчових продуктах. Наказ МОЗ України від 13.05.2013. № 368
 23. Иващенко В. Г., Шипилова Н. П., Нефедова Л. И., Гагкаева Т. Ю. Биологические и фитосанитарные аспекты исследования фузариоза колоса Микология и фитопатология, 1997. Т. 31, вып. 2. С. 58–63.
 24. Камінська О. В., Марченко Т. В., Шевченко Л. В., Кирик М. М. Сезонна динаміка накопичення мікотоксинів в зерні кукурудзи Біоресурси і природокористування. 2020. Т. 11, № 1–2. <https://doi.org/10.31548/bio2019.01.004>
 25. Камінська О. В., Марченко Т. В., Євтушенко Т. В. Аналіз стану і небезпеки забруднення зерна кукурудзи деоксиніваленолом протягом 2014-2017 років. Бюлетень Ветеринарна біотехнологія. Вип. 32 (2). С. 208-214.
 26. Камінська О. В., Марченко Т. В., Третьякова І. В. Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії: Методичні рекомендації. Київ: ДНДІЛДВСЕ. 2019. 28 с.
 27. Ковалишина Г. М., Мурашко Л. А, Ковалишин А. Б. Хвороби колосу у озимої пшениці Лісостепу України. Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. 2008, том 6, № 2. С.233.
 28. Кононенко Г. П., Малиновская Л. С., Соболева Н. А., Пирязева Е. А., Распространенность и токсинообразующие свойства грибов рода *Fusarium*, поражающих зерно хлебных злаков в Московской области. Микология и фитопатология, 1999. Т. 33. Вып. 2. С. 118–124.

29. Кононенко Г. П., Буркин А. А., Соболева Н. А. Потенциал токсинообразования основных возбудителей фузариоза колоса: Материалы II Всероссийского конгресса по медицинской микологии. Успехи медицинской микологии. 2004.Т., № 7. С. 266–269.
30. Курасова В. В., Костин В. В., Малиновская Л. С. Методы исследования в ветеринарной микологии. Москва: Колос, 1971. 312 с.
31. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические. Справочник /под ред. Б. И. Антонова. М.: Агропромиздат, 1991. С. 287 .
32. Малинин О. А., Хмельницький Г. А., Куцан А. Т. Ветеринарная токсикология: учебное пособие. Корсунь Шевченковский: ЧП Майдаченко, 2002. С. 329, 330.
33. Марков І. Л., Рубан М. Б. Довідник із захисту польових культур від хвороб та шкідників. Київ: Юніверс Медіа, 2014. 384 с.
34. Марланд А. Г. Влияние почвенных факторов на проявление фузариоза пшеницы. Защита растений, 1935. № 6. С. 99–106.
35. Оменюк В. Я., Антоненко О. Ф. Інтегрований хімічний захист кукурудзи від фузаріозу початків в умовах Правобережного Лісостепу України. Біоресурси і природокористування: НУБіП України, 2017. Т. 9. №3-4. С. 49-51.
36. Ображей А. Ф., Погребняк Л. И., Корзуненко О. Ф. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів. №15-14-73. Київ: Вид-во Інституту вет. медицини та Центральної державної лабораторії вет. медицини Міністерства АПК України, 1998. 107 с.
37. Ображей А. Ф., Погребняк Л. І. Методичні рекомендації по санітарно-мікологічній оцінці силосу і сінажу. № 15-14/24. Киев, 1996. 30 с.
38. Пересыпкин В. Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. 4-е изд., перераб. и доп. М.:Агропромиздат, 1989. 480 с.
39. Пидопличко Н. М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель.

- Т. 2. Грибы несовершенные. Киев, 1977. 299 с.
40. Пересыпкин В. Ф., Кирик Н. Н., Лесовой М. П. Болезни сельскохозяйственных культур. Т.1. Киев: Урожай, 1989. 216 с.
 41. Пріщенко О. В., Ю. М. Новожицька, О. В. Балагура. Які ж грибкові інфекції найчастіше зустрічаються на озимій пшениці в зоні Правобережного Лісостепу України. *Зерно і хліб*. 2011. Вип. 2. С. 66-67.
 42. Пріщенко О. В. Токсигенні властивості грибів роду *Fusarium* за ураження зерна пшениці озимої. *Карантин та захист рослин*. 2013. 5. С. 4-5.
 43. Пріщенко О. В. Порівняємо різні методики визначення мікогенної токсичності зерна і кормів. Київ: *Зерно і хліб*, 2014. 2. С. 14-15
 44. Пріщенко О. В., Новожицька Ю. М. Порівняльна характеристика сучасних методів визначення мікотоксинів. Київ: *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*, 2014. Вип. 25. С. 86.
 45. Рухляда В. В., Розпутня О. А., Андрійчук А. В., Білан А. В. Токсини грибів роду *Fusarium*. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. Випуск 1, 2011. С.139.
 46. Руда М. Є., Васянович О. М., Сапейко В. П., Левченко З. А., Камінська О. В. Випадок фузаріозу у свиней. Київ: *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*, 2019. Вип. 35. С. 129-134.
 47. Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М. *Определитель патогенных и условно патогенных грибов*. Москва: Мир, 2001. 467 с.
 48. Соколова Г. Д., Девяткина Г. А., Павлова В. В., Дорофеева Л. Л. и др. Гетерогенность изолятов *Fusarium graminearum* по характеру токсигенных реакций на воздействие фунгицидов. *Микология и фитопатология*, 2001. Т. 35, № 2. С. 53–57.
 49. Трибель С. О., Сігарьова Д. Д., Секун М. П., Іващенко О. О. Методики випробування і застосування пестицидів /за ред. проф. С. О. Трибеля. Київ: Світ, 2001. 448 с.

50. Трибель С. О., Стригун О. О., Бахмут О. О., Бойко М. Г. Шкідники кукурудзи . Київ, Колобіг, 2009. 52 с.
51. Хмельницький Г. О., Корзуненко В. Д. Науково-методичні рекомендації «Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, Т-2 токсину, дезоксиніваленолу, охратоксину А, зеараленону в сільськогосподарській сировині, продуктах рослинного походження та кормах методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). № 1. Київ: Видавничий центр «Центр ІТ», 2011. 66 с.
52. Храпак В. В. Природно-географічна та соціальна обумовленість ризику уражень отрутами біологічного походження. Современные проблемы токсикологии, 1999 . № 2. С. 4-14.
URL:http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/stat_99/99_2_1.htm
53. Хомченко А. В., Лапоша О. А., Климентьева Л. В., Цвіліховський В. І. Трихотеценові мікотоксини в сільськогосподарській сировині НДГ НУБІП України: Матеріали ІІ Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів і студентів. Київ, 2012. Ч. 1. С. 62-64.
54. Шелепов В. В., Маласай В. М., Пензев А. Ф. та ін. Морфология, биология, хозяйственная ценность пшеницы. Мироновка, 2004. С. 525.
55. Фисинин В. И., Сурай Питер. Свойства и токсичность дезоксиниваленола. Животноводство России. 2012. №5. С. 11-14.
56. Фисинин В. И., Сурай Питер. Микотоксины и антиоксиданты: непримиримая борьба (токсин Т-2 – обмен веществ и токсичность). Ветеринария, 2012. № 3. С. 38-41.
57. Процедура випробування ПВ. ДНДІЛДВСЕ 5.4-227 Визначення фумонізину у зразках злаків тест-системою рідаскрін фумонізін (*RIDASCREEN* ®Fumonisin) (виробництво фірми Р-Біофарм / R-Biopharm, Німеччина). Видання 01 від 15.03.2012
58. Янович Д. В., Косенко Ю. М. та ін. Методичні вказівки по кількісному

- визначенню деоксиніваленолу в зразках злаків, солоду, кормах, пиві і суслі тест-системою RIDASCREEN®DON виробництво фірми R-Biopharm, Німеччина. Київ: Державний департамент ветеринарної медицини МінАП України, 2004. 8 с.
59. Янович Д. В., Косенко Ю. М. та ін. Методичні вказівки по кількісному визначенню зеараленону в зразках злаків, кормах, пиві, сироватці крові і сечі тест-системою RIDASCREEN®Zearalenon виробництво фірми R-Biopharm, Німеччина. Київ: Державний департамент ветеринарної медицини МінАП України, 2004. 9 с.
 60. Янович Д. В., Косенко Ю. М. та ін.. Методичні вказівки по кількісному визначенню Т-2 токсину у зразках злаків і кормах тест-системою RIDASCREEN®ToxinT-2 виробництво фірми R-Biopharm, Німеччина. Київ: Державний департамент ветеринарної медицини МінАП України, 2004. 8 с.
 61. Andersen A. L. The development of *Gibberella zeae* head blight of wheat. *Phytopath.* 1948. № 38. P. 595–611.
 62. Bateman G. L. Development of disease symptoms and fungal pathogens on shoot bases in continuous winter wheat, and effect of fungicides. *Plant Pathol.*, 1993. № 42. P. 595–608.
 63. Becker R., Hettwer U., Karlovsky P., Deising H. B. Adaptation of *Fusarium graminearum* to tebuconazole yielded descendants diverging for levels of fitness, fungicide resistance, virulence, and mycotoxin production. *Phytopath.*, 2010. № 100. P. 444–453.
 64. Bennett J. W., Klich M.. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 2003. №16. P. 497-516. URL: <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.16.3.497-516.2003>.
 65. Betina V. Chromatography of mycotoxins, techniques and applications. *J. Chromatography library*. Amsterdam, NL: Elsevier, 1993. Vol. 54. P. 433. ISBN: 9780080858623.
 66. Beyer M., Klix M. B., Klink H., Verreet J.-A. Quantifying the effects of

- previous crop, tillage, cultivar and triazole fungicides on the deoxynivalenol content of wheat grain—a review. *J. Plant Dis Protect.* 2006. Vol. 113(6). P. 241–246.
67. Beyer M., Verreet J. A., Ragab W. S. Effect of relative humidity on germination of ascospores and macroconidia of *Gibberella zeae* and deoxynivalenol production. *Inter. J. Food Microbiol.* 2005. Vol. 98, № 3. P. 233–240.
 68. Birzele B., Meier A., Hindorf H., Kramer J. Epidemiology of *Fusarium* infection and deoxynivalenol content in winter wheat in the Rhineland, Germany. *Eur. J. Plant Pathol.* 2002. Vol. 108. P. 667–673.
 69. Bernhoft A., Torp M., Clasen P. E., Loes A. K., Kristoffersen A. B. Influence of Agronomic and Climatic Factors on *Fusarium* Infestation and Mycotoxin Contamination of Cereals in Norway. *Food Additives and Contaminants. Part A. Chemistry, Analysis, Control, Exposure Risk Assessment.* 2012. Vol. 29(7). P. 1129–1140. doi:10.1080/19440049.2012.672476
 70. Bottalico A., Perrone G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. of Plant Pathol.*, 2002. Vol. 108. P. 611–624.
 71. Brennan J. M., Fagan B., Van Maanen A. Studies on in vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *Eur., J. of Plant Pathol.* 2003. Vol. 109. P. 577–587.
 72. Bullerman L. B., Ryu D., Jackson L. S. Stability of fumonisins in food processing. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2002. Vol. 504. P. 195–204.
 73. Canady Richard A., Coker Raymond D., Egan S. Kathleen, Krska Rudolf. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Fifty sixth meeting 2001.
URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm>.
 74. Christensen C. M., Kaufmann H. H. Grain storage. The role of fungi in quality

- loss. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969: 153 pp.
75. Christensen C. M., Kaufmann H. H. Deterioration of stored grains by fungi. *Ann Rev Phytopathology* 1965; 3: 69–84.
 76. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the prevention and reduction of *Fusarium* toxins in cereals and cereal products (Text with EEA relevance) (2006/583/EC) OJ L 234, 29.08.2006. P. 35–40. URL: <http://data.europa.eu/eli/reco/2006/583/oj>
 77. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Text with EEA relevance. OJ L 364, 20.12.2006, p. 5–24. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1881/oj>
 78. Commission Regulation (EC) No 1126/2007 of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products. Text with EEA relevance. OJ L 255, 29.09.2007. P. 14–17. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2007/1126/oj>
 79. Commission Recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Text with EEA relevance. OJ L 229, 23.8.2006, p. 7–9. URL: <http://data.europa.eu/eli/reco/2006/576/oj>
 80. Commission Recommendation (EC) No 2013/165/EU of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. Text with EEA relevance. OJ L 91, 3.4.2013. P. 12–15. URL: <http://data.europa.eu/eli/reco/2013/165/oj>
 81. Commission Decision (EC) No 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (Text with EEA relevance) URL: <http://data.europa.eu/eli/dec/2002/657/oj>
 82. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down

- the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs (Text with EEA relevance). OJ L 70, 9.3.2006, p. 12–34. URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/401/oj>
83. Commission Regulation (EU) No 519/2014 of 16 May 2014 amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards methods of sampling of large lots, spices and food supplements, performance criteria for T-2, HT-2 toxin and citrinin and screening methods of analysis (Text with EEA relevance) URL: <http://data.europa.eu/eli/reg/2014/519/oj>
 84. Cromei M. G., Shorter S. C., Lauren D. R., Sinclair K. I. Cultivar and Crop management influences on *Fusarium* head blight and mycotoxins in spring wheat in New Zealand. New Zealand: J. of Crop and Horticultural Sci., 2002. Vol. 30. P. 235–247.
 85. Desjardins A. E., Plattner R. D., Nelsen T. C., Leslie J. F. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings. Appl. Environ. Microbiol., 1995. Vol. 61. P. 79–86.
 86. Dill-Macky R., Jones R. K. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. Plant Dis., 2000. Vol. 84. P. 71–76.
 87. D'Mello J. P. F., Placinta C. M., Macdonald A. M. C. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Animal Feed Sci. and Technol. 1999. Vol. 80. P. 183–205.
 88. Doehlert D. C., Knutson C. A., Vesonder R. E. Phytotoxic effects of fumonisin B₁ on maize seedling growth. Mycopathol., 1994. Vol. 12. P. 117–121.
 89. Doohan F. M., Brennan J., Cooke B. M. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals: a review. Eur.: J. of Plant Pathol., 2003. Vol. 109. P. 755–768.
 90. Doko M. B., Rapior S., Visconti A., Schjath J. E. Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. J.

- Agric. Food. Chem., 1995. Vol. 43. P. 429–434.
91. Fedak J., Cao W. The *Fusarium* head blight situation in Canada. In Proceedings of the International Symposium on Wheat Improvement for Scab Resistance. China, 2000. P. 234–237
 92. Fernandez M. R., Fernandes J. M. C. Survival of wheat pathogens in wheat and soybean residues under conservation tillage systems in southern and central Brazil. Can. J. Plant Pathol., 1990. Vol. 12. P. 289–294.
 93. Foround Nora A., Eudes Francois. Trichothecenes in cereal grains. Int. J. Mol. Sci., 2009. Vol. 10. P. 147–173. DOI:10.3390/ijms10010147
 94. Franc L., Shaner G., Bergstrom G., Gilbert J. K. Daily inoculum levels of *Gibberella zeae* on wheat spikes. Plant Dis., 1999. Vol. 83. P. 662–666.
 95. Gagkaeva T., Gavrilova O., Levitin M., Kononenko G. Characterization of distribution, cultural characters and T-2 toxin production of *Fusarium sporotrichioides*, *F. poae* and *F. langsethiae* from Russia. In book of abstracts. European *Fusarium* Seminar, Wageningen, The Netherlands. 2006. P. 49.
 96. Gavrilova O., Gagkaeva T., Burkin A., Kononenko G. Characterization of *Fusarium langsethiae* isolates originated from different regions of Russia and North Europe. In book of abstracts. European *Fusarium* Seminar, Radzikow. Poland, 2010. P. 129–130.
 97. Gareis M., Ceynowa J. Influence of the fungicide Matador (tebuconazole / triadimenol) on mycotoxin production by *Fusarium culmorum*. Lebensmittel-Untersuchung-Forsch, 1994. № 198. P. 244–248.
 98. Gilbert J., Conner R. L., Fernandez M. R., McLaren D. Role of spring wheat seed infested with *Fusarium graminearum* in spread and development of *Fusarium* head blight and effects on agronomic performance. Can. J. Plant Pathol, 2003a. Vol. 25. P. 73–81.
 99. Gordon W. L. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. Canadian Journal of Botany., 1952. Vol. 30. P. 209–251.

100. Gordon W. L. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. Taxonomy and geographic distribution of *Fusarium* species on plants, Insects and fungi. Canadian: Journal of Botany, 1959. Vol 37(2). January 2011. P. 257-290. DOI: 10.1139/b59-021
101. Hall R., Sutton J. C. Relation of weather, crop, and soil variables to the prevalence, incidence, and severity of basal infections of winter wheat in Ontario. Can. J. Plant Pathol. Rev., 1998. Vol. 20. P. 69–80.
102. Homdork S., Fehrmann H., Beck R. Effects of field application of tebuconazole on yield, yield components and the mycotoxin content of *Fusarium*-infected wheat grain. J. of Phytopath., 2000. Vol. 148. P. 1–6.
103. Hueza I. M., Raspantini P. C., Raspantini L. E. Zearalenone, an estrogenic mycotoxin, is an immunotoxic compound. Toxins (Basel). 2014. № 6. P. 1080-1095. DOI:10.3390/toxins6031080.
104. Inch S., Gilbert J. The prevalence of *Fusarium* species on wildgrasses in southern Manitoba. Can. J. Plant Pathol., 2003b. Vol. 25. P. 379–383.
105. Inch S. A., Gilbert J. Survival of *Gibberella zeae* on *Fusarium* damaged kernels of spring wheat. Plant Dis., 2003a. Vol. 87. P. 282–287.
106. Ioos R., Belhadj A., Menez M., Faure A. The effects of fungicides on *Fusarium* spp. and *Microdochium nivale* and their associated trichothecene mycotoxins in French naturally-infected cereal grains. Crop Protection, 2005. Vol. 24, № 10. P. 894–902.
107. ISO 17372:2010. Animal feeding stuffs. Determination of zearalenone by immunoaffinity column chromatography and high performance liquid chromatography.
108. Jajic I., Juric V., Glamocic D., Abramovich B. Occurrence of Deoxynivalenol in Maize and Wheat in Serbia. Int. J. Mol. Sci. 2008, 9, 2114-2126; DOI: 10.3390/ijms9112114
109. Jestoi M., Paavanen-Huhtala S., Parikka P., Yli-Mattila T. In vitro and in vivo mycotoxin production of *Fusarium* species isolated from Finnish grains.

- Archives of Phytopath. and Plant Protection, 2008. Vol. 41, № 8. P. 545–558.
110. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Fifty sixth meeting, February 2001.
URL:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm>.
 111. Kemp G. H. J., Pretorius Z. A., Wingfield M. J. *Fusarium* glume spot of wheat – a newly recorded mite-associated disease in South Africa. Plant Dis., 1996. Vol. 80. P. 48–51.
 112. Kosiaka B., Torpa M., Skjerveb E., Andersenc B. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality – a matched pair sample study. Inter. J. of Food Microbiol., 2004. Vol. 93. P. 51–62.
 113. Khonga E. B., Sutton J. C. Inoculum production and survival of *Gibberella zeae* in maize and wheat residues. Can. J. Plant Pathol., 1988. Vol. 10. P. 232–239.
 114. Kuiper-Goodman T., Scott P. M., Watanabe H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regulatory toxicology and pharmacology, 1987. № 7. P. 253 – 306.
 115. Langseth W., Bernhoft A., Rundberget T., Kosiak B. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereal. Mycopath., 1999. Vol. 144. P. 103–113
 116. Lemmens M., Josephs R., Schuhmacher R., Grausgruber H. Head blight (*Fusarium* spp.) on wheat: investigations on the relationship between disease symptoms and mycotoxin content. Cereal Res. Commun., 1997. Vol. 25, № 3/2. P. 459–465.
 117. Leslie J. F., Summerell B. A. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, 2006. 388 p.
 118. Llorens A., Mateo R., Hinojo M. J., Jimernez M. Influence of environmental factors on the biosynthesis of the type B trichothecenes by isolates of *Fusariums* pp. from spanish crops. Int. J. Food Microbiol., 2004. Vol. 94. P. 43–54.

119. Lombaert G. A., Trucksess M. W., Jackson L. S., Eds. Methods for the determination of deoxynivalenol and other trichothecenes in foods. In mycotoxins and Food Safety. DeVries; Kluwer Academic / Plenum Publishers: New York, 2002. P. 141-153.
120. Lukanowski A., Lenc L., Sadowski C. First Report on the Occurrence of *Fusarium langsethiae* Isolated from Wheat Kernels in Poland. Plant Disease, 2008. Vol. 92. P. 488.
121. Magan N., Hope R., Colleate A., Baxter E. S. Relationship between growth and mycotoxin production by *Fusarium species*, biocides and environment. Eur. J. of Plant Path., 2002. Vol. 108, P. 685–690.
122. Marasas W. F. O. Discovery and occurrence of the fumonisins: ahistorical perspective. Environ. Health. Perspect., 2001. Vol. 109. P. 239–243.
123. Marasas W. F. O., Nelson P. E., Toussoun T. A. Toxigenic *Fusarium* species. Identity and mycotoxicology. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, USA. URL: <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1519773>
124. Martins M. L., Martins H. M. Influence of water activity, temperature and incubation time on the simultaneous production of deoxynivalenol and zearalenone in corn (*Zea mays*) by *Fusarium graminearum*. Food Chem., 2002. Vol. 79. P. 315-318
125. McMullen M. P., Jones R., Gallenberg D. Scab of wheat and barley:a re-emerging disease of devastating impact. Plant Dis., 1997. Vol. 81. P. 1340–1348.
126. Miedaner T., Heinrich N., Schneider B., Oettler G. Estimation of deoxynivalenol (DON) content by symptom rating and exoantigencontent for resistance selection in wheat and triticale. Euphytica, 2004. Vol. 139. P. 123–132.
127. Miller J. D, Apsimon J. W., Blackwell B. A., Greenhalgh R. Deoxynivalenol: A 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In book:

- Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. St. Paul: APS PRESS, 2001. P. 310–320.
128. Mirocha Ch. J., Xie W., Filho E. R. Chemistry and detection of *Fusarium* mycotoxins / In book: *Fusarium* head blight of wheat and barley. APS PRESS, 2003. P. 144–164.
 129. Mesterhazy A. Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* and in resistance to *Fusarium* head blight. Eur. J. of Plant Pathol, 2002 a.Vol. 108, № 7. P. 675–684.
 130. Mesterhazy A. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight in wheat. J. Appl. Genetics., 2002b. Vol. 43A. P. 289–302.
 131. Moss M. O., Thrane U. *Fusarium* taxonomy with relation to trichothecene formation. Toxicology Letters. 2004.Vol. 153, № 1.P. 23–28.
 132. Munkvold G. P., Desjardins A. E. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? Plant Dis., 1997.Vol. 81.P. 556–564.
 133. Munkvold G. P. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. Eur. J. Plant Pathol., 2003.Vol. 109. P. 705–713.
 134. Munkvold G. P., Desjardins A. E. Fumonisin in maize. Can we reduce their occurrence? Plant Dis., 1997.Vol. 81. P. 556–564.
 135. Parry D. W., Jenkins P., McLeod L. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. Plant Pathol., 1995. Vol. 44. P. 207–238.
 136. Pereyra S. A., Dill-Macky R., Sims A. L. Survival and inoculum potential of *Fusarium graminearum* in wheat residues. In Proceedings of the U.S. Wheat and Barley Scab Initiative Annual Forum, 1999. P. 96–99.
 137. Pettersson H., Olvang H. Trichothecene production by *Fusarium poae* and its ecology. Sydowia, Special Issue, 1997. P. 217–218.
 138. Pettersson H. Nivalenol production by *Fusarium poae*. Mycotoxin Res., 1991. Vol. 7A. P. 26–30.
 139. Position paper on zearalenone (CX / FAC 98/18). Codex committee on food additives and contaminants. Thirty-first Session.URL:

http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCFAC/ccfac31/fa99_15e.pdf

140. Reid L. M., Hamilton R. Effects of inoculation position, timing, macroconidial concentration, and irrigation on resistance of maize to *Fusarium graminearum* infection through kernels. Canadian Journal of Plant Pathology, 1996. Issue 18. P. 279–285. doi: 10.1080/07060669609500625
141. Reid L. M., Woldemariam T., Zhu X., Effect of inoculation time and point of entry on disease severity in *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides* or *Fusarium subglutinans* inoculated maize ears. Canadian Journal of Plant Pathology, 2002. Issue 24. P. 162–167. doi: 10.1080/07060660309506991
142. Reid L. M., Bolton A. T., Hamilton R.T. Effect of silk age on resistance of maize *Fusarium graminearum*. Canadian Journal of Plant Pathology. 1992. Issue 14. P. 293–298. doi: 10.1080/07060669209500867
143. Scott P. M., Lawrence G. A. Stability and problems in recovery of fumonisins added to corn-based foods. J. AOAC., 1994. Vol. 77. P. 541–545.
144. Schroeder H. W., Christensen J. J. Factor affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. Phytopath., 1963. Vol. 53. P. 831–838.
145. Simpson D. R., Weston G. E., Turner J. A., Jennings P. Differential control of head blight pathogens of wheat by fungicides and consequences for mycotoxin contamination of grain. Eur. J. Plant Pathol., 2001. Vol. 107. P. 421–431.
146. Smith J. E, Henderson R. S. Mycotoxins and Animal Foods. 1st Ed. CRCpress. BocaRaton, FL, USA, 1991. P. 875.
147. Snijders C. H. A., Perkowski J. Effect of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and wheat kernels. Phytopath., 1990. Vol. 80. P. 566–570.
148. Snijders C. H. A. The inheritance of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* in winter wheat. Euphatica, 1990. Vol. 50. P. 9–17.
149. Strange R. M, Smith H. A fungal growth stimulant in anthers which predisposes wheat to attack by *Fusarium graminearum*. Physiol. Plant Pathol., 1971. № 1. P. 141–150.

150. Strange R. N., Smith H. Effects of choline, betaine and wheat-germextract on growth of cereal pathogens. Trans. Br. Mycol. Soc., 1978.Vol.70. P. 193–199.
151. Sturz A. V., Johnston H. W. Characterization of *Fusarium* colonization of spring barley and wheat produced on stubble or fallow soil. Can. J. Plant Pathol., 1985. Vol. 7. P. 270–276.
152. Sutton J. C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Can. J. of Plant Pathol., 1982. Vol. 4. P. 195–209.
153. Tekau Z. A., Mc Callum B., Gilbert J. *Fusarium* head blight of barley in western Canada Can. Plant Pathol., 2000.Vol. 22.P. 9–16.
154. Thiel P. G., Marasas W. F. O., Sydenham E. W., Shephard G. S. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. Mycopath., 1992. Vol. 117. P. 3–9.
155. Thrane U. Developments in the taxonomy of *Fusarium* specie based on secondary metabolites. In book: *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. St. Paul: APS PRESS, 2001. P. 29–49.
156. Thrane U., Adler A., Clasen P. E., Galvano F. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. Intern. J. Food Microbiol., 2004. Vol. 95. P. 257–266.
157. Thrane U. *Fusarium* species and their specific profiles of secondary metabolites. In: Chelowski (Ed). *Fusarium*. Mycotoxins, taxonomy and pathogenicity. Elsevier, Amsterdam, NL. eBook ISBN: 9781483297859.1989. Vol.21st Edition. P. 504.(pp. 199 – 225).
158. Trusal L. R. Stability of T-2 mycotoxin in aqueous media. Appl. Environ. Microbiol., 1985.Vol. 50, № 5. P. 1311–1312.
159. Torp M., Langseth W. Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. Mycopathologia, 1999. Vol. 147. P. 89–96.
160. Torp M., Nirenberg H. I. *Fusarium langsethiae* sp. nov. on cereals in Europe. Intern. J. Food Microbiol., 2004. Vol. 95. P. 247–256.
161. Ueno Y. Ceneral toxicity. In book: Trichothecenes: chemical, biological and

- toxicological aspects. Amsterdam, 1983. P. 135–146.
162. Vigier B., Reid L. M., Seifert K. A. Distribution and prediction of *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario. Can. J. of Plant Pathol., 1997. Vol. 19. P. 60–65.
 163. Visconti A., Doko M. B. Survey of fumonisin production by *Fusarium* isolated from cereals in Europe. J. AOAC Int. 1994. Vol. 77. P. 546–550.
 164. Vogelgsang S., Sulyok M., Banziger I., Krska R. Effect of fungal strain and cereal substrate on in vitro mycotoxin production by *Fusarium poae* and *Fusarium avenaceum*. Food Additives Contaminants, 2008. Vol. 25. P. 745–757.
 165. Wilson A., Simpson D., Chandler E., Jennings P. Development of PCR assays for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium langsethiae*. FEMS Microbiol. Lett., 2004. Vol. 233. P. 69–76.
 166. Xu X., Nicholson P., Ritieni A. Effects of fungal interactions among *Fusarium* head blight pathogens on disease development and mycotoxin Accumulation // Inter. J. of Food Microbiol., 2007. Vol. 119, № 1–2. P. 67–71.
 167. Yli-Mattila T., Paavanen-Huhtala S., Parikka P., Konstantinova P. Molecular and morphological diversity of *Fusarium* fungi in Finnish and north-western Russia. Eur. J. Plant Pathol., 2004. Vol. 110. P. 573–585.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

12. **Пріщенко О. В.** (Камінська О. В.), Ю. М. Новожицька, О. В. Балагура. Які ж грибкові інфекції найчастіше зустрічаються на озимій пшениці в зоні Правобережного Лісостепу України. *Зерно і хліб*. 2011. Вип. 2. С. 66-67. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

13. **Пріщенко О. В.** (Камінська О. В.). Токсигенні властивості грибів роду *Fusarium* за ураження зерна пшениці озимої. *Карантин та захист рослин*. 2013. 5. С. 4-5.

14. **Пріщенко О. В.** (Камінська О. В.) Порівняємо різні методики визначення мікогенної токсичності зерна і кормів. *Зерно і хліб*. 2014. 2. С.

15. **Пріщенко О. В.** (Камінська О. В.), Новожицька Ю.М. Порівняльна характеристика сучасних методів визначення мікотоксинів. *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*. 2014. Вип. 25. С. 86. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних:

16. **Камінська О. В.**, Марченко Т. В., Шевченко Л. В., Кирик М. М. Сезонна динаміка накопичення мікотоксинів в зерні кукурудзи Біоресурси і природокористування. 2020. Т.11, № 1–2. <https://doi.org/10.31548/bio2019.01.004> (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Статті у інших наукових виданнях України:

17. **Камінська О. В.**, Марченко Т. В., Євтушенко Т. В. Аналіз стану і небезпеки забруднення зерна кукурудзи дезоксиніваленолом протягом 2014-2017 років. *Бюлетень Ветеринарна біотехнологія*. 2018. Вип. 32 (2). С. 208-

214. (Здобувачем опрацьовано літературні джерела, отримано і узагальнено експериментальні дані, написано статтю).

Тези наукових доповідей:

18. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)** Гриби роду *Fusarium* – небезпечні токсикогенні міксоміцети: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 10-річчю спеціальності «Якість, стандартизація та сертифікація»: Київ, 11-12 жовтня 2012. С. 22-23.

19. **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)** Токсигенний потенціал грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій в умовах природного інфікування: матеріали міжнародної науково-практичної конференції присвяченої, 50-річчю заснування факультету захисту рослин: Київ, 15-18 жовтня 2012. С. 186-187.

20. **Камінська О. В.** Екологічна оцінка вмісту Т-2 токсину в зерні та зерновій продукції: матеріали Регіонального наукового симпозиуму в рамках концепції «Єдине здоров'я» та семінару із рецензування та відборі наукових робіт за підтримки ПЗСБД в Україні: Київ, 24-28 квітня 2017. С. 139.

Навчальний посібник:

21. Левченко В. І., Розумнюк А. В., Новожицька Ю. М., Куцан О. Т., Омельчун Ю. А., **Пріщенко О. В. (Камінська О. В.)**, Іванова О.В., Дяченко С.В.. Лабораторна ветеринарна токсикологія. Біла Церква. 2012. 216 с.

Методичні вказівки:

22. **Камінська О. В.,** Марченко Т. В., Третьякова І. В.. Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, деоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії: Методичні рекомендації. Київ: ДНДІЛДВСЕ. 2019. 28 с.

Додаток Б

Видовий склад грибів роду *Fusarium* на пшениці озимій залежно від застосування (ДП ДГ «Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл., 2010-2012 рр.

Варіант		Виявлені види <i>Fusarium</i>		
протруй- ник	фунгі- цид	2010 р.	2011 р.	2012 р.
1	2	3	4	5
Сорт Поліська 90				
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		<i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i> <i>F. moniliform</i>
		<i>F. sp. poae</i> , <i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. sporotrichioides</i> <i>F. graminearum</i>
РаксілУльт ра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскуван ня	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. sp. poae</i>	<i>F. culmorum</i>
		<i>F. sp. sporotrichioi des</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскуван ня	<i>F. monilliforme</i> (<i>verticllioi</i> des), <i>F. chlamidosporum</i>	<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>
		<i>F. graminearum</i> <i>F. sp. var. poae</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. sp. poae</i>
Без протруюова ння	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. graminearum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. culmorum</i>
		<i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. dimerum</i>
		<i>F. graminearum</i>	<i>F. chlamidospo- rum</i>	<i>F. chlamidospo- rum</i>
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. monilliforme</i> (<i>verticllioi</i> des),	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	-
		<i>F. chlamidosporum</i>	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. avenaceum</i>
Перлина Лісостепу				
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		<i>F. sp. poae</i> <i>F. avenaceum</i> <i>F. graminearum</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i> <i>F. moniliform</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i> <i>F. culmorum</i>
		<i>F. graminearum</i>	<i>F. chlamidosporum</i> , <i>F. culmorum</i>	<i>F. chlamidosporum</i> <i>F. culmorum</i>

Продовження додатку Б

1	2	3	4	5
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприску вання	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>
		<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. avenaceum</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприску вання	<i>F. chlamidosporum</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>
		<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. poae</i> <i>F. graminearum</i>	<i>F. chlamidosporum</i>
Без протруюван- ня	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	-
		<i>F. sp. poae</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. chlamidosporum</i>
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. graminearum</i>	<i>F. sporotri- chiella</i>	<i>F. moniliform</i>
		<i>F. sp. poae</i>	<i>F. chlamidosporum</i>	<i>F. avenaceum</i>
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<i>F. sp. sporotri- chioides</i>	<i>F. monilliforme</i> (<i>verticillioides</i>)	<i>F. moniliform</i>
		<i>F. sp. poae</i>	<i>F. sp. poae</i>	-

Додаток В

**Результати досліджень необробленого зерна озимої пшениці врожаю
2010-2012 роки на вміст Т-2 токсину, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське»
Тетіївського р-ну, Київська обл.)**

Варіанти		Вміст Т-2 токсину, мг/кг		
протруйник	фунгіцид	2010 рік	2011 рік	2012 рік
ПОЛІСЬКА 90				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,036	0,072	0,086
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,097	0,037	0,043
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	<0,035	0,059	0,06
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,043	0,04	0,058
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,04	0,037	<0,035
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<0,035	0,077	0,043
ПЕРЛИНА ЛІСОСТЕПУ				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		0,039	0,118	0,118
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,116	<0,035	0,067
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	<0,035	0,059	0,075
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,044	0,043	0,048
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<0,035	<0,035	0,037
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,039	0,041	<0,035

Додаток Г

**Результати досліджень необробленого зерна озимої пшениці врожаю
протягом 2010-2012 роки на вміст дезоксиніваленолу, мг/кг (ДП ДГ
«Шевченківське» Тетіївського р-ну, Київська обл.)**

Варіанти		Вміст ДОНу, мг/кг		
протруйник	фунгіцид	2010 рік	2011 рік	2012 рік
Поліська 90				
Контроль— без протруювання насіння і обприскування рослин		2,115	1,688	1,242
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,951	0,677	0,434
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	1,893	0,863	0,127
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,701	0,745	<0,07
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,497	0,349	<0,07
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,079	0,097	0,073
Перлина Лісостепу				
Контроль— без протруювання насіння і обприскування рослин		2,309	1,343	0,638
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	1,163	0,526	0,102
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	1,131	0,128	0,108
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,250	0,379	<0,07
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,093	0,153	<0,07
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,227	<0,07	0,074

Додаток Д

**Результати досліджень необробленого зерна озимої пшениці врожаю
2010-2012 роки на вміст зеараленону мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське»
Тетіївського р-ну, Київська обл.)**

Варіанти		Вміст Зеараленону, мг/кг		
протруйник	фунгіцид	2010 рік	2011 рік	2012 рік
Поліська 90				
Контроль– без протруювання насіння і обприскування рослин		<0,02	0,062	0,111
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,029	<0,017	0,058
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,042	0,018	0,085
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,022	0,023	0,036
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,052	<0,017	0,021
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,059	0,033	<0,017
Перлина Лісостепу				
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		0,046	0,185	0,043
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,06	0,028	0,03
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	<0,02	0,018	0,019
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	<0,02	0,024	0,023
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,031	<0,017	0,019
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,06	0,025	<0,017

Додаток Е

**Зниження рівня продукування фумонізіну в зерні пшениці озимої
при використанні фунгіцидів, мг/кг (ДП ДГ «Шевченківське»
Тетіївського р-ну, Київська обл..)**

Варіанти		Вміст ФУМ, мг/кг	Різниця із контролем	Ефективність дії фун- гіцидів, %
протруйник	фунгіцид			
Сорт Поліська 90				
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		0,219	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,051	-0,168	76,7
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,084	-0,135	61,62
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,066	-0,153	70,1
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,057	-0,162	73,9
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,065	-0,154	70,15
НІР ₀₅			0,21	
Сорт Перлина Лісостепу				
Контроль – без протруювання насіння і обприскування рослин		0,261	-	-
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Без обприскування	0,05	-0,211	80,8
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Без обприскування	0,092	-0,169	64,9
Без протруювання	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,061	-0,200	76,6
Раксіл Ультра 120 FS, т.к.с. (0,2 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,050	-0,211	80,8
Вітавакс 200 ФФ, в.с.к. (2,5 л/т)	Байзафон, з.п. (1,0 кг/га)	0,076	-0,185	70,9
НІР ₀₅			0,35	

Місце відбору зразків кукурудзи фуражної протягом 2012-2017 рр.

Область		Назва підприємства
Волинська область	елеватор	Зернопродукт
Житомирська обл., Романівський р-н, с. Печанівка	елеватор	ПРАТ Печанівський КХП
Київська область, Переяслав Хмельницький	елеватор	ПрАТ Переяславський КХП
Львівська обл.	елеватор	КХП Краснянський
Львівська обл., Кам'яно-Бузький	зерносклад	ТОВ Кам'яно-Бузький к/к завод
Львівська обл., Кам'яно-Бузький	елеватор	ПП Зернопромтрейд
Львівська область	зерносклад	СМТ Гніздичів
Рівненська область, с. Малий Шпаків	зерносклад	Полісся агроном
Сумська область, с. Лебедин	елеватор	ТОВ Крук, Лебединський зерносклад
Тернопільська область, смт Підволочиськ	зерносклад	ТОВ КХП Малинівці
Тернопільська обл., Лановецький р-н, м. Ланівці	зерносклад	ПП Захід Агроінвест
Тернопільська область	елеватор	ТОВ Радовилівський елеватор
Тернопільська область, м. Ланівці	елеватор	ПП Захід агроінвест
Черкаська область, с. Єрки	елеватор	ТОВ Катеринопіль
Черкаська область, с. Золотоноша	зерносклад	Агробудінвест
Чernihівська область, с. Бузовиця	зерносклад	ФГ Укראгро
Чernihівська область, с. Кобольчин, Сокирянський р-н	зерносклад	ТОВ Сворог Україна
Харківська область, м. Ізюм	елеватор	Ізюмський КХ

**Протокол оцінювання придатності
незастандартизованого методу**

1. Дата заповнення: 08.10.2018
2. Позначення та назва методу: МР Визначення афлатоксинів В1,В2,Г1,Г2, зеараленону, дезоксиніваленону, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна та кормах методом тонкошарової хроматографії
3. Досліджуваний об'єкт: ВРМ № 47 – зерно кукурудзи
4. Параметри методу та обладнання, за яких проводились випробування:
температура приміщення - 23°C, атм. тиск - 99,6 мм рт.ст., відносн. вологість –70 %.
Вимірювальне обладнання- Опромінювач хроматографічний УФС 254/365
5. Стандартні зразки та реактиви (назва, номер партії):
Стандартний зразок ДОН - виробник Supelco (lot XA19708V);
Пластики для тонкошарової хроматографії розміром 20 см х 20 см, покриті силікагелем типу «Merk»;
Етилацетат Sigma- Aldrich (lot STBF3487V)
Метанол для HPLC Sigma- Aldrich (lot STBG0229V)
Гексан партія FA1703T132, партія FJ0403T1323
6. Таблиця отриманих даних:

№ п/п	Назва аналіту	Межа кількісного визначення (LOQ), мкг/кг	Робочий діапазон, мкг/кг	Границя збіжності, (r), %	Границя відтворюваності, (R), %	Повернення, %	Невизначеність, на рівні 500,0 мкг/кг
1	ДОН	496	496-1064	11,2	13,3	98	130

7. **Заключення про придатність методу:**

В результаті проведення оцінювання придатності для подальшого використання незастандартизованого методу зроблено висновок, що вищеповисаний метод досліджень придатний для запланованого використання

8. Дата затвердження: 09.10.2018

Відповідальні виконавці:
провідний лікар
ветеринарної медицини



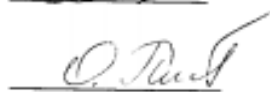
Трет'якова І.В.

начальник лабораторії
визначення мікотоксинів



Марченко Т.В

завідувач науково-дослідного
хіміко-токсикологічного відділу



Камінська О.В

**Протокол оцінювання придатності
незастандартизованого методу**

1. Дата заповнення: 08.10.2018
2. Позначення та назва методу: МР Визначення афлатоксинів В1,В2,Г1,Г2, зеараленону, дезоксиніваленону, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна та кормах методом тонкошарової хроматографії
3. Досліджуваний об'єкт: ВРМ № 47 – зерно кукурудзи
4. Параметри методу та обладнання, за яких проводились випробування:
температура приміщення - 23°C, атм. тиск - 99,6 мм рт.ст., відносн. вологість –70 %.
Вимірювальне обладнання – Опромінювач хроматографічний УФС 254/365
5. Стандартні зразки та реактиви (назва, номер партії):
Стандартний зразок зеараленон – виробник Supelco (lot ХА20006V);
Пластинки для тонкошарової хроматографії розміром 20 см х 20 см, покриті силікагелем типу «Merk»;
Етилацетат Sigma- Aldrich (lot STBF3487V)
Метанол для HPLC Sigma- Aldrich (lot STBG0229V)
Гексан партія FA1703T132, партія FJ0403T1323

6. Таблиця отриманих даних:

№ п/п	Назва аналіту	Межа кількісного визначення (LOQ), мкг/кг	Робочий діапазон, мкг/кг	Границя збіжності, (r), %	Границя відтворюваності, (R), %	Повернення %	Невизначеність, на рівні 500,0 мкг/кг
1	Зеараленон	480,0	480,0-1330	8,8	10,4	96	100,0

7. Заключення про придатність методу:

В результаті проведення оцінювання придатності для подальшого використання незастандартизованого методу зроблено висновок, що вищеписаний метод досліджень придатний для запланованого використання

8. Дата затвердження: 09.10.2018

Відповідальні виконавці:
провідний лікар
ветеринарної медицини



Трет'якова І.В.

начальник лабораторії
визначення мікотоксинів



Марченко Т.В

завідувач науково-дослідного
хіміко-токсикологічного відділу



Камінська О.В.

**Протокол оцінювання придатності
незастандартизованого методу**

1. Дата заповнення: 08.10.2018
2. Позначення та назва методу: МР Визначення афлатоксинів В1,В2,Г1,Г2, зеараленону, дезоксиніваленону, Т-2 токсину, охратоксину А, паутіліну в зерні, продукції із зерна та кормах методом тонкошарової хроматографії
3. Досліджуваний об'єкт: ВРМ № 47 – зерно кукурудзи
4. Параметри методу та обладнання, за яких проводились випробування:
температура приміщення - 23°C, атм. тиск - 99,6 мм рт.ст., відносн. вологість –70 %.
Вимірювальне обладнання- Опромінювач хроматографічний УФС 254/365
5. Стандартні зразки та реактиви (назва, номер партії):
Стандартний зразок Т-2 токсин - виробник Supelco (lot BCBT8852);
Пластики для тонкошарової хроматографії розміром 20 см х 20 см, покриті силікагелем типу «Merk»;
Етилацетат Sigma- Aldrich (lot STBF3487V)
Метанол для HPLC Sigma- Aldrich (lot STBG0229V)
Гексан партія FA1703T132, партія FJ0403T1323
6. Таблиця отриманих даних:

№ п/п	Назва аналіту	Межа кількісного визначення (LOQ), мкг/кг	Робочий діапазон, мкг/кг	Границя збіжності, (r), %	Границя відтворюваності, (R), %	Повернення %	Невизначеність, на рівні 100,0 мкг/кг
1	Т-2 токсин	90,0	90,0-266	10,5	13,6	90	24,50

7. **Заключення про придатність методу:**
В результаті проведення оцінювання придатності для подальшого використання незастандартизованого методу зроблено висновок, що вищеповисаний метод досліджень придатний для запланованого використання
8. Дата затвердження: 09.10.2018

Відповідальні виконавці:
провідний лікар
ветеринарної медицини



Третьякова І.В.

начальник лабораторії
визначення мікотоксинів



Марченко Т.В.

завідувач науково-дослідного
хіміко-токсикологічного відділу



Камінська О.В.

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

ПРОТОКОЛ № 3

засідання Науково-методичної ради Держпродспоживслужби

20 грудня 2018 року

м.Київ

Порядок денний:

1. Стан підготовки стратегії протиепізоотичних і ветеринарно-санітарних заходів у тваринництві, спрямовану на прогнозування, ранню діагностику та ранню профілактику хвороб тварин.
2. Розгляд Методичних рекомендацій що надійшли до Науково-методичної ради Держпродспоживслужби після рецензування.
3. Різне.

Порядок денний ухвалили одногосно.

1. Стан підготовки стратегії протиепізоотичних і ветеринарно-санітарних заходів у тваринництві, спрямовану на прогнозування, ранню діагностику та ранню профілактику хвороб тварин.

У зв'язку з відсутністю доповідача Академіка-секретаря Відділення ветеринарної медицини НААН Мандигри М.С., Головом А. М. був зачитаний лист від Національної академії аграрних наук № 6.2/57 від 29.11.2018 року «Щодо виконання доручень НМР Держпродспоживслужби».

2. Розгляд Методичних рекомендацій що надійшли до Науково-методичної ради Держпродспоживслужби після рецензування.

Слухали: Головка Анатолія Миколайовича - Голову Науково-методичної ради Держпродспоживслужби, директора ДНКІБШМ, доктора ветеринарних наук, професора, академіка НААН.

ПОСТАНОВИЛИ:

1. Рекомендувати Держпродспоживслужбі звернутись до Президії Національної академії аграрних наук щодо включення в план науково-технічних програм Науково-дослідних інститутів, Відділення ветеринарної медицини на 2019 рік розробку «Стратегії протиепізоотичних і ветеринарно-санітарних заходів у тваринництві, спрямовану на прогнозування, ранню діагностику та ранню профілактику хвороб тварин».

2. Схвалити методичні рекомендації, надані на розгляд Науково-методичній раді Держпродспоживслужби:

1

птиці, яйцях та яєчних продуктах». Розробники: Гаркавенко Т.О., Азиркіна І.М., Шалімова Л.О.;

10. «Методичні рекомендації з визначення мікробіологічним скринінг-методом залишкових кількостей антибіотиків групи хінолонів в м'ясі птиці, яйцях та яєчних продуктах». Розробники: Гаркавенко Т.О., Азиркіна І.М., Шалімова Л.О.;

11. «Методичні рекомендації з визначення нітратів та нітритів у молоці та молочних продуктах». Розробники: Т.В. Євтушенко, Т.М. Кішик, Л.О. Школяренко, Ю.Ф. Чедрик;

12. «Методичні рекомендації з визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, дезоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна та кормах методом тонкошарової хроматографії». Розробники: Камінська О.В., Марченко Т.В., Третьякова І.В.;

13. «Методичні рекомендації з визначення фосфорорганічних пестицидів у воді методом газової хроматографії». Розробники: Євтушенко Т.В., Омельчун Ю.А., Оксянюк О.О.;

14. «Методичні рекомендації з визначення 16 поліциклічних ароматичних вуглеводнів у воді питній воді методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС)». Розробники: Євтушенко Т.В., Омельчун Ю.А., Карпович О.О.;

15. «Методичні рекомендації з визначення хлорацетанілідів, динітроаналінів та хлорнітрів у воді питній методом газової хроматографії з використанням детектора електронного захвату». Розробники: Євтушенко Т.В., Кішик Т.М., Омельчун Ю.А.;

16. «Методичні рекомендації з діагностики саркоцистозу великої рогатої худоби та свиней». Розробники: Прус М.П., Литвиненко О.П., Семенко О.В., Зворигіна В.С.;

17. «Методичні рекомендації з діагностики та профілактики ноземозу медоносних бджіл». Розробники: Сорока Н.М., Литвиненко О.П., Сфіменко Т.М., Односум Г.В.;

18. «Методичні рекомендації з діагностики та профілактики анаплазмозу великої рогатої худоби». Розробники: Сорока Н.М., Литвиненко О.П., Довга Л.В.;

19. «Методичні рекомендації з відбору зразків при захворюваннях бджіл». Розробники: Пішанський О.В., Гаркавенко Т.О., Литвиненко О.П., Дюба Я.М., Камінська О.В., Ординська Д.О., Мусієць І.В.;

20. «Методичні рекомендації щодо контролю санітарного стану та якості дезінфекції об'єктів санітарних заходів на всіх стадіях виробництва та обігу харчової продукції». Розробники: Гаркавенко Т.О., Коваленко В.Л., Тімченко О.В., Меженська Н.А. Гаркавенко В.М.;

21. «Методичні рекомендації з визначення вологості, кислотного та перекисного числа жиру в кормах для хутрових звірів». Розробники: Ю.М.Новожицька, Т.В.Євтушенко, Т.М.Кішик, Л.О.Школяренко;

22. «Методичні рекомендації з визначення залишків антимікробних препаратів в молоці за допомогою тестового набору для експрес аналізу (виробник «Унісенсор С.А., Бельгія»). Розробники: Мягка К.С.,

3

3. Відповідно до рішення Науково-методичної ради запропоновано внести зміни до розділу 2, п.2.2 «Порядку розробки, подання, розгляду та затвердження документів науково-методичного характеру (рекомендацій, настанов, вказівок)» схваленого 14 грудня 2017 року Науково-методичною радою Держпродспоживслужби Протокол № 4, а саме: «З метою розгляду рекомендацій в НМР на Голову Держпродспоживслужби подаються наступні документи», замінити на: «З метою розгляду рекомендацій в НМР на Голову Науково-методичної ради Держпродспоживслужби подаються наступні документи»

Рішення прийняті одногосно.

Голова Науково-методичної
ради Держпродспоживслужби

А.М. Головка

Секретар Науково-методичної
ради Держпродспоживслужби

О.П. Кудрявченко

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи



А.О. Меженський
2020 р

АКТ

про впровадження результатів дисертаційного дослідження Камінської Олени Василівни на тему: «Токсигенні мікроміцети роду *Fusarium*, біологічне обґрунтування заходів обмеження накопичення їх вторинних метаболітів у пшениці озимій та кукурудзі в Правобережному Лісостепу України» на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.11 – фітопатологія.

Комісія у складі: голова – вчений секретар ДНДІЛДВСЕ, канд. вет. наук, Київська Г.В.; члени комісії – завідувач відділу управління якістю досліджень, Штокало Н.О.; начальник лабораторії Elisa-test та визначення мікотоксинів науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу, Марченко Т.В.; начальник лабораторії атомно-абсорбційної спектрометрії науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу, канд. вет. наук, Шуляк С.В. цим Актом засвідчує, що результати дисертаційного дослідження, а саме методичні рекомендації «Визначення афлатоксинів В1, В2, G1, G2, зеараленону, дезоксиніваленолу, Т-2 токсину, охратоксину А, патуліну в зерні, продукції із зерна, кормах методом тонкошарової хроматографії» мають практичну цінність, актуальні і були впроваджені в практичну роботу науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Зазначені методичні рекомендації затверджено і прийнято до впровадження в практику ветеринарної медицини Науково-методичною радою Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів (протокол №3 від 20 грудня 2018 р.)

Голова комісії

вчений секретар, канд. вет. наук

Київська Г.В.

Члени комісії

завідувач відділу управління якістю досліджень

Штокало Н.О.

начальник лабораторії визначення мікотоксинів
науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу

Марченко Т.В.

начальник лабораторії атомно-абсорбційної
спектрометрії науково-дослідного хіміко-
токсикологічного відділу, канд. вет. наук

Шуляк С.В.

Затверджую

Доктор с.- г. наук

Директор ДП «ДГ «Еліта»

МПП ім. В.М.Ремесла НААН»



В.С.Кочмарський

«травня» 2020 р.

МП.

Акт

про впровадження результатів
дисертаційної роботи у виробничий процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Токсиногенні мікроміцети роду *Fusarium*, біологічне обґрунтування заходів обмеження накопичення їх вторинних метаболітів у пшениці озимій та кукурудзі в Правобережному Лісостепу України», що представлено на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.11 – фітопатологія, виконаною Камінською Оленою Василівною впроваджено у виробничий процес по попередженню поширення ураження посівів пшениці озимої грибами роду *Fusarium*, а також зменшення їх токсичних властивостей на зерні.

Комплексні дослідження щодо контролювання фузаріозу дозволили з впевненістю використовувати систему захисту на пшениці озимій з використанням протруювання насіння Вітавакс 200 Ф.Ф., в.с.к. (діюча речовина – 200 г/л карбоксина + 200 г/л тирама) із нормою витрати 2,5 л/т насіння у поєднанні із обробітком рослин пшениці озимої фунгіцидом в період вегетації Байзафон, з. п. (діюча реч-на – триадимефон 250 г/кг) із нормою витрати 1,0 кг/га, що ефективно стримує ураження зерна токсиногенними міксоміцетами роду *Fusarium*.

Результати цих досліджень були використані в виробничих умовах господарства ДП «ДГ «Еліта» МПП ім. В.М.Ремесла НААН» на культурі пшениці озимої на площі 250 га в 2014 - 2016 роках. Використання результатів забезпечило отримати прибавку врожаю на 0,6 т/га, ефективність використання препаратів на зниження ураження зерна патогенами становить 72 %

Агроном

Л.І.Ільченко