

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ОСТРОВСЬКИЙ ДЕНИС МИКОЛАЙОВИЧ**

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

**ДИСЕРТАЦІЯ**

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

16.00.06 “Гігієна тварин та ветеринарна санітарія”

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень.  
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання  
на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Д.М. Островський

Наукові керівники:

**Рухляда Валентин Васильович**

доктор ветеринарних наук, професор.

**Корнієнко Леонід Євгенович**

доктор ветеринарних наук, професор

Біла Церква – 2023

## Анотація

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

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 “Гігієна тварин та ветеринарна санітарія” Білоцерківський національний аграрний університет Біла Церква, 2023.

В дисертаційній роботі викладено результати вивчення поширення мікроскопічних грибів на зерні пшениці у різних регіонах України та встановлено їх токсигенний потенціал. Серед них визначали потенційних продуцентів дезоксиніваленолу та визначено оптимальні умови для продукції дезоксиніваленолу. Підтверджено токсичну дію дезоксиніваленолу на організми білих мишей та курчат, а також застосування препарату Мікосорб з метою зменшення токсичної дії дезоксиніваленолу в організмі курчат породи Адлер сріблястий.

Визначення кількісного та якісного складу епіфітної і ендоефітної мікобіоти зерна пшениці було проведено у різних регіонах України: Закарпатській, Київській, Чернігівській, Вінницькій, Хмельницькій, Черкаській, Кіровоградській, Миколаївській та Одеській областях. Серед виділених ізолятів мікроміцетів визначено можливі продуценти фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу (ДОНу), а також Т-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізіну В<sub>1</sub> та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот. Експериментально встановлено види субстратів та оптимальні режими (температури, вологості субстрату та тривалості терміну культивування) для максимальної продукції дезоксиніваленолу мікроміцетами. Вивчено вплив дезоксиніваленолу на організми білих мишей та курчат, встановлено мікроструктурні зміни тканин серця, печінки та нирок. Вивчено вплив дезоксиніваленолу на організм курчат породи Адлер сріблястий шляхом визначення змін

біохімічних показників сироватки крові та перевірено детоксикаційну здатність Мікосорбу. Вивчено вплив дезоксиніваленолу на динаміку формування антитіл проти Н'юкаслської хвороби у курчат після введення вакцини штаму Ла-Сота.

У дві тисячі шостому та дві тисячі сьомому роках було встановлено, що в зерні пшениці кількість спор мікроміцетів коливалась в діапазоні від  $1,2 \cdot 10^3$  до  $3 \cdot 10^5$  КУО/г, що в середньому становило  $2,25 \cdot 10^4 \pm 7,75 \cdot 10^3$  КУО/г. У 2006 р найбільшу кількість грибів було виявлено у зерні пшениці з Полісся, а менше – в зерні з зони Степу, а у 2007 р, навпаки – більше спор виявляли в зерні зони Степу, а менше – у зерні з зони Полісся.

Дослідження показали, що найбільш частими контамінантами, як 2006, так і 2007 років були мукоральні гриби та гриб *Alternaria alternata*. Відносно рідше траплялись гриби родів *Aspergillus* та *Penicillium* і рідко гриби роду *Fusarium*.

Щодо поширення грибів по зонах України, то мукоральні гриби контамінували зерно пшениці в регіоні Степу щорічно у 100 % зразків і в межах від 90 до 94,1 % у Лісостепу та Степу. Що стосується гриба *Alternaria alternata*, то у 2006 р. він був виділений у всіх пробах зерна із зони Лісостепу, а у 2007 р. – на Поліссі.

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

Встановлено, що переважно гриби роду *Fusarium* виділяли із зерна, вирощеного в зоні Полісся, мукоральні гриби контамінували всі 100 % проб зони Степу. Гриб *A. alternata* контамінував більше 84 % і був виділений у пробах усіх трьох досліджених зон. Одними з переважних контамінантів пшениці зони Степу були гриби роду *Aspergillus*, вони контамінували 94 % проб.

Екзофітні або зовнішні контамінанти зерна були представлені видами та родами грибів *Alternaria alternata*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Phoma exigua*, *Mycelia sterilia*, *Trichotecium roseum* та *Monascus ruber*, а ендофітні або внутрішні представлені *A. alternata*, *Phoma exigua*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium spp.*, *Trichotecium roseum* та *Talaromices luteus*. Частина ендофітних мікроскопічних грибів, отриманих під час досліджень, володіла фітопатогенними та потенційно токсигенними властивостями.

Виконаними дослідженнями встановлено, що в зерні пшениці урожаю 2016, 2017 рр. в Україні виявлено від  $1,12 \cdot 10^3$  до  $6,5 \cdot 10^4$  КУО/г, що в середньому складало  $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$  КУО/г.

Серед епіфітної мікобіоти врожаю 2016, 2017 рр. були мукоральні гриби, вони були виявлені у 84 % проб зерна. Серед них виявляли *Mucor spp.* у 92 % проб зерна із зони Полісся. Другу позицію за частотою виділення займали гриби *Aspergillus spp.* *Alternaria alternata* (80 % та 79 % проб відповідно). При цьому найбільше аспергіл було виявлено у зерні зі Степу (90 % випадків), а альтернатії на Поліссі (88 % проб). Одним із контамінантів зерна пшениці були і гриби роду *Penicillium spp.* (80 % проб). При цьому найбільше їх було виявлено у зоні Лісостепу у 72 % проб. Гриби роду *Fusarium spp.* були виявлені у 36 % проб, найбільше їх було виділено у зерні з зони Полісся (64 % проб), а найменше із зони Степу (10 %).

Стосовно глибинної, або ендоефітної мікобіоти врожаю 2016, 2017 рр. можна сказати, що найбільш часто виявленими були гриби родів *Alternaria* (67 % проб), *Aspergillus spp.* (37 %), *Phoma exiguua* (30 %), рідше виділяли роди *Fusarium spp.* та *Mucor spp.* (19 % проб).

З 39 ізолятів фузаріїв токсичними властивостями володіли 18 ізолятів. З них чотири штами *F. sporotrichiella var. tricinctum* та *F. sporotrichiella var. poae* обумовлювали зони пригнічення росту тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК діаметром від 17 до 20 мм і були віднесені до токсичних. Ще 14 штамів утворювали зони затримки росту від 8 до 15 мм та були визначені як слаботоксичні. До них належали *Fusarium sporotrichiella var. poae* – 3 штами, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 3, *Fusarium spp.* – 2, *F. semitectum* – 1, *F. graminearum* – 1, *F. oxysporum var. orthoceras* – 1, *F. moniliforme var. lactis* – 1. Решта культур були атоксичні. З них Т-2 токсин продукували *F. sporotrichiella var. poae* – 8 штамів, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 3 та 1 неідентифікований *Fusarium spp.* Ще 15 штамів грибів продукували неідентифіковані трихотеценові мікотоксини серед, них *F. oxysporum var. orthoceras* – 4 штами, *F. moniliforme var. lactis* – 3, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 4, *F. graminearum* – 2 та *F. culmorum* – 1.

Серед грибів, виділених із зерна пшениці, три ізоляти *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrich. var. tricinctum* 1241/3 та *F. sporotrich. var. poae* 1210/5 продукували зеараленон, один *F. graminearum* 1273 – ДОН, три ізоляти *F. moniliforme var. lactis* 1210д/2, *F. moniliforme var. lactis* 1208/5 та *F. oxysporum var. orthoceras* 1206д/3 – фумонізін В<sub>1</sub>. Із 39 штамів грибів *Fusarium* – 12 штамів продукували Т-2 токсин серед них 8 – *F. sporotrichiella var. poae*, 3 *F. sporotrichiella var. tricinctum* та 1 *Fusarium spp.*, 15 штамів продукували неідентифіковані трихотеценові мікотоксини і жоден штам не продукував моніліформін. Продукенти Т-2 токсину були виявлені в зерні з Київської – (7), Вінницької – (2), Закарпатської – (1),

Одеської – (1) областей. Зеараленон синтезували ізоляти грибів виділені з зерна Київської та Закарпатської областей, а продуценти фумонізину В<sub>1</sub> виявлені у зерні Київської та Одеської областей. Неідентифіковані трихотеценові мікотоксини синтезували ізоляти грибів із зерна Вінницької, Чернігівської, Закарпатської, Харківської, Київської, Одеської областей.

Серед грибів *Aspergillus flavus* були встановлені продуценти коєвої, аспергілової, пеніцилової кислот, а продуцентів афлатоксину серед них не виявлено. Щодо поширення по областях, то продуценти коєвої кислоти були виділені в зерні Одеської, Вінницької, Кіровоградської, Чернігівської та Київської областей. Продуценти аспергілової кислоти були виділені з зерна пшениці Одеської, Вінницької, Київської, Чернігівської, Кіровоградської, Закарпатської та Миколаївської областей і лише один продуцент пеніцилової кислоти був виділений у зерні Чернігівської області.

Внаслідок дезоксиніваленолтоксикозу мишей у печінці виявляли збільшення гепатоцитів, просвітлення та збільшення частини їх ядер, в яких чітко проглядали базофільні ядерця. Цитоплазма таких гепатоцитів містила оксифільну зернистість. Магістральні судини печінки були слабо наповнені кров'ю. Виявлений каріорексис свідчив про початковий етап розвитку некрозу печінки. У нирках мишей виявляли набухання епітелію звивистих і прямих канальців. Цитоплазма епітелію таких канальців була мутна або мала оксифільну зернистість, що свідчило про мутне набухання та зернисту дистрофію епітелію. У міокарді мишей виявляли просвітлення цитоплазми кардіоміоцитів, місцями з блідо-рожевою зернистістю. Ядра їх були збільшені, просвітлені, в них було видно базофільні ядерця, судини помірно наповнені кров'ю. Переважна більшість кардіоміоцитів перебувала в стані білкової зернистої дистрофії.

Внаслідок дезоксиніваленолтоксикозу у нирках курчат були виявлені патологічні зміни у вигляді численних діapedезних крововиливів в

судинах, більша частина епітеліоцитів перебувала в стані білкової зернистої дистрофії із руйнуванням звивистих каналців. Подібні зміни спостерігали у серці і печінці птахів. Сорбент Мікосорб у кількості 2 % від маси корму позитивно впливав на організм курчат, що відображалось збільшенням приростів маси тіла, з гладженням змін внутрішніх органів викликаних, дією дезоксиніваленолу та покращував компенсаторні механізми організму шляхом зміни активності ферментів сироватки крові.

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

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

### Summary

**Ostrovskiy D.M. Sanitary and hygienic assessment of the effect of wheat grain contaminated with toxigenic micromycetes on the body of poultry – Qualification scientific work on manuscript rights.**

Dissertation for obtaining the scientific degree of candidate of veterinary sciences in the specialty 16.00.06 "Animal hygiene and veterinary sanitation" Bila Tserkva National Agrarian University Bila Tserkva, 2023.

The results of the study of the distribution of microscopic fungi on wheat grains in different regions of Ukraine and their toxigenic potential are described in the dissertation. Among them, potential producers of deoxynivalenol were identified and optimal conditions for deoxynivalenol production were determined. The toxic effect of deoxynivalenol on the organisms of white mice

and chickens was confirmed, as well as the use of the drug Mycosorb to reduce the toxic effect of deoxynivalenol in the body of silver Adler breed chickens.

Determination of the quantitative and qualitative composition of the epiphytic and endophytic mycobiota of wheat grain was carried out in different regions of Ukraine: Zakarpattia, Kyiv, Chernihiv, Vinnytsia, Khmelnytskyi, Cherkasy, Kirovohrad, Mykolaiv, and Odesa regions. Possible producers of fusariotoxins - deoxynivalenol (DON), as well as T-2, F-2 toxins, moniliformin, fumonisin B<sub>1</sub> and aspergillotoxins - aflatoxins, penicillic, kojic and aspergillic acids were identified among the micromycete isolates. The types of substrates and the optimal conditions (temperature, humidity of the substrate, and duration of the cultivation period) for the maximum production of deoxynivalenol by micromycetes were experimentally determined. The effect of deoxynivalenol on the organisms of white mice and chickens was studied, and microstructural changes in heart, liver, and kidney tissues were established. The effect of deoxynivalenol on the body of silver Adler breed chickens was studied by determining the changes in biochemical indicators of blood serum, and the detoxification ability of Mycosorb was tested. The effect of deoxynivalenol on the dynamics of the formation of antibodies against Newcastle disease in chickens after administration of the La Sota strain vaccine was studied.

In year two thousand and six and two thousand and seven years, it was established that the number of micromycete spores in wheat grain ranged from  $1.2 \cdot 10^3$  to  $3 \cdot 10^5$  CFU/g, which averaged  $2.25 \cdot 10^4 \pm 7.75 \cdot 10^3$  CFU/g. In 2006, the largest number of fungi was detected in wheat grains from Polissia, and fewer - in grains from the Steppe zone, and in 2007, on the contrary, more spores were detected in grains from the Steppe zone, and less - in grains from the Polissia zone.

Studies have shown that the most frequent contaminants in both 2006 and 2007 years were mucoral fungi and *Alternaria alternata*. Fungi of the genera



*Aspergillus* and *Penicillium* and rare fungi of the genus *Fusarium* were relatively rare.

Regarding the distribution of fungi in the zones of Ukraine, mucoral fungi contaminated wheat grain in the Steppe region annually in 100% of samples and in the range from 90 to 94.1% in the Forest Steppe and Steppe. As for the fungus *Alternaria alternata*, in 2006 it was isolated in all grain samples from the Forest Steppe zone, and in 2007 – in Polissia.

Our research showed that the epiphytic mycobiota of wheat grain of the 2006-2007 years harvest was represented by 21 species of micromycetes belonging to 9 genera. *A. alternata* (90% of samples), representatives of the family *Mucorales* (89%) and in particular the genus *Mucor* (87%) were mostly found. Representatives of the genera *Aspergillus* (79 %), among which *Aspergillus flavus* (60 %) and *A. fumigatus* (50 %) and the genera *Penicillium* (57 %) and *Fusarium* (37 %) prevailed, and *Phoma exigua* (17 %), *Mycelia sterilia* (7 %), *Trichothecium roseum* (2.9 %) and *Monascus ruber* (1.4 %).

It was established that mainly fungi of the genus *Fusarium* were isolated from grain grown in the Polissya zone, mucoral fungi contaminated all 100% of samples from the Steppe zone. The fungus *A. alternata* contaminated more than 84% and was isolated in the samples of all three investigated zones. *Aspergillus* fungi were one of the predominant contaminants of wheat in the Steppe zone, they contaminated 94 % of the samples.

Exophytic or external contaminants of grain were represented by species and genera of fungi *Alternaria alternata*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Phoma exigua*, *Mycelia sterilia*, *Trichotecium roseum* and *Monascus ruber*, and endophytic or internal ones were represented by *A. alternata*, *Phoma exigua*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium spp.*, *Trichotecium roseum* and *Talaromices luteus*. Some of the endophytic microscopic fungi obtained during the research had phytopathogenic and potentially toxigenic properties.

The conducted studies established that wheat grains of the harvest of 2016, 2017 years in Ukraine contained from  $1,12 \cdot 10^3$  to  $6,5 \cdot 10^4$  CFU/g, which averaged  $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$  CFU/g.

Among the epiphytic mycobiota of the 2016, 2017 harvest were mucoral fungi, they were found in 84 % of grain samples. Among them, *Mucor spp.* in 92% of grain samples from the Polissia zone. The second position in terms of the frequency of isolation was occupied by fungi *Aspergillus spp.* *Alternaria alternata* (80 % and 79 % of samples, respectively). At the same time, *aspergillus* was the most found in grain from the Steppe (90 % of cases), and *Alternaria* from Polissia (88 % of samples). Fungi of the genus *Penicillium spp.* were one of the contaminants of wheat grain. (80 % of samples). At the same time, most of them were detected in the forest-steppe zone in 72 % of the samples. Fungi of the genus *Fusarium spp.* were found in 36 % of the samples, most of them were isolated in grains from the Polissia zone (64 % of samples), and the least from the Steppe zone (10 %).

Regarding the deep or endophytic mycobiota of the 2016, 2017 harvest, it can be said that the most frequently detected fungi were *Alternaria* genera (67 % of samples), *Aspergillus spp.* (37 %), *Phoma exigua* (30 %), *Fusarium spp.* and *Mucor spp.* (19 % of samples).

Out of 39 *Fusarium* isolates, 18 isolates had toxic properties. Of them, four strains of *F. sporotrichiella var. tricinctum* and *F. sporotrichiella var. poae* caused zones of inhibition of the growth of the *Candida pseudotropicalis* test culture of 44 PCs with a diameter of 17 to 20 mm and were classified as toxic. Another 14 strains formed zones of growth retardation from 8 to 15 mm and were defined as weakly toxic. They included *Fusarium sporotrichiella var. poae* – 3 strains, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 3, *Fusarium spp.* – 2, *F. semitectum* – 1, *F. graminearum* – 1, *F. oxysporum var. orthoceras* – 1, *F. moniliforme var. lactis* – 1. The rest of the cultures were atoxic. Among them, T-2 toxin was produced by *F. sporotrichiella var. poae* – 8 strains, *F.*

*sporotrichiella var. tricinctum* – 3 and 1 unidentified *Fusarium spp.* Another 15 fungal strains produced unidentified trichothecene mycotoxins, among them *F. oxysporum var. orthoceras* – 4 strains, *F. moniliforme var. lactis* – 3, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 4, *F. graminearum* – 2 and *F. culmorum* – 1.

Among the fungi isolated from wheat grain, three isolates of *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrich.var. tricinctum* 1241/3 and *F. sporotrich.var. poae* 1210/5 produced zearalenone, one *F. graminearum* 1273 - DON, three isolates of *F. moniliforme var. lactis* 1210d/2, *F. moniliforme var. lactis* 1208/5 and *F. oxysporum var. orthoceras* 1206d/3 – fumonisin B<sub>1</sub>. Out of 39 strains of *Fusarium* fungi, 12 strains produced T-2 toxin, among them 8 - *F. sporotrichiella var. poae*, 3 *F. sporotrichiella var. tricinctum* and 1 *Fusarium spp.*, 15 strains produced unidentified trichothecene mycotoxins and no strain produced moniliformin. Producers of T-2 toxin were detected in grain from Kyiv - (7), Vinnytsia - (2), Zakarpattia - (1), Odesa - (1) regions. Zearalenone was synthesized by fungal isolates isolated from grain of Kyiv and Zakarpattia regions, and fumonisin B<sub>1</sub> producers were found in grain of Kyiv and Odesa regions. Unidentified trichothecene mycotoxins were synthesized by fungal isolates from grain in Vinnytsia, Chernihiv, Zakarpattia, Kharkiv, Kyiv, Odesa regions.

Producers of kojic, aspergillic, and penicillic acids were found among *Aspergillus flavus* fungi, and aflatoxin producers were not found among them. Regarding distribution by regions, producers of kojic acid were identified in the grain of Odesa, Vinnytsia, Kirovohrad, Chernihiv and Kyiv regions. Producers of aspergillic acid were isolated from wheat grains of Odesa, Vinnytsia, Kyiv, Chernihiv, Kirovohrad, Zakarpattia, and Mykolaiv regions, and only one producer of penicillic acid was isolated from grain of Chernihiv region.

As a result of deoxynivalenol toxicosis, the liver of mice showed an increase in hepatocytes, lightening and an increase in part of their nuclei, in which basophilic nucleoli were clearly visible. The cytoplasm of such

hepatocytes contained oxyphilic granules. The trunk vessels of the liver were weakly filled with blood. The detected karyorrhexis testified to the initial stage of development of liver necrosis. Swelling of the epithelium of convoluted and straight tubules was detected in the kidneys of mice. The cytoplasm of the epithelium of such tubules was cloudy or had oxyphilic granularity, which indicated cloudy swelling and granular dystrophy of the epithelium. In the myocardium of mice, lightening of the cytoplasm of cardiomyocytes was detected, in places with pale pink granularity. Their nuclei were enlarged, illuminated, basophilic nuclei were visible in them, the vessels were moderately filled with blood. The vast majority of cardiomyocytes were in a state of protein granular dystrophy.

As a result of deoxynivalenol toxicosis, pathological changes were detected in the kidneys of chickens in the form of numerous diapedesis hemorrhages in the vessels, most of the epitheliocytes were in a state of protein granular dystrophy with the destruction of convoluted tubules. Similar changes were observed in the heart and liver of birds. Mycosorb sorbent in the amount of 2 % of the feed mass had a positive effect on the body of chickens, which was reflected by an increase in body weight, smoothing changes in internal organs caused by the action of deoxynivalenol, and improved the body's compensatory mechanisms by changing the activity of blood serum enzymes.

As a result of deoxynivalenolotoxicosis, degenerative changes were detected in the liver, heart and kidneys of mice. The introduction of deoxynivalenol at a dose of 70 mg/kg of body weight to Adler silver cross chickens caused a decrease in body weight, a change in the activity of alkaline phosphatase isoenzymes and the exchange of certain macroelements in blood serum, which was accompanied by pathological changes in the kidneys, heart and liver. The immunosuppressive effect of deoxynivalenol on the causative agent of Newcastle disease in the body of chickens has also been proven.

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

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### Статті у наукових фахових виданнях України

1. Рухляда В.В., **Островський Д.М.**, Курченко І.М. Епіфітна і ендофітна мікобіота зерна пшениці в Україні. Науковий вісник ветеринарної медицини: збірник наукових праць. 2009. Вип. 62. С. 78–80. *(Дисертант брав участь у проведенні наукових досліджень і написанні статті).*

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

3. **Островський Д.М.** Біосинтез дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum schwabe* штам 195/1 на різних зернових субстратах. Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії. 2009. Вип. 19. Част. 2. Том. 1. «Ветеринарні науки». С. 129–132.

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

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

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

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

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

#### **Статті у виданнях України, включених до науково-метричних баз**

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

#### **Методичні рекомендації**

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

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

**Тези наукових доповідей:**

1. **Островський Д.М.,** Рухляда В.В. Епіфітна та ендоефітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2006 року. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів та докторантів. м. Біла Церква. 2008. С. 44.
2. Рухляда В.В., **Островський Д.М.,** Утеченко М.В. Вплив дезоксиніваленолу на білих мишей. Матеріали VII Держ.наук.-практ. конф. м. Біла Церква. 2008. С. 80–81.
3. **Островський Д.М.** Вплив дезоксиніваленолу на організм курчат породи Адлер сріблястий. Тези доповідей Державної науково-практичної конференції аграрна наука – виробництву: «Сучасні проблеми ветеринарної медицини». м. Біла Церква. 2011. С. 27–28.
4. Рухляда В.В., **Островський Д.М.** Вивчення дії дезоксиніваленолу на білих мишей. Аграрна наука – виробництву «Сучасні проблеми ветеринарної медицини»: Тези Державної науково-практичної конференції. м. Біла Церква. 2012. С. 25.
5. **Островський Д.М.** Токсигенні властивості мікроміцетів *Fusarium* та *Aspergillus*. Матеріали щорічної науково-практичної конференції молодих вчених. м. Київ. 2017. С. 64–65.
6. **Островський Д.М.** та ін. Мікроскопічні гриби зерна пшениці зони Полісся. Сучасний розвиток ветеринарної медицини: міжнародної науково-практичної конференції аграрна освіта та наука досягнення, роль, фактори росту. м. Біла Церква. 2020. С. 41–43.
7. **Островський Д.М.** та ін. Продукція дезоксиніваленолу ізолятом 195/1 *F. graminearum* залежно від виду зернового субстрату. Сучасний розвиток ветеринарної медицини: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. м. Біла Церква. 2022. С. 40–41.
8. **Островський Д.М.,** Зоценко В.М. Вплив температури на продукцію дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum* ізолят 195/1.



Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин: матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції, м. Полтава. 2022. С. 133–135.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	29
1.1. Контамінація мікроміцетами зерна злаків та їх токсигенні властивості	29
1.2. Вплив дезоксиніваленолу на організм тварин і птахів	42
1.3. Вплив умов навколишнього середовища на біосинтез грибами дезоксиніваленолу	50
1.4. Способи зниження токсичної дії мікотоксинів в організмі тварин	57
1.5. Заключення з огляду літератури	59
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
2.1. Мікологічні дослідження	61
2.2. Мікотоксикологічні дослідження	66
2.3. Визначення токсичності дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей	74
2.4. Визначення токсичності дезоксиніваленолу для курчат породи Адлер сріблястий	75
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1. Контамінація зерна пшениці різних регіонів України токсигенними мікроміцетами	79
3.1.1. Епіфітна мікобіота зерна пшениці	79
3.1.2. Ендофітна мікобіота зерна пшениці	84
3.2. Токсигенні властивості виділених грибів	93
3.2.1. Токсичність грибів для тест-мікроорганізмів	93
3.2.2. Фузаріотоксини ізолятів грибів роду <i>Fusarium</i>	97
3.2.3. Токсичні властивості грибів роду <i>Aspergillus</i>	104
3.2.4. Вплив умов зовнішнього середовища на синтез дезоксиніваленолу ізолятами грибів роду <i>Fusarium</i>	108

3.2.5. Вплив терміну культивування <i>F. graminearum</i> ізолятом 195/1 на продукцію дезоксиніваленолу	110
3.3. Токсичність дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей і курчат	112
3.3.1. Токсичність дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей	112
3.3.2. Токсичність дезоксиніваленолу для курчат породи Адлер сріблястий та його детоксикація	118
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	126
ВИСНОВКИ	134
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	138
ДОДАТКИ	158

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ**

- ДОН – дезоксиніваленол  
ТТМТ – трихотеценові мікотоксини  
КФ – кисла фосфатаза  
ЛФ – лужна фосфатаза  
Ф-2 токсин – зеараленон  
Т-2 – токсин  
МОН – моніліформін  
FB<sub>1</sub> – фумонізін В<sub>1</sub>  
КУО – колоніє утворювальна одиниця  
ТШХ – тонкошарова хроматографія  
ЦДС – цукрово-дріжджове середовище  
УФ – ультрафіолетове світло  
*R<sub>f</sub>* – хроматографічна рухливість  
ЛД<sub>50</sub> – середня летальна доза  
МДР – максимально допустимий рівень

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Пшениця – одна з найважливіших харчових і кормових зернових культур, тому від її якості та безпечності залежить споживча цінність, поживність та нешкідливість отриманих з неї харчових продуктів і комбікормів [175, 93, 51, 21, 57].

Із зерна пшениці виготовляють такі харчові продукти як хлібобулочні та макаронні вироби, дитяче харчування тощо, а також різноманітні корми для годівлі тварин, оскільки в пшениці містяться цінні вуглеводи (маноза і рафіноза), які поліпшують засвоєння мінеральних речовин, зокрема, в організмі молодняку тварин [175, 94].

Якість і безпечність зерна пшениці залежить від погодних та кліматичних умов, зокрема, таких як температура та вологість у період вирощування, дозрівання, збирання та зберігання врожаю. Необхідно зазначити, що безпечність зерна пшениці значною мірою визначається ступенем його ураження мікроскопічними грибами та вмістом мікотоксинів [93, 97, 3, 35, 20, 12, 54, 31, 71, 72].

Нині у науковій літературі все більше і частіше публікуються матеріали наукових досліджень випадків отруєнь мікотоксинами людини і тварин або наявності їх у зернових кормах та харчових продуктах. Так, за повідомленнями департаменту харчування та сільського господарства ООН ФАО на початку XXI століття в 25 % зернових виявлено вміст мікотоксинів, а за сучасними даними окремих науковців 80 % світового врожаю зерна містить мікотоксини [82, 144, 72, 3].

Одним із ризиків під час годівлі птиці, а, відповідно, отримання безпечних харчових продуктів птахівництва відіграють фузаріотоксини, серед них важлива роль належить дезоксиніваленолу. Останній викликає у тварин відмову від споживання корму, зниження добових приростів,

блювання, порушення обміну речовин, зниження резистентності організму, а у птиці – пригнічення імунітету, зниження продуктивності і шлунково-кишкові розлади [36, 59, 98, 12, 13].

Щорічні збитки від ураження культурних рослин мікроскопічними грибами, наявності в зерні мікотоксинів, недоотримання продуктів та загибелі тварин в США складають понад 20 млрд. доларів. Це потенційно призводить до втрати 40 % врожаю, в той час як десять років тому світові втрати врожаю зерна, пов'язані з контамінацією спорами грибів та їх токсинами становили лише 2 млрд. доларів на рік [117].

Дослідження зернових культур щодо контамінації мікроскопічними грибами та їх мікотоксинами постійно проводяться в багатьох країнах світу. В Україні результати токсикомікологічних досліджень зерна і комбікормів були висвітлені у публікаціях (Рухляда В.В. та ін. 2010; Харченко С.Н. и др. 1982; Котик А.Н. и др. 1997; Малініна О. та ін. 2003; Труфанова В. та ін. 2004; Brezvnyn, O. et al. 2013, Якубчак О.М. та ін. 2018, Данкович Р.С. 2019), зерна кукурудзи (Білик С.А., 2006), ячменю (Андрійчук А.В., 2007) та вівса (Білан, А.В. 2009). Проте систематизованих даних щодо контамінації зерна пшениці мікроміцетами та частоти поширення окремих видів токсигенних грибів у різних регіонах в Україні немає. Це не дозволяє передбачати та прогнозувати можливий вміст мікотоксинів у злакових культур, залежно від температурно-вологісних умов навколишнього середовища окремих кліматичних зон. Тому дослідження, спрямовані на вирішення питання санітарно-гігієнічної оцінки зерна пшениці залежно від регіону України, контамінованого токсигенними мікроміцетами, дозволить систематизувати дані, прогнозувати рівень накопичення окремих мікотоксинів у зерні злакових культур та розробити заходи профілактики мікотоксикозів тварин і людини.

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

Дисертаційну роботу виконано на базі кафедр: «Мікробіології та вірусології» та «Гігієни тварин та основ санітарії» Білоцерківського національного аграрного університету в рамках наукової теми: «Вивчення ролі мікроскопічних грибів та їх метаболітів у патології сільськогосподарських тварин» № 0107U012292) 2007–2012 рр.

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

Для досягнення поставленої мети були поставлені наступні завдання:

- проаналізувати кількісний та якісний склад епіфітної і ендоефітної мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в різних регіонах України;
- виявити серед виділених мікроміцетів потенційних продуцентів фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу, а також Т-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізіну В<sub>1</sub> та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот;
- встановити оптимальні температурно-вологісні режими для максимальної продукції мікроміцетами дезоксиніваленолу у зерні пшениці;
- дослідити гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок білих мишей під впливом дезоксиніваленолу;
- проаналізувати біохімічні показники сироватки крові, гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок та визначити ефективність

застосування мікосорбу в організмі курчат породи Адлер сріблястий за впливу дезоксиніваленолу;

- визначити вплив дезоксиніваленолу на показники специфічного поствакцинального імунітету до Ньюкаслської хвороби у курчат породи Адлер сріблястий.

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

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

**Методи дослідження.** Мікологічні щодо визначення кількісного та якісного складу епіфітної та ендоефітної мікобіоти зерна пшениці. Мікотоксикологічні вивчення здатності грибів продукувати мікотоксини, та шляхи їх детекції. Загальні клінічні та біохімічні дослідження активності ферментів загальної лужної фосфатази, кислої фосфатази, кісткового ізоферменту, кишкового ізоферменту; вмісту загального кальцію, іонізованого кальцію, загального магнію, неорганічного фосфору. Імунологічні дослідження – титри антитіл проти хвороби Ньюкасла на фоні впливу дезоксиніваленолу. Патологоанатомічні та гістологічні зміни в організмі тварин при мікотоксикозах. Математично-статистичні методи обробки експериментальними даних.

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



Вперше вивчена продукція дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum* штам 195/1 на 15 різних зернових субстратах, встановлені температурно-вологісні режими, типи субстрату та тривалість токсиногенезу.

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

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

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

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

Доведено, що за дезоксиніваленолотоксикозу знижується продуктивність курчат породи Адлер сріблястий та ефективність їх імунізації до хвороби Ньюкасла. Для профілактики

дезоксиніваленолотоксикозу необхідно застосовувати препарат Мікосорб в дозі 20 г/кг комбікорму, що дозволяє знизити ризики зниження продуктивності та виникнення патологічних змін у внутрішніх органах птиці.

Наукові розробки призначені для використання у лабораторіях ветеринарної медицини України та у лабораторіях науково-дослідних установ. Для контролю контамінації зерна пшениці грибами роду *Fusarium* розроблено методику, наведену в Методичних рекомендаціях «Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленол (ДОН)», які затверджено Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25.12. 2014 р. Розроблено також Методичні вказівки по експресному визначенню здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 токсин (зеараленон), які затверджені Науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України протокол № 1 від 23.12. 2010 р.

Отримані результати також будуть корисні для підготовки здобувачів вищої освіти в навчальному процесі при викладанні курсів “Гігієна тварин та ветеринарна санітарія”, “Ветеринарна мікробіологія”, та “Ветеринарна токсикологія” та для слухачів інституту підвищення кваліфікації.

**Особистий внесок дисертанта** полягає в аналізі вітчизняних та іноземних літературних джерел з теми дисертаційної роботи, розробці планів та схем експериментальних досліджень, їх організації і виконанні, статистичній обробці одержаних результатів, їх аналізі, узагальненні, формулюванні висновків та практичних рекомендацій.

Видову ідентифікацію мікроміцетів проводили частково у відділі фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України спільно з кандидатом біологічних наук І.М. Курченко та на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського

НАУ разом з кандидатом ветеринарних наук А.В. Андрійчуком. Біохімічні дослідження сироватки крові птиці проводили спільно з кандидатом ветеринарних наук, асистентом кафедри терапії та клінічної діагностики Білоцерківського НАУ А.Ю. Мельником, інтерпретація отриманих результатів проходила за консультаційної допомоги професора кафедри, академіка НААН України В.І. Левченка.

Мікроскопічне дослідження гістопрепаратів проводили на кафедрі ветсанекспертизи та патанатомії Білоцерківського НАУ, за консультативної допомоги доцента кафедри, кандидата ветеринарних наук М.В. Утеченка.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації було апробовано в доповідях та обговорено на: Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів та докторантів “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті” (м. Біла Церква, 2008 р.); VII Державній науково-практичній конференції “Аграрна наука – виробництву” (м. Біла Церква, 2008 р.); V Всеукраїнській науково-практичній конференції ветеринарних патологів “Сучасні проблеми загальної патології у ветеринарній медицині” (м. Суми, 2009 р.); звітній науково-практичній і навчально-методичній конференції за результатами наукової діяльності вчених факультету ветеринарної медицини ХДЗВА за 2008–2009 н. р., “Новітні досягнення та перспективи розвитку ветеринарної медицини” (м. Харків, 2009 р.); Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті” (м. Біла Церква, 2010 р.); Державній науково-практичній конференції аграрна наука – виробництву “Сучасні проблеми ветеринарної медицини” (м. Біла Церква, 2011 р.); Державній науково-практичній конференції аграрна наука – виробництву “Сучасні проблеми ветеринарної медицини” (м. Біла Церква, 2012 р.); Державній науково-практичній конференції “Сучасні проблеми

ветеринарної медицини” (м. Біла Церква, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції “Основні напрями забезпечення ветеринарного благополуччя тваринництва” (м. Біла Церква, 2014 р.); Щорічній науково-практичній конференції молодих вчених “Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин” (м. Київ, 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції “Еколого-регіональні проблеми ветеринарної медицини в забезпеченні здоров’я тварин” (Житомир, 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції “Епізоотологія, здоров’я та добробут тварин” (м. Київ, 2017 р.); Всеукраїнському науково-практичному семінарі присвяченому 120-річчю НУБіП України “Лабораторна діагностика: освіта, наука, практика” (м. Київ, 2018 р.), Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний розвиток ветеринарної медицини” (м. Біла Церква, 2020 р.), Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасний розвиток ветеринарної медицини” (м. Біла Церква, 2022 р.), Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції “Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин” (м. Полтава, 2022 р.);

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 15 наукових праць, зокрема 8 статей у фахових виданнях України, 1 у фахових виданнях України включених до міжнародних наукометричних баз даних, 2 науково-практичних рекомендацій та 8 тез доповідей.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертація складається з вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, результатів дослідження та їх обговорення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Робота містить 174 сторінку комп’ютерного тексту, ілюстровано 14 рисунками і 23 таблицями, список літератури містить 182 використаних джерел.

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Контамінація мікроміцетами зерна злаків та їх токсигенні властивості

Мікроскопічні гриби постійно є представниками ґрунтової мікрофлори і контамінантами зернових кормів, про що свідчать мікологічні дослідження [153]. Дослідженнями було встановлено, що проби зерна ячменю, кукурудзи, пшениці та гороху, а також комбікорми, які відбирались в Харківській, Полтавській, Запорізькій, Донецькій, Дніпропетровській та Луганській областях як правило, значною мірою були контаміновані мікроскопічними грибами. Серед мікобіоти кормів переважали роди *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* та мукоральні гриби родів *Rhizopus*, *Mucor*, *Zygorhynchus*, *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Absidia*, *Acremonium*, *Syncephalastrum*. Автори зазначають, що рівень ураження кормів представниками роду *Fusarium* значно виріс, від 8,05 % у 2000 р. до 59,4 % у 2002 р. В разі згодовування курам-несучкам цього корму спостерігали випадки зниження продуктивності, яке корелятивно залежало від кількості діаспор грибів у кормах.

Іващенко В.Г. та ін. [142] провели вивчення видового складу грибів роду *Fusarium* на злаках в Євразії. Вони встановили присутність у зерні таких видів мікроскопічних грибів роду *Fusarium* як *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. moniliforme*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sambucinum* та *F. heterosporum*. Проведений аналіз показав відсутність пристосованості окремих видів фузаріїв до певних видів зернових культур в агрофітоценозах різних еколого-географічних зон.

Згідно з їх результатами комплекс грибів, що контамінує зернові культури коливається від 5 до 9 видів. У поширеності ряду видів фузаріїв спостерігалася певна закономірність. Так *F. graminearum* домінував у помірно-теплих і вологих умовах Примор'я і Амурської областей, *F. sambucinum* здебільшого траплявся на злаках холодних зон, зокрема Якутської та Іркутської областей, *F. culmorum* і *F. tricinctum* був ізольований лише в холодних зонах Якутської і Свердловської областей. До грибів-космополітів були віднесені *F. avenaceum* і *F. sporotrichioides*, що мали поширеність практично в усіх зонах Російської Федерації. Після проведення моніторингу вчені виділили дві зони фузаріозу – далекосхідний, де переважають збудник фузаріозу – *F. graminearum* і Алтайський, де існує висока прихована забрудненість рослин декількома токсичними мікроміцетами – *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. roae*, *F. moniliforme* та ін.

Харченко С.М. та Литвин В.П. провели мікотоксикологічний аналіз зернових кормів, вирощених у Київській області України і встановили, що серед епіфітної мікофлори зерна пшениці та кукурудзи переважали гриби роду *Fusarium* відповідно 81 % та 52 % від загальної кількості ізольованих видів мікроміцетів. На зерні пшениці роди *Mucor* і *Trichoderma* займали по 15 %, а *Penicillium* – 18 % [181, 182].

Білик С.А. [128] провів ряд досліджень із вивчення кількісного та якісного складу мікобіоти зерна кукурудзи різних регіонів України. Він встановив здатність грибів роду *Fusarium* продукувати Т-2 токсин, F-2 токсин та моніліформін і токсигенний потенціал деяких видів грибів роду *Aspergillus*.

Андрійчук А.В. [121] займався вивченням поширення мікроскопічних грибів на зерні ячменю, їх кількісного та якісного складу. Він вивчив токсигенні властивості виділених фузаріїв, та вперше виявив продуцент охратоксину А серед грибів *Aspergillus niger*.

Білан А.В. [127] вивчив мікобіоту зерна вівса з різних регіонів України. Серед грибів роду *Fusarium* ним були встановлені продуценти Т-2 токсину, зеараленону, моніліформіну, фумонізіну В<sub>1</sub>, фузарину С та фузарієвої кислоти, а серед грибів роду *Aspergillus* – продуцентів коєвої кислоти. Також вивчав вплив фумонізіну В<sub>1</sub> на курчат.

Richardson К.Е. et al. [83] вивчали продукцію зеараленону, Т-2 токсину і дезоксиніваленолу за ураження грибами роду *Fusarium* із різних рослинних продуктів у штаті Північна Кароліна (США). У 6 токсигенних штамів *Fusarium* виявили здатність продукувати зеараленон, Т-2 токсин і ДОН. Ізоляти *F. acuminatum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* та *F. solani* продукували зеараленон в концентрації від 12,9 до 71,4  $\mu\text{г/кг}$  рису. Лише один штам *F. graminearum* продукував одночасно з зеараленоном і ДОН ( $4,3 \pm 0,1$   $\mu\text{г/кг}$ ). Ізолят *F. equiseti* синтезував Т-2 токсин в концентрації  $9 \pm 1,3$   $\mu\text{г/кг}$ . На думку авторів це перше повідомлення про синтез грибом *F. solani* зеараленону.

Вълчева А. [138] провела мікологічне і мікотоксикологічне дослідження 135 проб товарного зерна пшениці врожаїв 1996–1998 рр. в Болгарії. Мікофлора пшениці характеризувалася відносною постійністю видового складу і варіювала лише у кількісному співвідношенні окремих плісень по роках. Вона була представлена грибами 8 родів *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Mucor* і *Rhizopus*. Здебільшого контамінантами за трирічний період виявились гриби роду *Fusarium* – 25–35 %. Мікотоксикологічними дослідженнями пшениці встановлено, що в кліматичних умовах Болгарії дезоксиніваленол є постійним забруднювачем і його вміст коливається від 0,2 до 0,7  $\text{мг/кг}$ .

Гаврилов А.А. та інші [165] дослідили поширення токсигенних грибів на зерні озимої пшениці в чотирьох природно-кліматичних зонах. У період зберігання зерна найбільш поширеними були гриби родів *Alternaria* (37,2 %), *Penicillium* (30,1 %), *Aspergillus* (23,5 %), з середньою частотою

виявлення – гриби *Fusarium* (8,5 %) та рідко траплялись гриби родів *Mucor* і *Rhizopus* (4,6 %).

Krysinska–Traczyk et al. [61] вивчали вміст грибів і мікотоксинів в пробах зерна на сході Польщі. Вони дослідили по 10 проб зерна пшениці і пил, який осідав під час машинного помелу зерна на 10 фермах Люблінського регіону. Мікроміцети були присутніми в 30 % проб зерна і у всіх пробах пилу. Гриб *F. avenaceum* був виявлений в 10 % проб зерна і в 90 % проб пилу, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* виділялись відповідно із проб пилу в 10 %, 20 %, 30 % і 40 % відповідно. Вміст фузарієвих мікотоксинів моніліформіну, дезоксиніваленолу і ніваленолу виявили в 70 % проб зерна і 90 % проб пилу.

Канадські вчені Schaafsma A.W. and Hooker D.C. [91] вивчали можливість прогнозування забруднення зерна пшениці та кукурудзи залежно від місця вирощування, температури та вологості, забруднення попереднього врожаю. Вони встановили кореляцію кількості мікотоксинів в зерні залежно від штату в якому вирощувались зерна, показали зменшення кількості ДОНу у зерні за температур нижче 12 °C та вище 32 °C і збільшення кількості токсину за відносної вологості більше 75 %.

Німецькі вчені Brandfass C. and Karlovsky P. [17] запропонували метод виявлення мікроскопічних грибів роду *Fusarium* у рослинному матеріалі. Вони розробили метод одночасного виявлення *F. culmorum* і *F. graminearum* за допомогою методу дуплекс полімеразно-ланцюгової реакції, який, на їх думку, є дуже зручним для епідеміологічних досліджень, що залучають велику кількість проб. Таким чином, вчені довели можливість виявлення грибів за їх ДНК.

Schoneweis S.D. and Yuen G.Y. [120] вивчали питання забруднення хлібних злакових рослин мікроскопічними грибами та накопичення дезоксиніваленолу в зерні пшениці в США, встановили кореляцію рівня



дезоксиніваленолу в пшениці залежно від сорту зерна та умов навколишнього середовища в період колосіння колосу.

Blandino M. et al. [15] провели експерименти в італійській провінції П'ємонт у 2001–2002 і 2002–2003 рр. для оцінки впливу фунгіцидів на поширення грибів роду *Fusarium* на пшеничному колосі, розміри врожаю, концентрацію ДОНу в зерні і якість борошна. Дослідження включало огляд стану зернових оболонки, одноразову обробку прохлоразом, тебуконазолом або тебуконазол-азоксистробіном у період цвітіння і двох обробок фунгіцидом прохлораз в стадії викидання колосу – трьома препаратами в середній період квітання згідно доз, рекомендованих виробниками. Обробка тебуконазолом не зменшила рівень поширення грибів. Обробка фунгіцидами рослин, виконана в середині періоду квітання, призвела зменшення контамінації грибами на 52 %, та зниження вмісту ДОНу в зерні на 48 % і збільшення врожайності на 20 %.

Спільними зусиллями кенійських та німецьких вчених [70] було проведене мікотоксикологічне дослідження зразків пшениці врожаю 2004 р. з 89 кенійських ферм. Проби зерна виявилися дуже контаміновані грибами, особливо *Epicoccum* та різновидами *Alternaria* та *Fusarium*. Забруднення фузаріями коливались від 13 до 18 % проб і основними видами були *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium equiseti* і *Fusarium avenaceum*. Серед них 79 % *Fusarium graminearum* синтезували мікотоксини. В зерні виявляли найбільше ДОНу і Т-2 токсину та мінімальні рівні зеараленону і афлатоксину В<sub>1</sub>.

Larran S. з колегами [58] вивчили видовий склад мікроскопічних грибів на 1750 сегментах пшениці в провінції Буенос-Айрес (Аргентина) та визначали частоту зараження листя, стебел, ґрунту та зерна. Пшениця була зібрана з п'яти сортів на п'яти стадіях росту від посіву до збирання врожаю. Ними було виділено 722 ізоляти ендofітних грибів, віднесених до 30 родів. *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Epicoccum nigrum*,

*Cryptococcus sp.*, *Rhodotorula rubra*, *Penicillium sp.* та *Fusarium graminearum* були грибами, які виявляли найбільшу частоту колонізації у всіх аналізованих частинах рослин.

Mashinini K. and Dutton M.F. [66] досліджували грибкове та мікотоксинове забруднення пшениці у Південній Африці, починаючи від вирощування в полі до продуктів переробки пшениці. Вони використовували методи хроматографії, імуноафінності, флуориметрії та вивчення цитотоксичності. Аналогічні проби були взяті у супермаркетах та торгових точках Південної Африки та проаналізовані аналогічним чином. Результат показав, що в пшениці виявляли цілий ряд грибів та мікотоксинів у всіх цих пробах. Основними грибковими контамінантами були *Fusarium spp.* та супутні їм мікотоксини, зокрема дезоксиніваленол, що відповідало дослідженням, проведеним іншими вченими. Частина проб пшениці, відібрані з поля із сильним зараженням фузаріями, були забруднені фумонізином В<sub>1</sub>. Більшу стурбованість викликали низькі, але часті рівні мікотоксинів та грибів у продуктах на основі пшениці, що реалізуються безпосередньо споживачам.

Вчені з Аргентини Chiotta M.L. et al. [25] досліджували в різних культурах рослин мікроскопічні гриби та їх вторинні метаболіти. Із урожаю зерна вирощеного в Аргентині, вони виділили різні види токсигенних грибів серед яких *Fusarium*, *Aspergillus* та *Alternaria*. На ізоляцію цих видів впливав тип сільськогосподарських культур та агроєкологічні умови. Різні рівні мікотоксинів було виявлено в усіх культурах, зокрема виявляли ДОН, трихотеценові мікотоксини, фумонізину та охратоксин А. В Аргентині виробництво харчових продуктів збільшується щорічно, а зараження грибами та мікотоксинами у харчових і кормових ланцюгах представляє високий ризик для здоров'я людей та тварин, а також викликають значні економічні втрати через обмеження внутрішнього та міжнародного ринку.

Дослідники з Бразильського університету вивчали поширеність та популяцію грибів у ланцюгу виробництва тортів. Серед сировини пшеничне борошно містило  $3,2 \pm 0,3 \log$  КУО/г та кукурудзяне  $3,8 \pm 0,8 \log$  КУО/г, а кількість грибів у атмосфері переробного цеху досягала  $2,56 \log$  КУО/м<sup>3</sup>. З продукції були виділені мікроскопічні гриби *Aspergillus flavus* (28,2 %), *Penicillium citrinum* (18,5 %), *Penicillium raixilli* (14,6 %) та *Aspergillus niger* (6,8 %), які також були виявлені в сировині та навколишньому повітрі [67].

Іранськими вченими досліджено 53 проби зерна пшениці, вирощеної в провінції Марказі центральної частини Ірану [46]. Виділення та ідентифікація грибів проводилась відповідно до стандартних тестів, описаних Міжнародною асоціацією випробувань насіння (ISTA). Із зерна пшениці ними було виділено 15 видів мікроскопічних грибів, серед них *Tilletia laevis*, *Tilletia tritici*, *Ustilago tritici*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Microdochium nivale*, *Bipolaris sorokiniana*, *Alternaria alternata*, *Curvularia sp.*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.* та *Rhizopus sp.*

Сербські вчені виділяли мікроскопічні гриби із понад 100 видів рослин, вирощених у Сербії [62]. Всього ними було виділено 63 види, 35 різновидів та 19 спеціалізованих форм грибів. Серед них були *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. langsethiae*, *F. thapsinum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum*.

Латвійські вчені вивчили склад мікобіоти зерна пшениці залежно від агроекологічних умов та способу обробітку ґрунту [10]. Мікобіоту зерна визначали з використанням мікологічних та молекулярних методів. Найбільш поширеними грибами за їх даними були *Pyrenophorotritici-repentis*, *Alternaria spp.*, *Arthriniium spp.* і *Fusarium avenaceum*. Вони встановили, що більша кількість опадів посилювала обсіменіння зерна пшениці грибами *Fusarium*. Ними у зерні було виявлено сім видів фузаріїв:

*F. avenaceum*, *F. poae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. acuminatum*, *F. sporotrichioides* та *F. tricinctum*. Зміна методів обробітку ґрунту та сівозміна не впливають на загальну кількість обсіменіння *Fusarium spp.* Дослідники припускають, що посів пшениці в умовах не повного або часткового обробітку ґрунту може підвищити рівень ризику обсіменіння зерна грибом *F. graminearum* і, отже, накопиченням у ній мікотоксинів.

Українськими вченими проведено мікотоксикологічні дослідження кормів за 5 років (2008–2012) [129], які виявили, що 35–45 % зернових кормів були уражені потенційно небезпечними мікроскопічними грибами родів *Fusarium Link*, *Alternaria Nees*, *Rhizopus Ehrenb.*, *Mucor Fresen.*, *Aspergillus*, *P. Micheli ex Link* та *Penicillium Link*.

Наїєґрарі В. в північно-західній Іранській провінції Могхан вивчав мікроскопічні гриби на рослинах пшениці [45]. Гриби були виділені та ідентифіковані на основі загальної морфології колонії, морфології міцелію, репродуктивної структури та таксономічного опису. Результати вказували на те, що переважаючим збудником, пов'язаним з причиною поширеності кореневої і кронової гнилі цього дослідження були *Bipolaris sorokiniana*. Окрім *B. sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium pseudograminearum* та *Gaeumannomyces* комплекс фіаллофори – найбільш широко поширений вид на поясі вирощування пшениці в районі Могхан. Виділяли також види *Fusarium solani*, *Fusarium crookwellence*, *Fusarium clamidosporum*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium poae*, *Fusarium udum* і *Fusarium babinda*. Тест на патогенність виявив, що *B. sorokiniana*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. crookwellence*, *F. udum* і комплекс *Gaeumannomyces* фіаллофора є активними збудниками хвороб, а інші виділені гриби є сапрофітами, які також беруть участь у руйнуванні корневих тканин, не будучи причиною захворювання.

Rahman A. et all. [86] дослідили 100 проб зерна пшениці, вирощеної у різних регіонах Пакистану. Ними з пшениці було виділено *Alternaria*

*alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium species*, *Drechslera species* і *Phytophthora species*. Частота виникнення цих п'яти виділених грибів становила 49, 46, 42, 35 та 16 % відповідно. Відсоток зараження коливався від 0 до 90 % у всіх 100 досліджених пробах пшениці.

Індійські дослідники [76] вивчали мікобіоту посівного зерна пшениці на середовищах Блаттера та картопляно-декстрозному агарі (PDA) згідно вимог ISTA. Із насіння були отримані такі види грибів *Fusarium moniliforme*, *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata*, *Drechslera spp.*, *Alternaria spp.* та *Penicillium spp.* На їх думку найкращим середовищем для ізоляції грибів був визначений метод Блоттера за допомогою якого мікофлора виділялась як ендofітна так і екзофітна.

Співробітниками української лабораторії якості і безпеки продукції АПК було досліджено видовий склад мікроміцетів – потенційних продуцентів мікотоксинів, які контамінують та ушкоджують зерно кукурудзи, вівса, пшениці та сої урожаю 2015 року. В результаті досліджень із проб зерна ізольовано та ідентифіковано 24 види мікроміцетів, які були віднесені до фітопатогенів та сапротрофів, що спричиняють утворення плісняви під час зберігання. Серед них виявлено відомих продуцентів мікотоксинів – представників родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Myrothecium* і *Trichothecium*. Із зерна сої і кукурудзи, поряд із представниками роду *Fusarium*, виділено мікроскопічний гриб *Aspergillus flavus*, штами якого виявлені на цих культурах часто характеризуються як високотоксичні [137].

Kabir A. et all. [157] вивчали грибкову флору чотирьох зернових: пшениці, рису, нуту баранячого та гірчиці під час їх зберігання. Із пшениці було виділено 12 видів грибів, з рису – 11, з нуту – 10 і з гірчиці – 13. Серед них були гриби *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. sydowi*, *A. nidulans*, *Penicillium spp.*, *Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Fusarium*

*moniliforme*, *Rhizopus stolonifer*, *Chaetomium spinosum* spp., *Drechslera hawaiiensis*, *Helminthosporium* spp., *S. globosum*. Домінуючими на усіх зернових були *Aspergillus niger* та *Penicillium* spp., оскільки вони були присутні на 100 % досліджених проб зерна. Ними виявлено, що розвиток грибів на зернах залежав від періоду зберігання та кліматичних умов вирощування, особливо від температури та кількості опадів.

Китайські вчені [116] дослідили розповсюдження хвороботворних грибів, пов'язаних із кореневою та кроновою гниллю озимої пшениці (*Triticum aestivum*) із 104 полів Північно-китайської рівнини у період з 2013 по 2016 рік. Ними було виділено: *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium pseudograminearum*, *Rhizoctonia cerealis*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *F. graminearum*, *F. acuminatum*, *R. cerealis*, *F. asiaticum*, *F. graminearum*, *F. acuminatum*, *F. sinensis*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum* та *F. asiaticum*.

Дослідники з Нігерії, Австрії, Нідерландів та Великобританії спільно вивчали готові до вживання продукти, що продаються на нігерійських ринках [34]. Дослідженню підлягали 70 проб продуктів, серед яких сирні кульки, гаррі (на основі маніоки), гранола (суміш злаків та горіхів) та попкорн. Всього воно виділили 27 ізолятів грибів віднесених ними до 12 родів: *Acremonium*, *Allophoma*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Microdochium*, *Penicillium*, *Sarocladium*, *Talaromyces*, і *Tolyocladium*, *Ascomycota*, *Fomitopsis* і *Trametes* *Basidiomycota*. Дезоксиніваленол, фумонізини, моніліформін, афлатоксини та цитринін були знайдені у 37, 31, 20 та 14 % усіх проб харчових продуктів відповідно.

Pathak N. [75] досліджував зерно пшениці (*Triticum aestivum*), відібране у фермерському господарстві Quarsi Aligarh. Проби демонстрували різні форми забарвлення та відхилення від норми, вони були обстежені на предмет асоційованих грибів. Мікроскопічне дослідження виявило, що насіння всіх сортів пшениці мало пошкодження

різного рівня. *Fusarium moniliforme* та *Alternaria alternata* були виділені в усіх пробах насіння. Всі проби пшениці містили плаваючі міцелійні шматочки та конідії *Alternaria*, *Fusarium*, *Drechslera*, *Curvularia lunata* та *Mucor*.

Дослідниками Бангладешського аграрного університету також провели мікологічні дослідження зерна пшениці [50]. Зерно було відібране у двох районах Дінайпур і Біргоні. Ними з пшениці було виділено такі види грибів, як *Bipolaris sorokiniana*, *Alternaria tenuis*, *Curvularia lunata*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus niger* і *A. flavus*.

Німецькі вчені за допомогою методу полімеразно-ланцюгової реакції дослідили обсіменіння зерна пшениці грибами *Fusarium spp.* та *Alternaria spp.* [92]. Вони зробили висновок, що із збільшенням кількості опадів збільшується площа і ступінь ураження грибами *Fusarium spp.* і зміна цих факторів ніяк не впливає на ураження зерна грибами *Alternaria spp.*

Вака Z.A.M. дослідив 14 зразків зерна пшениці у Єгипті [8]. Ним були виділені наступні види: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme* і *Penicillium chrysogenum*. *A. flavus*, *A. niger* і *F. moniliforme* були найбільш поширеними видами грибів, вони були виділені у 21,0–53,5 %, 16,0–37,5 % та 12,0–31,0 % проб відповідно.

Gromadzka K. et all. [44] займались дослідженням наявності мікроскопічних грибів та мікотоксинів у зерні кукурудзи. Протягом 2013-2014 років із зерна ними було виділено гриби *F. graminearum*, *F. poae*, *F. subglutinans* і *F. verticillioides*. У пробах цього злаку було визначено дванадцять мікотоксинів, а саме: зеараленон, дезоксиніваленол, ніваленол, фумонізини В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub> та В<sub>3</sub>, а також моніліформін, бовеверіцин, енніатини А, А<sub>1</sub>, В та В<sub>1</sub>.

Tunali B. et all. [105] вивчали мікроміцети зерна пшениці на 519 полях Туреччини за двохрічний період. Вони виділяли *Fusarium culmorum* (14 %), *Bipolaris sorokiniana* (10 %), *F. pseudograminearum* (2 %), *F.*

*oxysporum* та, *F. chlamydosporum* (11 %), *F. sporotrichioides* (10 %), і по 8 % *F. avenaceum* і *F. solani*. Як результат – відносний господарський вплив даних видів грибів на пшеницю визначається рядом факторів таких як їх грибка патогенність, сприйнятливість злаку та кліматичні сезонні умови. Результати цього дослідження говорять про те, що є широкий спектр видів грибів, здатних вражати зерно.

Can-xing D. et all. [23] дослідили 1465 проб пшениці, вирощеної у різних провінціях Китаю, зокрема Шанксі, Хебей та Квінгха. Ними із злаку було виділено гриби *Alternaria*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Gonatobotris*, *Chaetomium*, *Fusarium* та *Trichotecium*.

Аргентинські вчені [58] вивчали видовий склад ендofіти здорових рослин пшениці в Буенос-Айресі провінція (Аргентина). Вони визначили частоту обсіменіння листя, стебел і зерна мікроскопічними грибами. Рослини пшениці досліджували на етапах посіву, росту та збирання врожаю на п'яти культурних сортах. Всього із 1750 проб було виділено 722 ізоляти ендofітних грибів віднесених до 30 родів. Серед них найчастіше виділяли *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Epicoccumnigrum*, *Cryptococcus sp.*, *Rhodotorula rubra*, *Penicillium spp.* і *Fusarium graminearum*.

Спільна робота вчених з Саудівської Аравії та Єгипту [16] присвячена забрудненню пшеничного борошна комірними шкідниками та токсичними грибами показала, що борошно з регіону Жазань було заражене жуком червоного борошна *Tribolium castaneum*. Із борошна було виділено чотири види грибів, зокрема роду *Aspergillus* – *A. flavus* (44,5 %), *A. niveus* (37,8 %), *A. terreus* (10,9 %), *A. niger* та (6,7 %). Результати щодо виділених грибів та комах можуть підтвердити роль *T. castaneum* відносно перенесення та розподілу грибів в різних місцях зберігання борошна.

Ще одне дослідження було проведене з метою вивчення поширення грибів та їх токсигенного потенціалу у пшениці та пшеничному борошні.



Всього 67 проб пшениці та 17 проб пшеничних висівок були зібрані в районі Файсалабад (Пакистану). У 67,2 % проб було виділено гриби. Найбільш часто із загальних проб виділяли *Aspergillus spp.* (44,8 %), рідше – *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.* та *Alternaria spp.*, *Penicillium verrucosum* (30,6 %), і дуже рідко – *A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *P. chrysogenum*, *A. ochraceus*, *A. carbonarius* та *A. fumigatus*. Серед аспергіл із зерна найчастіше виділяли *A. niger* (46,7 %). З 30 ізолятів *Aspergillus spp.* із зерна пшениці – 17 (56,7 %) були визнані токсигенними. Забруднення аспергільозними афлатоксинами коливалося від 1,44 до 836,3 нг/г, тоді як рівень охратоксину А коливався від 0,037 до 0,045 нг/г. Серед роду *Penicillium P. verrucosum* (63,2 %) були виявлені охратоксигенні та рівні охратоксину А варіювали від 7,31 до 8400 нг/г. У пшеничних висівках 10 (58,8 %) проб містили гриби. Найбільш часто із висівок були виділені аспергіли, пеніцилії та фузарії. Аналогічно як і в пшениці у висівках найчастіше виділялись *A. niger* та *P. verrucosum*. Серед аспергілів найбільш часто виділяли *A. niger* (50 %), *A. flavus*, *A. fumigatus* та *A. ochraceus* (16,7 %) відповідно. Рівні охратоксину А виділеного із пшеничних висівок, коливались від 0,292 до 2500 нг/г. Виділення токсигенних ізолятів *A. niger* з пшениці вказувало на те, що ці види слід вважати можливими факторами забруднення пшениці та продуктів її переробки у Пакистані [89].

## 1.2. Вплив дезоксиніваленолу на організм тварин і птахів

Більшість мікотоксинів, що продукують гриби роду *Fusarium* належать до похідних 12,13-епокситрихотец-9-ена.

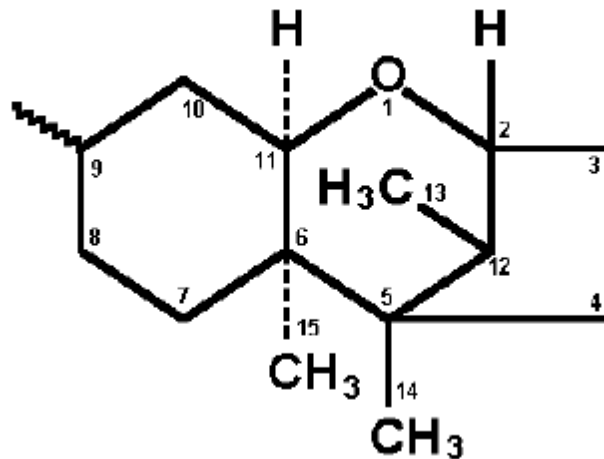


Рис. 1.1 Структура трихотекана

В основі хімічної структури трихотеценових мікотоксинів лежить система об'єднаних кілець, названих трихотеканом [41] (рис. 1.1). Природні трихотецени містять подвійний зв'язок у положенні С-9 – С-10 і епоксидну групу біля 12 і 13 вуглецевих атомів [9].

За своєю хімічною структурою трихотецени поділяють на 4 групи: А, В, С та D [18]. До групи А входять сполуки, що містять біля С-8 атом водню, гідроксил або складнофірну групу (основний представник Т-2 токсин) (рис. 1.2). Представники групи В мають біля С-8 кетогрупу (основний представник ДОН). Група С включає макроциклічні трихотецени. Додатковий макроцикл утворений біля С-4 і С-15. Група D представлена сполуками, що містять другу епоксидну групу біля С7-С8.

Трихотеценові мікотоксини володіють високою хімічною стійкістю і термостабільністю. В природних умовах на них практично не впливають природні фактори навколишнього середовища [2].

Одним із них є дезоксиніваленол (ДОН, вомітоксин) (рис. 1.3).

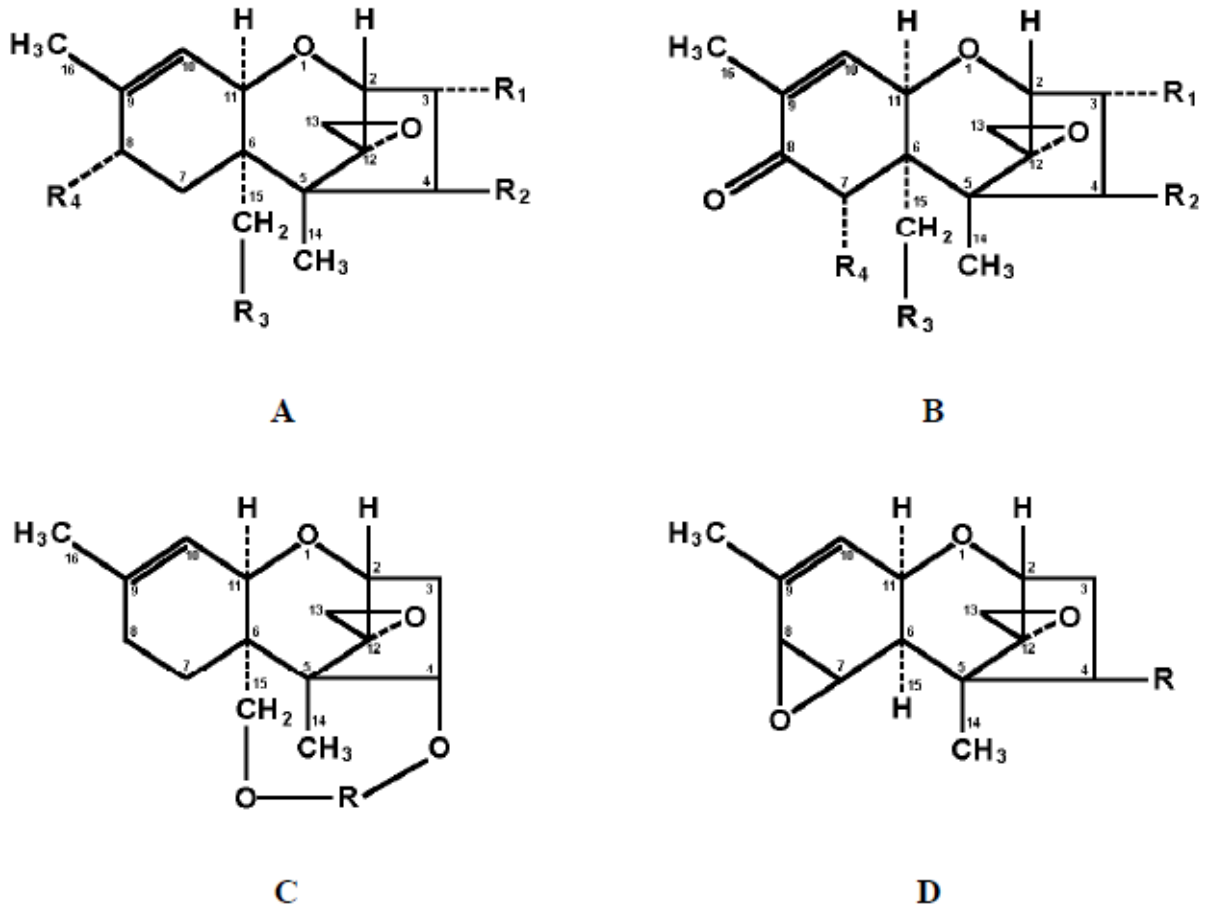


Рис. 1.2 Структура різних груп трихотеценів

Процеси звичайної кулінарної і технологічної обробки їжі не приводять до руйнування трихотеценових мікотоксинів [114]. Така стійкість трихотеценових мікотоксинів пов'язана з високою стабільністю епоксиду в структурі токсину, тому для руйнування цього кільця, що є основним фактором токсичності, необхідні жорсткі умови [179].

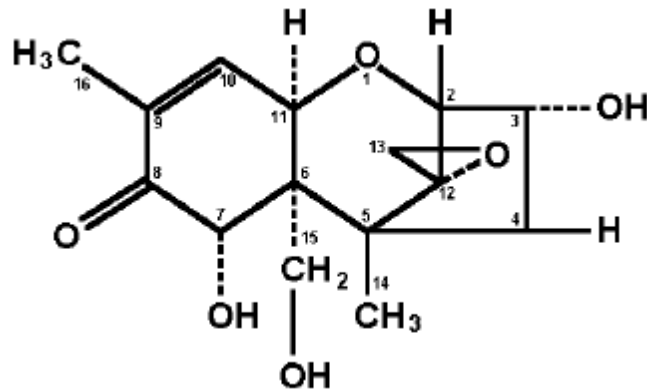


Рис. 1.3 Структура ДОН

Horugel K. et all. [49] вивчали вплив трихотеценових мікотоксинів на продуктивність і здоров'я великої рогатої худоби та свиней. У свиней під час споживання кормів, забруднених мікотоксинами, знижувався приріст маси тіла і плодючість. За наведеними ними даними велика рогата худоба виявилась менш чутливою до мікотоксинів.

Chi M.S. et all. [24] вивчали вплив 12,13-епокситрихотеценів (8-ацетилнеосоланіюлу, діацетотоксисцирпенулу, Т-2 токсину, НТ-2 токсину, неосоланіюлу, діацетил-НТ-2 токсину та Т-2 тетраолу) на організми одноденних курчат-бройлерів в штаті Міннесота. Вони спостерігали появу таких симптомів як апетенція, астения, діарея та коматозний стан у дослідних птахів, що на їх думку вказувало на залежність токсичності мікотоксинів від модифікації ланок у будові молекул токсинів.

Pestka J.J. [79] наводить дані, що трихотеценові мікотоксини спричиняють у свиней блювання через декілька хвилин після вживання забруднених кормів. Тварини, які постійно отримують від 2 до 4 мкг ДОНу втрачають масу тіла та знижують середньодобові прирости.

Goyarts T. et all. [42] вивчали вплив ДОНу на концентрацію Ig A, Ig M, Ig G в крові свиней та його вплив на кількість лімфоцитів. Згідно отриманих результатів виявлено зниження рівня імуноглобулінів та інгібіцію лімфоцитогенезу крові свиней.

Parent-Massin D. et all. [74] вивчали отруєння людей і тварин, спричинене вживанням продовольства та кормів контамінованих трихотеценами. На їх думку ця група токсинів спричиняє переважно тромбоцитопенію і лейкопенію у людей. У пацієнтів виникають швидко прогресуючі проблеми порушення згортання крові і як наслідок – послаблення імунної відповіді щодо інфекцій, виникають септицемії та крововиливи. У коней, великої рогатої худоби, домашніх птахів, кішок, мишей і мурчаків споживання забрудненого трихотеценами корму спричиняє зменшення циркулюючих клітин крові, що пов'язано з порушенням функції червоного кісткового мозку. Виникнення порушень у крові та кровотворних органах було підтверджено в досліджах тестами *in vitro*. Попередники клітин крові є головною мішенню трихотеценів. З групи трихотеценів найбільш мієлотоксичним є Т-2 токсин, а найменш – ДОН.

Pinton P. et all. [80] вивчали впливу ДОНу на формування імунної відповіді у свиней після імунізації овальбуміном. Результати показали що ДОН знижував імунну відповідь через зменшення кількості антитіл. Ці результати можуть змінити значення імунізації для людей і тварин, оскільки розлад у механізмі формування імунітету через вплив ДОНу може призвести до виникнення хвороб, навіть у належним чином вакцинованого населення.

Vesonder R.F. et all. [108] першими отримали мікотоксин дезоксиніваленол із контамінованого фузаріями зерна кукурудзи в США, описали його хімічну будову і метод визначення за допомогою тонкошарової хроматографії.

Ma Y.Y. et all. [64] проаналізували інформацію щодо канцерогенності ДОНу. Вони вивчили публікації досліджень, зібрані в бібліотеках, і зазначили, що ДОН не може бути класифікований як

канцерогенна речовина з причини протиріч у дослідах *in vitro* і недостатньо розробленими методиками для подальшого дослідження.

У XXI столітті мікотоксикологи розвинутих країн визначають здатність до токсиноутворення грибів за їх генетичним складом. На даний момент провідними вченими США вивчаються гени мікроскопічних грибів, які відповідають за біосинтез мікотоксинів, та гени, які регулюють цей синтез. Кінцевою метою досліджень молекулярної біології *Fusarium* у США є намагання зменшити забруднення мікотоксинами зернових культур та стійкість рослин щодо їх інфікування мікроскопічними грибами – потенційними продуцентами мікотоксинів [27].

Kumar V. et al. [56] розглянули масштаби забруднення мікотоксинами комерційно важливих сільськогосподарських культур. За їх повідомленням родина трихотеценів налічує більше 60 сесквитерпеноїдних метаболітів які синтезуються представниками багатьох грибкових родів, що включають *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichotecium* тощо. Вони звичайно знаходяться в продуктах і забруднюють їх, вживання яких може призвести до крововиливів і блювання. Найкраще вивченими трихотеценами є T-2 токсин, діцетотоксисцирпенол і дезоксиніваленол. ДОН – один із найпоширеніших мікотоксинів у зернових кормах і споживання його у великих дозах сільськогосподарськими тваринами спричинює нудоту, блювання і діарею. В більш низьких дозах свині і інші сільськогосподарські тварини втрачають масу тіла і відмовляються від поїдання корму, тому цей токсин отримав назву вомітоксин. Хоча він є одним із найменш токсичних серед трихотеценів, проте найбільш поширеним і його часто виявляють в ячмені, кукурудзі, житі, пшениці і змішаних кормах.

Snijders C.H.A. [95] провів ряд досліджень щодо вивчення фітотоксичних властивостей ДОНу і вивчив методи генетичного

моделювання генів пшениці щодо її стійкості проти грибів роду фузаріум та їх токсинів. Результати досліджень свідчать, що ДОН негативно впливає на ріст і розвиток самої рослини і як наслідок – зменшує врожайність і споживчу цінність культури.

Szkudelska K. et al. [101] вивчали вплив ДОНу на гормональні і метаболічні зміни лабораторних мишей. Після триденного підшкірного введення токсину білим мишам в дозі 1 мг/кг маси тіла виявляли суттєве збільшення вмісту в крові інсуліну, глюкози і вільних жирних кислот. Токсин спричиняв накопичення глікогену в депо і зменшення вмісту тригліцеридів у м'язах. Дослідження ізольованих адипоцитів показало, що ДОН в концентрації 20  $\mu$ моль/л дещо стимулював основний ліпогенез, тоді як викликаний інсуліном синтез ліпідів і ліполіз були незмінними.

Frankic T. et al. [38] вивчали вплив ДОНу і Т-2 токсину на пероксидацію ліпідів, фрагментацію ДНК лімфоцита – утворення імуноглобуліну у відлучених поросят, а також вплив вітаміну Е щодо послаблення дії токсинів. ДОН збільшував пошкодження ДНК лімфоцитів на 28 % та призводив до зниження рівня загального антиоксидантного статусу. Т-2 токсин значно зменшував середньодобові прирости маси тіла і збільшував кількість пошкоджених лімфоцитарних ДНК на 27 %, зменшував вміст Ig G в крові тварин і не впливав на загальний антиоксидантний статус організму. Вітамін Е не покращував параметри продуктивності і лише частково захищав ДНК лімфоцити від дії мікотоксинів.

Tiemann U. et al. [104] встановили, що щоденне додавання в раціон свиноматок ДОНу в дозі 0,15 мг/кг корму і зеараленону в дозі 0,0035 мг/кг корму, або 15 % токсину *Fusarium* з тритікале (4,42 мг ДОНу і 0,048 мг F-2 токсину на 1 кг корму) протягом 35–70 діб поросності свідчило про те, що ДОН і зеараленон в зазначених дозах не впливали на свиноматок і їх плоди.

Sprando R.L. et all. [96] зазначають, що у самців мишей трьох ліній, які впродовж 90 діб отримували 10 ppm дезоксиніваленолу з кормом знижувало масу тіла, масу сім'яників і кількості сперматозоїдів та масу придатків сім'яників. Ці зміни вказують, що ДОН проявляє негативний ефект на органи розмноження самців мишей.

Vimczok D. et all. [14] довели негативний вплив дезоксиніваленолу на функцію дендритних клітин *in vitro* та *in vivo*, що свідчило про його імунодепресивний вплив.

Спільними дослідженнями вчених трьох країн Франції, Румунії та Бразилії [81] встановлено негативний вплив ДОНу на функцію шлунково-кишкового тракту на стан кишкового епітелію свиней і людей. ДОН зменшував електричний епітеліальний опір і одночасно збільшував проникність кишкової палички через клітинну стінку кишківника.

Дослідження Alm H. et all. [4] показало, що  $\alpha$ -зеараленол і  $\beta$ -зеараленол в концентраціях від 3,75 до 90 мкМ та ДОНу від 0,94 до 7,5 мкМ в дослідах *in vitro* негативно впливали на дозрівання свинячих ооцитів. Особливо негативно впливали  $\alpha$ -зеараленол в концентраціях 7,5 мкМ і більше,  $\beta$ -зеараленол – 30,0 мкМ і ДОНу – 1,88 мкМ і більше.

Fink-Gremmels J. [36] довів, що ДОН швидко перетворюється в рубці великої рогатої худоби шляхом деєпоксидування, цим він пояснює меншу чутливість цього виду тварин до мікотоксинів, але у випадку ацидозу рубця деєпоксидація ДОН відбувається не повністю, що призводить до появи токсину в крові тварин. Поїдання трав'яного силосу зі значною кількістю ДОНу призводило до отруєння великої рогатої худоби в північній Європі, що супроводжувалось підвищеною захворюваністю на мастити і ламініти.

Amuzie C.J. et all. [5] встановили, що незалежно від шляхів введення токсину в організми, його концентрація в плазмі, селезінці, печінці, легенях і нирках була максимальною через 15–30 хв. і зменшувались на



75–90 % через 120 хв. Концентрація ДОНу в плазмі крові мишей була в 1,5–3 рази вищою після інтраназального введення.

Eriksen G.S. and Pettersson H. [33] зробили токсикологічну оцінку трихотеценових мікотоксинів в кормах тварин. Згідно із наведених даних у свиней ДОН викликав хімічні зміни компонентів плазми крові і ензимів, зміни в епітелії стравоходу і шлунку та порушував відтворювальну здатність.

Edmond E. Creppy [26] наводить результати досліджень, що вказують на пригнічення дезоксиніваленолом здатності імунної системи мишей протистояти таким мікроорганізмам як *Listeria monocytogenes* та *Salmonella enteritidis*.

Споживання людьми продуктів виготовлених на основі борошна, яке містило ДОН, сприяло виведенню його з сечею. За результатами цих досліджень можна припустити, що деякі мешканці Євросоюзу можуть отримувати щоденно ДОН у дозах, що перевищують МДР щоденного вживання [106].

Дезоксиніваленол широко розповсюджений у світі, особливо у зернових культурах, які використовуються для виробництва продуктів харчування та кормів [6]. Наявність мікотоксинів у кормах для птиці є важливим фактором фінансових втрат у птахівництві. ДОН здатен викликати токсикологічні та імунотоксичні ефекти у курей. Основними ефектами за низьких його концентрацій є зменшення споживання корму, тоді як більш високі дози викликають сильне зниження ваги та порушення стійкості до інфекції, зокрема бактеріальної. Одним з важливих аспектів токсичності ДОН є пошкодження шлунково-кишкового тракту тварин. ДОН впливає на органи травлення курей, особливо на дванадцятипалу та порожню кишки, про що свідчать їх більш короткі та тонші ворсинки. Крім того, цей токсин погіршує роботу кишечника шляхом зменшення всмоктування поживних речовин (глюкози та амінокислот). Є доведені

дослідами результати, що ДОН погіршує імунну функцію у курчат-бройлерів. Згодовування зерна забрудненого ДОНом знижує титри антитіл у сироватці крові проти вірусу Ньюкаслської хвороби (NDV) та інфекційного вірусного бронхіту (IBV) у курей-несучок та бройлерів.

Vičkoу E. [112] довів, що за найвищої дози ДОН (5,0 мкг/г маси яйця) він знижував життєздатність курячих ембріонів і збільшував абсолютні показники: відносну масу печінки і селезінки, викликав одночасний застій жовчі в печінці і запалення селезінки. Виявляли дозозалежне збільшення гранулопоезу і пероксидацію ліпідів в печінці. Проте експресія мРНК генів, пов'язаних з імунним та окислювальним стресом курячих ембріонів здебільшого не змінювалась. Отримані ним результати свідчать про те, що курячий ембріон реагує на введення ДОНу, впливаючи на його імунітет та окислювальний статус.

Встановлено, що мікотоксини негативно впливають на функції кишкового бар'єру, знижуючи цілісність кишкового епітелію. Апоптоз, посилення колонізації патогенних мікроорганізмів, цитотоксичність та окислювальний стрес, пригнічення синтезу білка та перекисне окислення ліпідів характерні для токсичної дії мікотоксинів на епітелій кишечника. Вони прямо чи опосередковано впливають на імунні реакції господаря. Такі імунотоксичні впливи мікотоксинів роблять птицю сприйнятливою до багатьох інфекційних захворювань [40].

### **1.3. Вплив умов навколишнього середовища на біосинтез грибами дезоксиніваленолу**

Продуценти трихотеценових мікотоксинів, в тому числі і дезоксиніваленолу відносяться до нормальної ґрунтової мікрофлори. За оптимальних умов навколишнього середовища, зокрема температури та вологості вони здатні синтезувати мікотоксини на різних субстратах, зокрема зерні та продуктах його переробки.

У доповіді FAO-WHO на 56 з'їзді в Женеві 6–15 лютого 2001 р. була наведена інформація щодо частоти виявлення ДОНу у різних зернових культурах. Згідно неї ДОН містили 57 % проб пшениці із 11444, із 295 проб жита – 49 %, із 5349 проб кукурудзи – 41 %, із 834 проб вівса – 68 %, із 1662 проб ячменю – 59 % та із 154 проб рису – 27 % [102].

Campbell H.L. et all. [21] забруднення ДОНом здебільшого виявляли у кукурудзі, але найбільші концентрації були виявлені в пшениці та ячмені. За стійкістю до забруднення ДОНом пшениця і ячмінь були однаковими, 8,9 % проб кукурудзи, 31,3 % пшениці, 22,4 % ячменю і 1,4 % вівса мали забруднення ДОНом більше 1 мг/кг (МДР).

Doll S. et all. [28] виявили залежність накопичення дезоксиніваленолу від культури вирощування пшениці. Концентрація ДОНу в зерні пшениці у разі традиційного культивування була значно вищою, ніж в зерні за органічного вирощування. Так, 69 % досліджених проб зерна пшениці містили ДОН в концентрації 1540 мкг/кг, а в зерні з екологічно чистих ділянок вміст мікотоксинів становив 760 мкг/кг.

Результати досліджень показали, що зерно (в першу чергу пшениці) здебільшого забруднюється не одним а одразу декількома фузаріотоксинами [157].

Bars L.J. and Bars L.P. [59] дослідили у Франції токсигенний потенціал 200 штамів грибів роду *Fusarium* виділених з 1975 по 1983 роки. 107 ізолятів *F. graminearum* та *F. culmorum* 63 % синтезували зеараленон (активність 55 % штамів становила 100 мг/кг), 20 % грибів синтезували ДОН у кількості більше ніж 1 мкг/г, а 9 штамів мали активність більше 20 мкг/г.

Кричковська, Л. В та ін. [156] встановили, що деякі види і популяції *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* і *Trichothecium* можуть значно змінювати характер вегетативного розвитку і рівня токсигенності трьох

видів фузаріїв за умови спільного враження зернових культур, що призводило до посилення токсигенності.

Котик А.Н. та Труфанова В.А. [147] вивчали мікотоксин синтезуючу активність 50 ізолятів *F. graminearum*, виділених із зерна пшениці в Україні. Ними було встановлено, що всі токсини належать виключно до хемотипу ДОН і здатні синтезувати ДОН в кількостях (до 400 мг/кг), зеараленон (до 8000 мг/кг) і аурофузарин (до 2500 мг/кг).

Норе R.G. et all. [48] доведено вплив сумісної контамінації, екологічного стресу і фунгіцидів на ріст *F. culmorum*, його розмноження і токсиноутворення. Вони показали антагоністичну і конкурентну взаємодію між *F. culmorum* та іншими грибами, в тому числі *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aureobasidium pullulans* і *Penicillium verrucosum*. Спостерігали різну інтенсивність росту і розмноження грибів *F. culmorum*, виділених на культурах із Англії, Норвегії, Швеції та Італії. Продукція ДОНу у ізолятів суттєво стимулювалась фунгіцидами і підвищеною вологістю.

Pathre S.V. and Mirocha C.J. [77] з США дослідили здатність 8 ізолятів *F. roseum* та 3 *F. culmorum* продукувати дезоксиніваленол на рисовому субстраті, вони встановили високі його рівні (0,250 мкг/г токсину).

Синтез дезоксиніваленолу і його дериватів штамми *F. nivale*, *F. roseum* і *F. solani* на агарі Чапека-Докса полягає у перетворенні 3а-ацетоху-7а,15-дигідроху-12,13-епохутрихотец-9-ен-8-он (3-acetyldeoxynivalenol) [118].

Mule G. et all. [68] в Італії вивчали генетичну структуру ДНК грибів роду фузаріум і її вплив на біосинтез трихотеценових мікотоксинів цими грибами. Виявили залежність токсигенної здатності грибів від генетичної інформації закладеної у їхніх генах. Залежно від будови ДНК фузарії поділили на дві групи, перша містила такі гриби як *F. sporotrichioides*, і *F.*

*venenatum*, які продукували трихотеценові мікотоксини типу А (Т-2 токсин, НТ-2 токсин, неосоланіол і діацетотоксисцирпенол) та друга, що включала гриби *F. crookwellense*, *F. culmorum*, і *F. graminearum*, які синтезували трихотеценові мікотоксини типу В (фузаренон-Х, ніваленол, і дезоксиніваленол).

Vesonder R.V. et al. [111] виявили речовину яка спричинювала симптом відмови від поїдання корму у свиней, встановили її структуру як *3,7,15-trihydroxy-12,13-epoxytrichothec-9-en-8-one*, яку назвали вомітоксин. Цей токсин потім отримали шляхом культивування штаму *F. graminearium* NRRL 5883 на зерні рису і виявили ще два трихотеценові мікотоксини, які на той час не мали змоги ідентифікувати.

Greenhalgh R. et al. [43] дослідили три ізоляти *Fusarium graminearum*, виділених у Канаді, щодо здатності продукувати дезоксиніваленол та зеараленон на твердих субстратах, рисі та кукурудзі, за різних умов навколишнього середовища. Згідно з їхніми даними, оптимальними параметрами для синтезу ДОНу на рисі були температура 28 °С, вологість субстрату 40 % і термін культивування 24 доби, що дозволяло синтезувати 515 ppm ДОНу.

Vesonder R.F. та ін. [109] встановили, що 16 штамів грибів роду фузаріум *F. graminearum* і *F. culmorum* синтезували дезоксиніваленол і зеараленон на лущеному зерні кукурудзи за температури 28 °С у кількості від 5 – 236 мкг/г. ДОН проявляв антибіотичну дію проти *Penicillium digitatum* Sacc., *Mucor ramannianus* Möller і *Saccharomyces bayanus* Sacc., але не пригнічував ріст грам позитивних, грам негативних та кислотостійких бактерій.

Szathmary C.I. et al. [100] у США розробили і запропонували для впровадження ідентифікацію 16 мікотоксинів методом тонкошарової хроматографії з використанням різних систем розподілу і методів проявлення. Він полягав у екстракції токсинів діетиловим ефіром з

наступним очищенням етанолом та три системи для тонкошарової хроматографії – петролейний ефір:діетиловий ефір:оцтова кислота (70:30:2), бензол:ацетон (12:7) та хлороформ:ізопропіловий спирт (96:4). Для ідентифікації токсинів на пластинках запропонували сірчану кислоту і розчин *p*-анісового альдегіду. У досліді використовували штами грибів родів *Fusarium* та *Stachybotrys*, виділені в Угорщині.

Llorens A. et all. [63] вивчали вплив температури і вологості на продукцію ДОНу, ніваленолу, і 3-ацетилдезоксиніваленолу на зерні кукурудзи штамами *F. graminearum* і *F. culmorum*, отриманих із зернових культур в Іспанії. Із семи ізолятів *F. graminearum* чотири штами продукували ДОН, сім штамів – ніваленол і три – 3-ацетилДОН. Із п'яти ізолятів *F. culmorum* чотири продукували ДОН і ніваленол. За даними авторів це перше дослідження, проведене у Іспанії відносно взаємозв'язку між грибами-продуцентами трихотеценів типу В із зерновими культурами.

Martins M.L. and Martins H.M. [65] вивчали продукцію ДОНу та зеараленону за різних умов культивування (вологості, температури і тривалості культивування) на зерні кукурудзи в Португалії. Максимальні рівні токсинів були отримані ними на 35 день культивування. За результатами досліджень оптимальними умовами для продукції ДОНу виявились температура від 22 до 28 °С (6,0 і 5,5 мг/кг) та тривалість культивування 35 діб. Найвищий рівень зеараленону спостерігався у разі культивування за температури 28 °С протягом 16 діб з наступним утриманням за температури 12 °С (36,7 мг/кг) на 35 добу.

У Канаді Reid L.M. et all. [88] проводили дослідження із вивчення впливу температури та сумісного і поодинокого культивування *F. graminearum* та *F. moniliforme* на качанах кукурудзи. Дослідження показали що *F. graminearum* краще росте за одиночного культивування і за температур 26–28 °С, а на ріст і токсичність *F. moniliforme* температура та сумісність культивування не вплинули.

Dors C.D. et all. [30] у Бразилії вивчали вплив концентрації мікотоксинів та тривалості автоклавування (пропарювання) на ступінь їх проникнення в ендосперм зерна рису. Результати досліджень показали найнижче всмоктування ДОНу після 6 год. незалежно від замочування і подальшої тривалості автоклавування.

Vesonder R.F. et all. [107] дослідили здатність продукувати ДОН двома штамами грибів *Fusarium graminearum* NRRL 5883 і *Fusarium roseum* NRRL 6101 за різних температурних умов і тривалості культивування на лущеному зерні кукурудзи. За результатами їхніх досліджень максимальна концентрація ДОНу грибом *Fusarium graminearum* NRRL 5883 спостерігалась на 40 добу культивування за температури 30 °С, а грибом *Fusarium roseum* NRRL 6101 – 41 добу і за температури 26 °С.

Visconti A. та ін. [113] відмічали зміни в концентрації ДОНу залежно від стадії переробки пшениці: не очищеної, готових варених спагеті, та рівні у очищеній пшениці, відсівах, висівках, високоякісного помелу, манці, спагеті. Концентрація токсину була підвищеною у неочищеній пшениці, у відсівах і висівках, у всіх інших формах переробки зменшувалась від 0,3 до 13,1 мкг/г.

Bail L.M. та ін. [7] вивчали вплив різних методів обробки ґрунтів та сегрегації врожаїв зерна на концентрацію ДОНу в зерні наступних врожаїв у Франції. Результати даних досліджень свідчать, що позитивний результат дає використання більш глибокої оранки полів та розподілення посівного зерна на партії залежно від вмісту в ньому токсину.

Müllenbornetall C. et all. [69] визначали ефективність фунгіцидних спреїв для боротьби з фузаріозною хворобою пшениці та концентрацією у ній мікотоксинів. Вивчали їх вплив на поширення видів *Fusarium avenaceum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* та *Fusarium poae*. Із пшениці також ізолювали *Alternaria alternata*, *Arthrimum sp.*, *Aspergillus*

*niger*, *Epicoccum* sp., *Microdochium* spp., *Rhizopus oryzae* та *Trichoderma* sp.. Сапрофітні гриби були чутливі до триазолів; однак протеоконазол та тебуконазол мали сильніший вплив на міцеліальний ріст *Fusarium*. Азоксистробін та флуоксастробін значною мірою були неефективними для пригнічення росту *in vitro* *Fusarium* spp.; чутливість інших грибів була загалом нижчою, за винятком *M. majus*, який був дуже чутливим. На думку дослідників фунгіциди, ймовірно, змінюють рівновагу в мікофлорі колосків пшениці, що також може впливати на рівень забруднення мікотоксином зерна.

Bullerman L.V. and Bianchini A. [19] вивчали різні методи обробки зернових продуктів з метою зниження концентрації в них мікотоксинів. Доведено, що для зменшення концентрації зеараленону, помірного зменшення афлатоксинів, часткового зменшення ДОНу і зниження рівнів фумонізинів необхідна термічна обробка зерна вище ніж 150 °С. Оптимальне зниження концентрації фумонізинів відбувається за температури вище 160 °С за додавання глюкози. Сортування, розділення, очищення, розмелювання, пивоваріння, температурна обробка, виготовлення кукурудзяних пластівців, екструзія зернових також, хоч і не суттєво здатні зменшувати вміст токсинів.

Забруднення пшениці дезоксиніваленолом занепокоїло канадських вчених, що вивчали технологічні процеси у спиртової промисловості, оскільки він накопичується в зернах і не руйнується звичайними обробками. Тому Pronyk S. et al. [84] провели дослідження щодо впливу водяної пари, швидкості потоку водяної пари і тривалості обробки на зміну концентрації ДОНу у зерні пшениці, з метою вибору оптимальних параметрів обробки. Вони дослідили вплив температур: 110 °С, 135, 160 і 185 °С та за швидкості пари 0,65; 1,3 і 1,5 м/с і експозиції 2–15 хв. Суттєве зниження концентрації ДОНу спостерігалось за температур 160 і 185 °С, а вплив швидкості пару не був достовірним. Максимальний ефект



зменшення концентрації ДОНу (на 52 %) був помітний за 185 °С і за тривалості обробки протягом 6 хв.

Vesonder R.F. et all. [110] дослідили 52 проби зерна пшениці, відібраних перед жнивками в середині жовтня 1977 року у 26 господарствах штату Огайо США. Передували жнивкам у північно-західному Огайо незвичайно вологі умови, що сприяли росту грибів *Fusarium*. Контамінація зерна грибом *Gibberella zeae* коливалась від 2 до 50 % проб зерна. Із досліджених 44 проб зерна лише 8 не були контамінованими. Дезоксиніваленол був виявлений у 24 пробах зерна в межах від 0,5 до 10 мкг/г.

В Аргентині науковці Ramirez M.L. et all. [87] дослідили вплив вологості, температури та тривалості культивування на продукцію ДОНу двома штамами *Fusarium graminearum* після вирощування на зерні пшениці, стерилізованому радіоактивним опроміненням. Вони використовували активність води: 0,900–0,995, температуру 5 °С, 15, 25 і 30 °С, тривалість культивування 7–49 діб. Кращий ріст *Fusarium graminearum* відбувався за активності води 0,950–0,995 і температури 25 °С. Максимальне утворення ДОНу спостерігалось за активності води 0,995, температури 30 °С і тривалості культивування 6 тижнів. За температури 5 °С ріст гриба взагалі не відбувався.

#### **1.4. Способи зниження токсичної дії мікотоксинів в організмі тварин**

Мікотоксикози є другою за важливістю проблемою, з якою стикається пакистанське птахівництво, після великої вартості цін на корми [90]. Вчені вивчили токсикопатологічний вплив афлатоксину В<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) на курчат комерційних бройлерів та антитоксичний ефект Local mycotoxin binder (LMB), який складався з 40 % дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*), 58 % бентонітової глини і 2 % силімарину (Mastersorb Gold®, EW Nutrition,

Germany). Додавання сорбенту у кількості 2 г/кг корму підвищувало масу тіла тварин.

Гістопатологічні результати показали, що корм вражений грибами викликав некротичні зміни в печінці та нирках птахів. При цьому паренхіма печінки і нирок птахів, що отримували сорбент, були нормальними, що свідчило про захисний ефект сорбенту.

Результати цього дослідження дійшли висновку, що інтоксикація AFB<sub>1</sub> призводить до зниження маси тіла птахів і зменшення споживання корму залежно від дози. Смертність птахів також залежала від отриманої дози. Макроскопічні і мікроскопічні зміни у курчат, що отримували афлатоксин, були більш вираженими.

Згодовування свиноматкам зернових кормів забруднених мікотоксинами з використанням в раціонах природного мінералу анальцим та синтезованого сорбента мікосорб сприяло покращенню використання азоту свиноматками на 5,2-7,7 % [176].

Доведено, що застосування Mucotox сприяло зниженню токсичної дії афлатоксинів в організмі курчат бройлерів [1]. Додавання у забруднений мікотоксинами корм Mucotox покращувало прирости маси тіла птахів. Рівень антитіл у сироватці крові курчат до вірусу хвороби Ньюкасла на 28 день був суттєво нижче за згодування кормів забруднених мікотоксинами кормами, тоді як додавання сорбента у корм збільшувало рівень антитіл у сироватці крові птахів. Смертність курчат з додаванням детоксикатора у забруднені афлатоксинами корми, була найнижчою та наближалась до допустимої. Дослідження показали, що мікотоксиновий детоксикатор, що містить оксихінол, дихлор-тимол та мікронізовані дріжджі, здатен ефективно нейтралізувати негативний вплив афлатоксинів в організмі птахів.

Вчені з Польщі досліджували ефективність використання молочнокислих бактерій, для інгібування росту мікроскопічних грибів та

зменшення концентрації їх мікотоксинів або нейтралізації їх у забрудненій їжі [78]. Молочнокислі бактерії можуть виробляти різних види кислот, одна з них – капронова, вона має сильну протигрибкову активність. Оптимальний період інкубування для пригнічення росту токсиноутворюючих грибів становить 48 год. за оптимальної температури від 25 до 30 °С. Саме ці умови сприяють виробництву органічних кислот, які, в свою чергу, гальмують ріст патогенних грибів. Будучи корисними для людини та здоров'я тварин молочнокислі бактерії зарекомендували себе як чудове рішення проблеми мікотоксинового забруднення, але на практиці їх застосування у детоксикації мікотоксинів залишається проблемою.

Згодовування забрудненого мікотоксинами корму курчатам-бройлерам одночасно з застосуванням сорбенту GM polymer Mucosorb збільшувало кількість лейкоцитів і кількість лімфоцитів у крові, запобігаючи індукованому мікотоксинами грибів роду *Fusarium* зменшенню кількості В-клітин [98].

### **1.5. Заключення з огляду літератури**

Пшениця є найпоширенішою зерновою культурою в усьому світі і в Україні і завдяки вмісту поживних речовин вона використовується для виробництва харчових продуктів і кормів. Як природний поживний субстрат зерно пшениці придатне для росту і розмноження мікроскопічних грибів, серед яких одними з найнебезпечніших є гриби роду *Fusarium*. Токсичні види фузаріїв продукують вторинні метаболіти – фузаріотоксини, які не лише суттєво погіршують якість зерна та зернових продуктів, а й становлять надзвичайну небезпеку у разі потрапляння в раціони тварин і людей.

Публікацій щодо систематизованих досліджень поширення грибів на зерні пшениці в Україні відсутні, зокрема поширення ендо- і екзофітної

мікобіоти. Тому виникла необхідність щодо проведення систематизованого мікологічного та мікотоксикологічного дослідження цього виду злаків. Окрім того, з'ясування регіонів поширення токсикогенних грибів та частоти виявлення мікотоксинів в зерні дасть змогу прогнозувати та передбачати його контамінацію та, за можливості, профілакувати появу фузаріотоксинів, чи отруєння ними тварин.

Одним із найбільш поширених мікотоксинів є дезоксиніваленол (ДОН, вомітоксин), вторинний метаболіт грибів *F. graminearum*, *F. culmorum* та *F. roseum*. За кордоном проведені дослідження його продуцентів та поширення в різних країнах, а на території нашої держави такі змістовні глибокі дослідження майже відсутні. Тому розповсюдження грибів – продуцентів, умов продукування та його впливу на організм тварин, а також на імуногенез потребують ґрунтового вивчення.

Крім того, потребує вирішення важливе питання, яке стосується визначення ефективності застосування мікосорбентів під час вирощування птахів з ризиком дезоксиніваленолтоксикозу.

Аналізуючи вище викладені у літературі проблеми і питання саме такий напрямок роботи і досліджень нами було заплановано і виконано.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконувалась протягом 2006–2023 рр. у науково-дослідній лабораторії кафедри мікробіології та вірусології та кафедрі гігієни тварин та основ ветеринарії Білоцерківського національного аграрного університету і є частиною досліджень теми “Вивчення ролі мікроскопічних грибів та їх метаболітів у патології сільськогосподарських тварин” (№ держреєстрації 0107U012292)”. Вивчення ендофітної та екзофітної мікобіоти зерна пшениці, дослідження її токсигенних властивостей та особливостей токсикобіологічної дії мікотоксинів проводили згідно схеми наведеної на рис. 2.1

За чотири роки для дослідження були відібрані 140 проб зерна пшениці 30 – 2006 р. урожаю та 40 – 2007 р. та 70 – 2016, 2017 рр. з трьох фізико-географічних регіонів України в період зберігання.

У дослідах було використано 10 білих мишей масою 23–25 г, 20 білих щурів масою 23–28 г і 50 голів п’ятижневих курчат породи Адлер сріблястий.

#### **2.1. Мікологічні дослідження**

**Метою першого етапу досліджень** було проаналізувати кількісний та якісний склад епіфітної і ендофітної мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в різних регіонах України, а також виявити мікроміцетів продуцентів фузаріотоксинів – дезоксиніваленолу, а також Т-2, F-2 токсинів, моніліформіну, фумонізину В<sub>1</sub> та аспергілотоксинів – афлатоксинів, пеніцилової, коєвої та аспергілової кислот.

Проби для досліджень відбирали у колективних господарствах, приватному секторі, на елеваторах, селекційних станціях та обласних



Рис. 2.1 Загальна схема досліджень

насінневих інспекціях трьох регіонів України згідно з методичними вказівками з санітарно-мікологічної оцінки і поліпшення якості кормів [99], відповідно до ГОСТ 13586, 3-83 та ДСТУ 3570–97. Для вивчення мікобіоти досліджували зерна пшениці сортів “Олеся“, “Ясочка“, “Елегія“, “Перлина лісостепу“, “Білоцерківська напівкарликова“, “Либідь“, “Царівна“, “Лісова пісня” та “Романтика”, люб’язно надані доктором сільськогосподарських наук Бурденюк Л.А.

Зерно пшениці з зони Полісся було відібране у господарствах Закарпатської, Київської та Чернігівської областей. Із Лісостепової зони відбір проводився у господарствах Київської, Вінницької, Хмельницької та Черкаської областей, а матеріал із Степової зони був доставлений із господарств Кіровоградської, Миколаївської та Одеської областей. Проби відбирали у таких районах: Котовському, Балтському, Кагарлицькому, Виноградівському, Бершадському, Білоцерківському, Вінницькому, Менському, Комінтернівському, Красноокнянському, Ставищанському, Кривоозерському, Любашівському, Кіровоградському, Тиврівському.

Для поглиблених досліджень синтезуючої здатності мікроміцетами ДОНу було обрано в якості тест-об’єкту культуру зерна пшениці сорту: «Ремеслівна» від Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла УААН та Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук. Оскільки даний сорт широко почав використовуватися у сільськогосподарських підприємствах в усіх кліматичних зонах України (степу, лісостепу і полісся) після державної реєстрації у 2004 р.

Даний сорт є середньораннім, з вмістом білку 14,3 %. Стійкість даного сорту до вилягання - 8-9 балів, стійкість до осипання - 8 балів, стійкість до кореневі гнилі - 7-8 балів, стійкість до септоріоз - 7-8 балів, стійкість до бурої іржі - 7-8 балів, стійкість до борошнистої роси - 7-8 балів. Оскільки даний сорт вирощується в різних кліматичних умовах,

нами було обрано його як узагальнений зразок, що піддається ураженню мікроміцетами для подальших досліджень.

Епіфітну мікофлору визначали методом прямої інокуляції, для чого зерна пшениці розкладали у чашки Петрі на поверхню середовища Чапека по 6–7 штук. Матеріал з кожної проби висівали в 4 чашки Петрі дві з яких культивували за температури 24 °С а інші дві – за 37 °С. Чисті культури отримували шляхом пересіву грибів у пробірки на скошений агар Чапека і для визначення виду враховували культуральні властивості та проводили їх мікроскопію. З метою визначення ендоефітного складу мікобіоти зерно перед посівом обробляли 3% розчином формаліну протягом 3 хв., після цього для нейтралізації дезінфектанту матеріал промивали стерильною водою, до якої додавали 5 % розчин аміаку.

Для встановлення ступеня контамінації матеріалу мікроміцетами (кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г зерна) застосовували метод серійних розведень. Зерно подрібнювали на електричному млинку та готували серійні розведення. Для цього наважку подрібненого зерна масою 10 г заливали стерильною водою до 100 см<sup>3</sup>, струшували протягом 20 хв. і готували послідовні розведення 1:100, 1:1000 та 1:10000. По 1 см<sup>3</sup> виготовлених розведень висівали на поверхню середовища Чапека з розрахунку одне розведення на дві чашки Петрі. Інкубацію проводили за температур 24 та 37 °С, а колонії підраховували на 3 – 5 добу після посіву. Чисельність колонієутворюючих одиниць у 1 г зерна вираховували за формулами:

$$C = \frac{Km}{V} \times N, \quad N = \frac{N_1 + N_2 + \dots + N_m}{Km \left( \frac{1}{K_1} + \frac{1}{K_2} + \dots + \frac{1}{K_m} \right)}$$

де С – вміст діаспор грибів в 1 г субстрату; Km, K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> і т.д. – знаменники максимального і використаних розведень, починаючи з мінімального; V – об'єм висіяної суміші (см<sup>3</sup>); N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> і т. д. – кількість діаспор, спочатку середнє, а потім у кожному розведенні [108].



З метою отримання чистих ізолятів родів *Aspergillus spp.* і *Penicillium spp.* та ін. пересівали у пробірки на скошене середовище Чапека, а *Fusarium spp.* – на сусло-агар.

У випадку ізоляції культур фузаріїв, що не утворювали конідій, використовували метод мікрокультури для їх видової ідентифікації [126]. Принцип методу ґрунтується на швидкому виснаженні джерел поживних речовин за наявності оптимальної вологості повітря та температури. У разі застосування методу мікроскопічної культури, через 24–72 год. отримували типове спороутворення у різних видів фузаріїв та простежували цикл їх розвитку – від проростання до утворення конідій.

Для цього на внутрішній бік кришки стерильної чашки Петрі піпеткою наносили ряди крапель рідкого середовища Чапека на відстані до 2 см один від одного. Дно нижньої чашки накривали 1–3 шарами фільтрувального паперу і змочували 2–3 см<sup>3</sup> дистильованої стерильної води, не допускаючи надлишкового зволоження. Середовище інокулювали за допомогою мікологічного гачка конідіями перед нанесенням крапель, а за відсутності конідій в посівному матеріалі – міцелієм. Чашку з фільтрувальним папером накривали кришкою з інокульованими краплями поживного середовища і поміщали в термостат за температури 28 °С. У культур, що утворювали конідії на сусло-агарі через 20–24 години з'являлись нові, типові макроконідії. У аспорогенних культур процес утворення макроконідій відбувався дещо повільніше. Перші макроконідії з'являлись після 72 год. з моменту посіву культури, а у видів, що характеризувались рясним утворенням мікроконідій – через 24–48 год.

Встановлення видової належності деяких ізолятів *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* та *Mucor spp.* проводили у відділі фізіології і систематики мікроміцетів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України спільно з кандидатом біологічних наук І.М.

Курченко та на кафедрі мікробіології та вірусології БНАУ, кандидатом ветеринарних наук Андрійчуком А.В.

Ідентифікацію виділених штамів до видів проводили з використанням загальноприйнятих визначників [124, 125, 164, 172, 29]. Розміри конідій, міцелію та інших елементів грибів встановлювали мікроскопією роздавленої краплі з використанням окуляр-мікрометра.

Частоту поширення контамінантів зерна пшениці визначали за формулою:

$$C = \frac{A \times 100}{B},$$

де С – частота поширення; А – кількість зразків, у яких зустрічався вид гриба; В – кількість досліджених зразків [1].

Для характеристики показника подібності видового складу грибів, виділених з зерна пшениці різних областей, користувались коефіцієнтом Сьоренса-Чекановського, що розраховували за формулою:

$$S = \frac{2c}{a + b},$$

де S – коефіцієнт Сьоренса-Чекановського, а – число видів у пробі А, b – число видів у пробі В, с – число видів, спільних для обох проб. Якщо S перевищує 0,5, то це свідчить про достовірну подібність видових складів мікобіоти, що порівнюються; значення S менше 0,5 свідчить про наявність достовірних відмінностей між ними [141].

Отримані результати досліджень опрацьовували статистично, використовуючи критерії Фішера.

## **2.2. Мікотоксикологічні дослідження**

**Метою другого етапу досліджень** було: встановити оптимальні температурно-вологісні режими для максимальної продукції мікроміцетами дезоксиніваленолу у зерні пшениці сорту: «Ремеслівна» від Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла УААН та Інститут

фізіології рослин і генетики Національної академії наук. Паралельно проводили дослідження ще на 14 зернових субстратах: рис, кукурудза, ячмінь, овес, жито, просо, пшоно, горох, соя, соняшник, гірчиця, ріпак, гречка та льон для вивчення максимальної продукції ДОНу. Вивчали вплив:

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

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

Визначення здатності продукувати трихотеценові мікотоксини у штамів *Fusarium spp.* проводили за допомогою мікробіологічного методу, який ґрунтується на пригніченні росту чутливого до трихотеценових мікотоксинів тест-мікроорганізму *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК [166]. Зокрема, використовували метод агарових блоків з метою встановлення токсичності колоній фузаріїв, які виростили у первинних посівах зерна, або у посівах чистих культур у чашках Петрі. З метою стимулювання утворення токсинів чашки з культурами перед дослідженням витримували в холодильнику за температури + 4–6 °С протягом 2 діб. Для цього трубчастим свердлом діаметром 8 мм із газону культур грибів готували агарові блоки, які розкладали міцелієм на поверхню сусло-агару в чашки Петрі, щойно засіяної *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК. Чашки витримували в термостаті за температури 37 °С протягом 24 год., а ступінь токсичності визначали виходячи з розміру діаметру зон затримки росту тест-культури навколо блоків (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Оцінка токсичності культур *Fusarium spp.*

Ступінь токсичності	Діаметр зон інгібіції росту тест-мікроорганізму (мм)	
	Диски	Блоки
Токсичні	16 і більше	
Слаботоксичні	9–15	
Атоксичні	Не утворювалось зон	

Для визначення токсичності культур фузаріїв, вирощених у пробірках, використовували метод дифузії в агар з використанням паперових дисків. Для цього мікотоксини екстрагували безпосередньо з культур у пробірках етилацетатом, екстракт концентрували випарюванням і наносили на диски, які після висихання розміщували на поверхню сусло-агару попередньо засіяного *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК і розміщували у термостаті. За 24 години вивчали наявність і величину зон затримки росту тест культури навколо паперових дисків.

Виділені культури фузаріїв досліджували на здатність продукувати Т-2, F-2 токсини, ДОН та моніліформін. В цьому разі використовували методи експресних визначень здатності грибів фузаріум продукувати Т-2 токсин та F-2, розроблені на кафедрі мікробіології та вірусології БНАУ [174, 172].

Для виявлення здатності продукувати Т-2 токсин штами фузаріїв висівали у пробірки на скошений агар Чапека і культивували протягом 7 діб за температури 24 °С у термостаті і витримували 2 доби за температури 4 °С у холодильнику. Для екстракції Т-2 токсину в пробірку вносили 10 см<sup>3</sup> етилацетату і витримували за кімнатної температури впродовж 1 год., після чого фільтрували через паперовий фільтр у випаровувальну чашку. Розчинник видаляли, залишаючи чашки у потоці повітря витяжної шафи, перерозчиняли в 10 см<sup>3</sup> ацетонітрилу і в ділільній лійці двічі знежирювали

10 см<sup>3</sup> гексану. Ацетонітрил випаровували, а кристалічний залишок перерозчиняли у 200 мкл етилацетату. Для розподілу екстракту у тонкому шарі на стартову лінію хроматографічної пластини на відстані 1,5 см від нижнього краю і 3 см одне від одного наносили 2, 5 і 10 мкл досліджуваного екстракту і для контролю – 2 мкл розчину Т-2 токсину виробництва R-biopharm в ацетонітрилі (100 мкг/см<sup>3</sup>) як речовину-свідок. Пластину хроматографували у системі розчинників етилацетат-толуол (3:1) і висушували. На поверхню горизонтально розміщеної, висушеної хроматографічної пластини наносили 12 см<sup>3</sup> розплавленого сусло-агару і після застигання середовища його поверхню засівали 1 см<sup>3</sup> суспензії тест-мікроорганізму *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК. Залишки вологи видаляли, пластину підсушували, розміщували горизонтально у вологій камері і витримували у термостаті за температури 28–30 °С протягом 14–16 год. Вміст Т-2 токсину встановлювали виходячи з розміру зон пригнічення росту тест-мікроорганізму з *Rf*, яке відповідало *Rf* стандарту Т-2 токсину.

Для кількісного визначення цього мікотоксину екстракти з культур розчиняли у етилацетаті 1:10 і 1:100 і наносили на хроматографічні пластини у кількості від 1 до 20 мкл разом із стандартом Т-2 токсину і хроматографували в системі етилацетат: толуол. Кількість токсину розраховували, виходячи з розміру зон затримки росту тест-мікроорганізму (табл. 2.3) за формулою:

$$X = \frac{V_1 \times P}{V},$$

де X – вміст Т-2 токсину в пробірці з культурою (мкг/кг); V<sub>1</sub> – загальний об'єм досліджуваного екстракту (см<sup>3</sup>); V – об'єм нанесеного на пластину екстракту (мкл); P – кількість Т-2 токсину (мкг) у нанесеному екстракті (визначають за таблицею, враховуючи діаметр зон відсутності росту тест-мікроорганізму).

Таблиця 2.3

**Залежність діаметру зон інгібіції росту *Candida pseudotropicalis* шт. 44  
ПК від кількості Т-2 токсину**

Діаметр зони, мм	Кількість Т-2 токсину, мкг	Діаметр зони, мм	Кількість Т-2 токсину, мкг
6	0,05	13	0,17
7	0,06	14	0,19
8	0,07	15	0,22
9	0,08	16	0,25
10	0,10	17	0,30
11	0,12	18	0,33
12	0,15		

Для встановлення здатності продукувати моніліформін фузарії культивували на зерні пшениці і токсин екстрагували сумішшю ацетонітрил : вода (1:1). Після випаровування розчинника екстракт очищали методом розподілу речовин між двома рідинами, що не змішуються: гексан та ацетонітрил. Детекцію моніліформіну проводили методом тонкошарової хроматографії, для чого екстракт хроматографували на пластинках *Sorbfil* в системі толуол – ацетон – метанол (5:3:2), токсин проявлявся в УФ – світлі з довжиною хвилі 254 нм у вигляді плям поглинання з  $R_f$  0,27. Наявність моніліформіну підтверджували обробкою хроматограм розчином 2,4-динітрофенілгідразину в соляній кислоті з наступним прогріванням їх протягом 10 хв за температури 110 °С. Токсин проявлявся у видимому світлі плямами червоно-коричневого кольору [85].

Для визначення здатності продукувати дезоксиніваленол культури фузаріїв культивували на зволоженому зерні пшениці за температури 28 °С протягом 24 діб. Екстрагування проводили розчином ацетонітрил:вода

(3:1). Екстракт фільтрували через паперовий фільтр і очищали від коекстрактивних речовин колонковою хроматографією. Для цього на дно колонки  $D=15$  мм і довжиною 500 мм поміщали шматочок вати, насипали 0,75 г порошку активованого вугілля та шар – 0,75 г окису алюмінію і зверху поміщали шматочок вати. В колонку обережно вносили  $25\text{ см}^3$  екстракту, відбирали елюат і промивали колонку  $10\text{ см}^3$  сумішшю ацетонітрил:вода. Фільтрат випарювали до об'єму  $5\text{--}7\text{ см}^3$ , добавляли до нього  $20\text{ см}^3$  ізопропілового спирту, після чого випарювали до сухого залишку. Вміст ДОНу в екстракті виявляли методом тонкошарової хроматографії. Для цього його розчиняли в 200 мкл ацетонітрилу і на стартову лінію пластини *Sorbfil* за допомогою мікрошприца наносили 20 мкл досліджуваного розчину і поруч наносився стандартний розчин ДОНу виробництва R-biopharm в метанолі ( $100\text{ мкг/см}^3$ ). Пластину хроматографували у камері в системі гексан:ацетон (3:2), висушували та обробляли 10 % розчином алюмінію хлориду в етанолі. Після нагрівання пластини в сушильній шафі протягом 5 хв за  $105\text{ }^\circ\text{C}$  ДОН виявлявся в довгохвильовому УФ – світлі у вигляді плям з синьою флуоресценцією з  $R_f$  0,35–0,40 [158]. Підтвердження кількісного визначення вмісту дезоксиніваленолу в розчині виконувались у відділі хіміко-токсикології і радіології Київської міської державної лабораторії ветеринарної медицини, який акредитований у системі ISO 17025 DAP.

З метою встановлення здатності виділених ізолятів фузаріїв продукувати F-2 токсин чисті культури грибів вирощували у скляних пробірках місткістю  $50\text{ см}^3$  із  $15\text{ см}^3$  скошеного агару Чапека або на сусло-агарі із глютаміновою кислотою (10 г/л), протягом 7 діб за  $24\text{ }^\circ\text{C}$  і витримували 3 доби за  $4\text{ }^\circ\text{C}$  (в холодильнику). Екстракцію з пробірок проводили  $18\text{ см}^3$  етилацетату протягом 16 год, з наступною їх фільтрацією через паперові фільтри. Отриманий екстракт випарювали розчиняли в  $20\text{ см}^3$  хлороформу, двічі омиляли в ділильній лійці  $10\text{ см}^3$  1N розчину NaOH.

Лужні шари об'єднували в ділильній лійці, додавали 1 см<sup>3</sup> хлороформу, обережно змішували і зливали хлороформний шар. Після цього рН лужного шару доводили до 9,5 2Н розчином фосфорної кислоти, додавали 10 см<sup>3</sup> хлороформу, обережно змішували, відбирали шар хлороформу, фільтрували його через безводний сірчаноокислий натрій і процедуру повторювали.

Для розподілу екстракту у тонкому шарі на стартову лінію хроматографічної пластини на відстані 1,5 см від нижнього краю і 2 см один від одного наносили 2, 5 і 10 мкл досліджуваного екстракту і для контролю – 2 мкл розчину F-2 токсину виробництва R-biopharm в метанолі (25 мкг/см<sup>3</sup>) як речовину-свідок. Пластину хроматографували в системі розчинників толуол-етилацетат-мурашина кислота (5:4:1). За огляду хроматограми в ультрафіолетовому світлі виявляли речовину з  $R_f$  0,64 ± 0,05 у вигляді плями з блакитною флуоресценцією в ультрафіолеті і характером світіння аналогічним стандарту зеараленону.

Присутність токсину доводили хімічним методом шляхом обприскування пластин 20 % розчином сірчаної кислоти в метанолі з наступним прогріванням в сушильній шафі протягом 5 хв за температури 120 °С, після чого токсин проявлявся у вигляді плям жовто-цегляного кольору. Для кількісного визначення зеараленону що утворився, сухий залишок розчиняли в 10 см<sup>3</sup> етилацетату і кількісно переносили в калібровану пробірку. Екстракт наносили на хроматографічну пластину в кількості 1, 2, 3, 4, 6, 8 та 10 мкл, паралельно наносили стандартний розчин F-2 токсину і подальші маніпуляції проводили аналогічно з якісним визначенням зеараленону. У випадку наявності значної кількості мікотоксину, проводили титрування розчину 1:10, 1:100, 1:1000 та 1:10000. У разі перегляду хроматограм в УФ-світлі, а також у видимому світлі після обробки пластин 20 % розчином сірчаної кислоти в метанолі виявляють мінімальну кількість токсину, вона становить 0,05 мкг. Враховуючи



кількість нанесеного екстракту, ступінь розведення та мінімальну кількість зеараленону, що виявляли на хроматограмах, визначали кількість продукованого токсину.

Після виділення чистих культур грибів 22 штами *Aspergillus flavus* досліджували на здатність продукувати афлатоксини, коєву, аспергілову і пеніцилову кислоти. Для цього штами гриба вирощували на цукрово-дріжджовому середовищі протягом 10 діб за температури 25 °С. Мікотоксини екстрагували гарячим хлороформом і екстракт фільтрували через папір із зневодненим сульфатом натрію і наявність токсинів визначали методом тонкошарової хроматографії. Для цього екстракти наносили на пластини *Sorbfil* і розподіл проводили в системі розчинників толуол:етилацетат:мурашина кислота (6:3:1). Коєва кислота на пластинах мала вигляд плям світло-коричневого кольору, а після обробки пластин 1 % розчином хлориду заліза (III) плями ставали коричнево-вишневого кольору з  $R_f$  0–0,1. Для виявлення афлатоксинів пластини оглядали в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 365 нм, а для підтвердження результатів хроматографічні пластини обробляли проявником азотна кислота – дистильована вода (1:2) [150]. Стандартний розчин афлатоксину  $B_1$  проявлявся на пластині плямами блакитного кольору з  $R_f$  0,35–0,37. Пеніцилову кислоту виявляли шляхом витримування пластини в камері з парами аміаку, де вона проявлялась у вигляді плям малинового кольору з  $R_f$  0,53. Аспергілову кислоту виявляли за взаємодії з спиртовим розчином хлориду феруму, де вона забарвлювалась в червоний колір, а після обприскування розчином мідного купоросу, мала вигляд зелених плям з  $R_f$  0,1–0,15.

З метою визначення кращого субстрату для продукції дезоксиніваленолу та можливо забруднених в природі зернових ми вивчали субстрати на яких фузарії потенційно здатні утворити ДОН. Для чого було використано 15 зернових субстратів таких як пшениця, рис,

кукурудза, ячмінь, овес, жито, просо, пшоно, горох, соя, соняшник, гірчиця, ріпак, гречка та льон. Для вивчення максимальної продукції ДОНу вивчали вплив температур 4, 17, 24 та 28 °С, та вологості субстрату від 14–90 %, та терміну культивування 1, 2, 3 та 4 тижні.

### **2.3. Визначення токсичності дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей**

**Метою третього етапу досліджень** було виявити гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок білих мишей під впливом дезоксиніваленолу. Для цього було використано 10 тварин, яким щоденно вводили токсин в дозах від 0,8 до 2 мг на голову аж до дня їх загибелі. Потім у них відбирали серце, печінку і нирки для гістологічного дослідження.

Дезоксиніваленол для досліду отримували шляхом культивування гриба *F. graminearum* штам 195/1 на зволжених до 50 % зернах рису у мірних колбах місткістю 1000 см<sup>3</sup> та мікробіологічних матрацах за ГОСТ 1770–74. Потім культуру на рисі висушували, подрібнювали та екстрагували сумішшю ацетонітрил:вода (3:1) дворазово по одній годині і очищення токсину проводили методом колонкової хроматографії, для чого в колонки діаметром 10 мм вносили по 0,75 г активованого вугілля і окису алюмінію, токсин елюювали розчином ацетонітрил:вода (3:1) і розчинник випарювали в потоці повітря.

Для визначення дії ДОНу на організм білих мишей та курчат породи Адлер сріблястий і вивчення впливу мікосорбу на перебіг токсикозу використовували як продуцент токсину гриб *Fusarium graminearum* штам 195/1, виділений професором Рухлядою В.В. у 1977 р. З метою накопичення токсину його культивували у мікробіологічних матрацах та мірних колбах на стерильному зволоженому зерні пшениці за температури 28 °С протягом 24 діб. Токсин екстрагували сумішшю ацетонітрил – вода

(3:1) для відокремлення від коекстрактивних речовин та зеараленону проводили очищення екстракту колонковим методом та вміст токсину визначали методом ТШХ.

Для вивчення дії ДОНу на білих мишей у двох дослідах було використано 10 тварин, яким щоденно внутрішньочеревно вводили токсин в дозах від 0,8 до 2 мг/на голову аж до дня їх загибелі. Потім у них відбирали серце, печінку і нирки для гістологічного дослідження. Для цього патматеріал фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін і зрізи готували на санному мікротомі та фарбували гематоксиліном і еозином. Гістологічні зміни та їх інтерпретацію встановлювали за консультативної допомоги доцента кафедри ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та пат анатомії ім. Й.С. Загаєвського БНАУ М.В. Утеченка.

#### **2.4. Визначення токсичності дезоксиніваленолу для курчат породи Адлер сріблястий**

**Метою четвертого етапу досліджень** було проаналізувати вплив дезоксиніваленолу на біохімічні показники сироватки крові, гістологічні зміни тканин серця, печінки та нирок, показники специфічного поствакцинального імунітету до Ньюкаслської хвороби та вивчити протективну дію мікосорбу на організм курчат породи Адлер сріблястий. На момент проведення досліджень антитоксичний препарат Мікосорб був відносно новим і добре зарекомендованим на ринку, тому саме його було обрано.

Виробником препарату «Мікосорб», є американська фірма «Оллтек» (Alltech). Він створений на основі дріжджової культури *Saccharomyces cerevisiae*. Даний адсорбент містить модифіковані глюкоманнани, виділені з внутрішньої поверхні клітинних стінок зазначеної дріжджової культури і утворює унікальну структуру з величезною площею поверхні. Клітина

дріжджів що входять в склад препарату складається у середньому на 75 % з води і 25 % сухих речовин.

Клітинна стінка дріжджів на 90 % складається з повноцінних білків. Найбільш відомими серед них є зимо-казеїн (фосфопротеїд) і церевізін (альбумін). Вміст нуклеопротеїдів, у ядрах дріжджових клітин, складає 26 % від загальної кількості білків. Також до складу білку клітинної стінки дріжджів входять нуклеопротеїнові кислоти (простетична група нуклеопротеїдів) які при гідролізі утворюють пуринові й піримідинові основи, цукор (рибозу або дезоксирибозу) і фосфорну кислоту

До зовнішнього шару клітинної стінки дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* також входить маннано-протеїновий комплекс. У внутрішньому шарі клітинної стінки розташовані аморфні маннани, структуроутворюючі  $\beta$ -глюкани та протеїни, зв'язані сіткою з мікрофібрил, що складаються з глюканів. Основний структурний компонент клітинної стінки дріжджів – це полісахарид  $\beta$ -глюкан.  $\beta$  -1,3 і  $\beta$  -1,6-глюкани клітинної стінки *Saccharomyces cerevisiae* є одним полімером з молекулярною масою  $\sim$  240000, в якому основний ланцюг представлений  $\beta$  -1,6-глюканом, а бічні ланцюги -  $\beta$  -1,3-глюкозидними залишками. У середньому клітинна стінка складається на 55 - 65% з глюканів, на 35 - 40% - з маннанових білків (маннанопротеїнів), на 9% - з ліпідів і на 1 - 2% – з хітину.

У складі клітинної стінки *Saccharomyces cerevisiae* містяться також аміноцукри типу глюкозамінів, не подібних до хітину або хітозану. Ці аміноцукри, як правило, є складовою частиною глікопротеїнів. Також клітинна стінка складається на 40 % з маннанопротеїнів та на 2 % з хітину; все інше припадає на  $\beta$ -глюкани, що мають більшу фізіологічну активність, ніж нерозчинні. Упорівнянні з іншими глюканами,  $\beta$  -(1,3), (1,6)-D-глюкан дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* проявляє найбільшу фізіологічну активність. Полісахаридна оболонка дріжджових клітин має високу адсорбційну здатність до високомолекулярних мікотоксинів. (охратоксин

А, Т-2 токсин, дезоксиніваленол (ДОН), зеараленон) і практично не адсорбують низькомолекулярні мікотоксини (афлатоксин В<sub>1</sub>, фумонізин).

За даними виробника (500 г препарату створюють абсорбційну поверхню площею 1 га). Крім того, препарат майже не сорбує мінеральні речовини корму, зв'язує патогенні бактерії, але не сорбує вітаміни, амінокислоти та інші біологічно активні речовини які є у шлунково-кишковому тракті тварин.

*У першому досліді*, що тривав 21 добу було використано 30 голів п'ятитижневих курчат породи Адлер сріблястий, з яких було сформовано три групи по 10 голів у кожній. Курчат утримували в кліткових батареях типу КБУ-3 по 10 гол. в ярусі. Групи формували за принципом аналогів. Доступ до корму і води був вільним. Ветеринарно-профілактичні щеплення проводили згідно рекомендацій що до вирощування птиці Адлер Сріблястий.

Курчата першої групи (Т) – отримували дезоксиніваленол у дозі 70 мг/кг маси тіла, другої (Т+М) – дезоксиніваленол у дозі 70 мг/кг маси тіла одночасно з мікосорбом в дозі 20 г/кг корму щодобово, а третя контрольна (К) – утримувалась на основному раціоні. Курчата усіх трьох груп як корм отримували вискоєфективний збалансований комбікорм для молодняка курей виробництва Укрзооветпромстач. До його складу входили: кукурудза, соєвий та соняшниковий шрот, дріжджі кормові, рибне борошно, вапняк, дефторований фосфат, сіль мікроелементи, незамінні амінокислоти, вітаміни А, D<sub>3</sub>, Е, К, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub> (РР), В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> антиоксидант тощо.

Умови утримання підослідних груп курчат Адлер сріблястий відповідали вимогам регламентованим відомчими нормами технологічного проектування - ВНТП-АПК-04.05 «Підприємства птахівництва» табл. 2.4. Додаток А. При проведенні досліджень здійснювали постійний контроль умов утримання птахів за такими основними санітарно-гігієнічними

параметрами мікроклімату приміщень як: (температура повітря, відносна вологість, освітленість, газовий склад та мікробне забруднення) застосовуючи методики описані [136, 139] та використовуючи сучасні сертифіковані прилади: багатофункціональний вимірювальний прилад DT-8820; професійний термоанемометр Reakmetr PM 6252 B; люксметр Ю116.

У сироватці крові визначали вміст загального, ультрафільтрованого, іонізованого, нейтрального та білокзв'язаного кальцію – в реакції з гліоксаль-біс-2 оксаліном (Левченко В.І. та ін. 2010); неорганічного фосфору – реакцією з аскорбіною кислотою (Левченко В.І. та ін. 2010); активність загальної лужної фосфатази та її ізоферментів – за методом Вагнера, Путиліна і Харабури (Левченко В.І. та ін., 2010); кислої фосфатази – за реакцією з 4-нітрофенілфосфатом (Левченко В.І. та ін., 2010). У курчат після забою відбирали серце, печінку і нирки для вивчення змін на мікроскопічному рівні.

У *другому досліді* з метою вивчення впливу дезоксиніваленолу на напруженість специфічного імунітету до збудника Ньюкаслської хвороби у птахів було використано 20 голів п'ятитижневих курчат породи Адлер сріблястий. З них було сформовано 2 групи по 10 голів у кожній. Курчатам першої групи вводили перорально добавку дезоксиніваленолу у дозі 70 мг/кг маси тіла, друга (контрольна) – утримувалась на основному раціоні. Через 15 діб після вакцинації у курчат обох груп здійснювали серологічний контроль рівня антитіл до вірусу Ньюкаслської хвороби птиці за реакцією затримки гемаглютинації (РЗГА) (Наказ Державного департаменту ветеринарної медицини від 27.04. 2005).

## РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Контамінація зерна пшениці різних регіонів України

#### токсигенними мікроміцетами

#### 3.1.1. Епіфітна мікобіота зерна пшениці

Дослідженнями 70 проб зерна пшениці було встановлено, що в 1 г налічувалось від  $1,2 \cdot 10^3$  до  $3 \cdot 10^5$  КУО/г, що в середньому становило  $2,25 \cdot 10^4 \pm 7,75 \cdot 10^3$  КУО/г (табл. 3.1.1). У 2006 р. найбільшу кількість грибів було виявлено у зерні пшениці з Полісся, а найменше – в зерні з зони Степу, а у 2007 р. навпаки – більше колоній грибів виявляли в зерні зони Степу, а менше – у зерні з зони Полісся. Це можна пояснити різними середньодобовими температурами та кількістю опадів.

Таблиця 3.1.1

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

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

Дослідження показали, що найбільш частими контамінантами як 2006 так і 2007 років були мукоральні гриби та гриб *Alternaria alternata* вражали до 90 % зразків. Відносно рідше зустрічались гриби роду *Aspergillus* та *Penicillium* 79 та 57 % зразків, рідко гриби роду *Fusarium* 35,7 %.

Таблиця 3.1.2

## Епіфітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2006 р.

Види мікроміцетів	Зона						Всього, n=30	
	Полісся, n=11		Лісостеп, n=10		Степ, n=9			
	ФАКТ	%	ФАКТ	%	ФАКТ	%	ФАКТ	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	10	90,9	8	80	5	55,6	23	76,7
<i>Absidia corymbifera</i>	4	36,4	6	60	2	22,2	12	40
<i>Rhizopus oryzae</i>	7	63,6	3	30	5	55,6	15	50
<b>Разом мукоральних</b>	10	90,9	9	90	9	100	28	93,3
<i>Ascomycota, Plectomycetes, Eurotiales</i>								
<i>Monascus ruber</i>	1	9,1	-	-	-	-	1	3,3
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exigua</i>	-	-	2	20	-	-	2	6,7
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	10	90,9	10	100	8	88,9	28	93,3
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6	54,6	4	40	5	55,6	15	50
<i>Aspergillus flavus</i>	6	54,6	6	60	7	77,8	19	63,3
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	1	10	4	44,4	5	16,7
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	-	1	10	-	-	1	3,3
<i>Aspergillus candidus</i>	1	9,1	4	40	-	-	5	16,7
<b>Разом аспергіл</b>	8	72,7	8	80	8	88,9	24	80
<i>Penicillium spp.</i>	7	63,6	8	80	4	44,4	19	63,3
<i>Trichothecium roseum</i>	1	9,1	1	10	-	-	2	6,7
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	1	9,1	-	-	1	11,1	2	6,7
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	1	9,1	3	30	-	-	4	13,3
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	2	18,2	-	-	-	-	2	6,7
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	1	10	1	11,1	2	6,7
<i>Fusarium moniliforme</i>	1	9,1	-	-	1	11,1	2	6,7
<b>Разом фузаріїв</b>	4	36,4	3	30	2	22,2	9	30

Щодо поширення грибів у зерні пшениці залежно від зони України, то мукоральні гриби контамінували зерно в регіоні Степу щорічно у 100 % проб і в межах від 90 до 94,1 % відповідно у Лісостепу та Степу. Що



Таблиця 3.1.3

## Епіфітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2007 р.

Види мікроміцетів	Фізико-географічна зона						Всього, n=40	
	Полісся, n=17		Лісостеп, n=16		Степ, n=7			
	Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	16	94,1	15	93,8	7	100	38	95
<i>Absidia corymbifera</i>	5	29,4	6	37,5	2	28,6	13	32,5
<i>Rhizopus oryzae</i>	–	–	1	6,3	1	14,3	2	5
<b>Разом мукоральних</b>	16	94,1	15	93,8	7	100	38	95
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exigua</i>	4	23,5	5	31,3	1	14,3	10	25
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	17	100	12	75	6	85,7	35	87,5
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11	64,7	4	25	5	71,4	20	50
<i>Aspergillus flavus</i>	10	58,8	8	50	5	71,4	23	57,5
<i>Aspergillus niger</i>	5	29,4	5	31,3	3	42,9	13	32,5
<i>Aspergillus terreus</i>	1	5,9	–	–	1	14,3	2	5
<i>Aspergillus candidus</i>	2	11,8	1	6,3	2	28,6	5	12,5
<b>Разом аспергіл</b>	15	88,2	10	62,5	7	100	32	80
<i>Penicillium spp.</i>	5		12		4		21	
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	2	11,8	1	6,3	–	–	3	7,5
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	4	23,5	1	6,3	–	–	5	12,5
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	7	41,2	2	12,5	–	–	9	22,5
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	5,9	–	–	1	14,3	2	5
<i>Fusarium semitectum</i>	2	11,8	–	–	–	–	2	5
<i>Fusarium culmorum</i>	1	5,9	–	–	–	–	1	2,5
<b>Разом фузаріїв</b>	13	76,5	3	18,8	1	14,3	17	42,5

стосується гриба *Alternaria alternata*, то у 2006 р. він був виділений у всіх пробах зерна із зони Лісостепу, а у 2007 р. з Полісся.

Здебільшого гриби роду *Aspergillus* виявляли у зерні, вирощеному у зоні Степу, зокрема у 2007 р. їх виявили у 100 % проб. Відносно видового складу аспергілів, то в усіх трьох фізико-географічних зонах України переважно виявляли на пшениці *Aspergillus flavus* та *Aspergillus fumigatus*.

Нечасто зерно вражав *Aspergillus niger*, зокрема у 2006 р. – лише у 16,7 %, а у 2007 р. – у 32,5 % проб. Також відносно рідко з пшениці виділяли *Aspergillus candidus*, який у 2006 р. в зоні Степу взагалі був відсутній. Зовсім рідкісними контамінантами зерна були *Aspergillus terreus* та *Aspergillus ochraceus*. Перший з них був виділений з зерна лише у зоні Лісостепу у 2006 р., але був відсутній у 2007 р., а інший, навпаки, не виявлявся у 2006 р., проте у 2007 р. був виділений з зерна у зонах Полісся та Степу.

Частота виділення грибів роду фузаріум з зерна пшениці коливалась від 30 до 42,5 % досліджених проб, частіше їх виявляли у 2007 р. За обидва роки їх переважно знаходили у зоні Полісся, рідше у Лісостепу і ще рідше у зоні Степу. Усього серед епіфітної мікобіоти пшениці було виділено п'ять видів фузаріїв. Серед них найчастішими контамінантами виявилися *Fusarium sporotrichiella* та *Fusarium spp.*, хоча вони були відсутні у зоні Степу, а у 2006 році перший був виявлений лише на зерні із Полісся, а *Fusarium spp.* був представлений у двох інших зонах кожного року. *F. oxysporum* та *F. moniliforme* виділялися з зерна пшениці не часто. Так, перший не виявляли у 2006 р. у зерні зони Полісся, а у 2007 р. – у Лісостепу, а другий взагалі не виявляли у 2007 р., лише у перший рік виділяли у зерні, вирощеному у зонах Степу та Полісся. *F. semitectum* та *F. culmorum* контамінували зерно пшениці спорадично лише у 2007 р. у зоні Полісся.

Всі інші види грибів (*Monascus ruber*, *Trichothecium roseum*, *Phoma exiqua* та *Mycelia sterilia*) щороку виділяли із зерна пшениці з усіх трьох зон вирощування.

Наші дослідження показали, що епіфітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2006–2007 рр. була представлена 21 видом мікроміцетів, віднесених до 9 родів. Здебільшого виділявся *A. alternata* (90 % проб), представники родини *Mucorales* (89 %), зокрема роду *Mucor* (87 %). Децю

рідше серед контамінантів зерна зустрічались представники родів *Aspergillus* (79 %), серед яких переважали *A. flavus* (60 %), та *A. fumigatus* (50 %), а також родів *Penicillium* (57 %) та *Fusarium* (37 %). Ще рідше виявляли *Phoma exiguua* (17 %), *Mycelia sterilia* (7 %), *Trichothecium roseum* (2,9 %) і *Monascus rubber* (1,4 %).

Що стосується розповсюдження грибів по регіонах, то у зоні Полісся на зерні здебільшого зустрічались представники родів *Alternaria*, *Fusarium* та *Mycelia*, в зоні Лісостепу – виявляли представників роду *Penicillium* і *Phoma*, а у Степовій зоні – роди *Aspergillus* і *Mucor*. Гриби родів *Alternaria* та *Fusarium* не часто були контамінантами зерна в регіонах Лісостепу та Степу. До тих, що були ізольовані, найчастіше належали також гриби родів *Aspergillus*, що домінували на зерні в зоні Степу і рідше зустрічалися у Поліській зоні та ще рідше у зоні Лісостепу. Ізоляти роду *Fusarium* переважно виявляли у пробах зерна із Полісся, менше Лісостепу та Степу. Мікроміцети роду *Penicillium* були виділені більш ніж у половині досліджених проб зерна пшениці і переважали в зонах Лісостепу та Степу і менше – у зоні Полісся.

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

Гриби роду *Aspergillus* були представлені в зерні шістьма видами, у тому числі *A. flavus* переважав у регіоні Степу, не часто він виявлявся у зонах Полісся та Лісостепу. На другому місці виявився *A. fumigatus*, який частіше контамінував зерно в зонах Степу та Полісся та зрідка в зоні Лісостепу. *A. niger* траплявся рідше, але в зоні Степу його знаходили майже в половині досліджених проб зерна. На Поліссі і Лісостепу його виявляли приблизно у 1/5 частині проб. Не часто виділяли з зерна гриби *A. terreus* та *A. candidus*, причому перший зустрічався лише в Поліссі та

Степу, а другий переважав в Лісостепу. І лише єдиний ізолят *A. ochraceus* був виділений із зерна пшениці в Лісостепу.

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

Пеніцилії виділяли більше, ніж із половини всіх досліджених проб зерна, здебільшого їх виявляли у зоні Лісостепу та дещо менше на Поліссі та Степу. Представника мітоспорових грибів – *Phoma exiguua* виявляли у 27 % проб зерна зони Лісостепу, рідше він виявлявся на Поліссі та Степу. Інші види мікроскопічних грибів – *Monascus rubber* та *Trichothecium roseum* – були виділені лише із зерна пшениці Полісся та Лісостепу і займали незначне місце.

### **3.1.2. Ендофітна мікобіота зерна пшениці**

Окрім визначення заспорювання зерна пшениці були проведені дослідження щодо вивчення ступеня ураженості 70 проб зерна грибами. Найбільш часто зерно пшениці уражав гриб *Alternaria alternata*, який у зоні Полісся у 2006 р. контамінував 100 % проб і менш часто його виявляли у 2006 р. у зоні Лісостепу та у 2007 р. в Степу (табл. 3.1.4 та 3.1.5)

Другим за частотою ураження зерна були гриби роду *Aspergillus*, які у 2006 р. були виділені із 40 % проб, а у 2007 р. із 32,5 %, серед яких *A. flavus* здебільшого виявляли у пробах зони Полісся у 2006 р. і взагалі

Таблиця 3.1.4

**Ендofітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2006 року**

Види мікроміцетів	Фізико-географічна зона						Всього, n=30	
	Полісся, n=11		Лісостеп, n=10		Степ, n=9			
	Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	3	27,3	2	20	1	11,1	6	20
<b>Разом мукоральних</b>	3	27,3	2	20	1	11,1	6	20
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exiqua</i>	1	9,1	7	70	1	11,1	9	30
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	11	100	5	50	7	77,8	23	76,7
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus flavus</i>	7	63,6	2	20	3	33,3	12	40
<i>Aspergillus nidulans</i>	–	–	1	10	–	–	1	3,3
<b>Разом аспергіл</b>	7	63,6	2	20	3	33,3	12	40
<i>Penicillium spp.</i>	5	45,5	–	–	–	–	5	16,7
<i>Trichothecium roseum</i>	1	9,1	–	–	–	–	1	3,3
<i>Ascomycota, Plectomycetes, Eurotiales</i>								
<i>Talaromyces luteus</i>	–	–	1	10	–	–	1	3,3
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	2	18,2	–	–	–	–	2	6,7
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	–	–	1	10	1	11,1	2	6,7
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	2	18,2	1	10	1	11,1	4	13,3
<i>Fusarium oxysporum</i>	3	27,3	–	–	1	11,1	4	13,3
<i>Fusarium moniliforme</i>	1	9,1	–	–	–	–	1	3,3
<b>Разом фузаріїв</b>	5	45,5	2	20	2	22,2	9	30

не виявили у Лісостепу у 2007 р., Це можливо, пов'язане з тим, що спори гриба не проникли у зерно в період вегетації, а *A. fumigatus* був виявлений у зерні з усіх зон лише 2007 р.

*A. nidulans* був виявлений лише у одній пробі зерна з зони Лісостепу у 2006 р. а *A. niger* та *A. candidus* у 2007 р. – у поодиноких пробах зерна Полісся та Степу.

Таблиця 3.1.5  
**Ендофітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2007 року**

Види мікроміцетів	Фізико-географічна зона						Всього, n=40	
	Полісся, n=17		Лісостеп, n=16		Степ, n=7			
	Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	3	17,7	1	6,3	3	42,3	7	17,5
<b>Разом мукоральних</b>	3	17,7	1	6,3	3	42,3	7	17,5
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exiqua</i>	4	23,5	7	43,8	2	28,6	13	32,5
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	16	94,1	10	62,5	2	28,6	28	70
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	11,8	2	12,5	2	28,6	6	15
<i>Aspergillus flavus</i>	5	29,4	–	–	2	28,6	7	17,5
<i>Aspergillus niger</i>	1	5,9	–	–	–	–	1	2,5
<i>Aspergillus candidus</i>	–	–	–	–	1	14,3	1	2,5
<b>Разом аспергил</b>	7	41,2	2	12,5	4	57,1	13	32,5
<i>Penicillium spp.</i>	1	5,9	–	–	–	–	1	2,5
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	5	29,4	1	6,3	–	–	6	15
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	1	5,9	–	–	–	–	1	2,5
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	–	–	3	18,8	–	–	3	7,5
<i>Fusarium oxysporum</i>	–	–	1	6,3	–	–	1	2,5
<i>Fusarium moniliforme</i>	1	5,9	–	–	–	–	1	2,5
<b>Разом фузаріїв</b>	2	11,8	4	25	–	–	6	15

*Phoma exiqua* виділявся від 9,1 до 70 % проб зерна, вирощеного в усіх зонах за обидва роки.

Третє місце щодо ураження зерна пшениці у 2006 р. займали гриби роду фузаріум, а у 2007 р. – мукоральні гриби. Серед фузаріїв виявили три види *F. sporotrichiella*, *F. oxysporum* та *F. moniliforme*. Але найбільш частим контамінантом у 2006 р. виявився *F. oxysporum* у зоні Полісся, а у

2007 р. – *F. sporotrichiella* в зоні Лісостепу. Щорічно в поодиноких випадках виявляли *F. moniliforme* лише в зерні з Полісся.

Такі гриби як *Penicillium spp.*, *Trichothecium roseum*, *Talaromyces luteus* та *Mycelia sterilia* ми виявляли в зерні пшениці поодиноких випадках і лише в окремих зонах.

Дослідження ендofітної мікобіоти за два роки показало, що зерно пшениці уражується переважно грибом *A. alternata* (73 %), в цьому разі на Поліссі ним було вражено 96 % проб, а у Лісостепу та Степу відповідно 84 та 87,5 % проб. Друге місце за поширенням займали гриби родів *Aspergillus* (40 %) проб, серед яких і в епіфітній мікобіоті переважав *A. flavus*. Відносно частими контамінантами зерна були *Phoma exigua* та *Mucor spp.*, вони відповідно виявлялись частіше в пробах з Лісостепу та Степу.

Що стосується ураження зерна грибами роду *Fusarium*, то воно було на третину меншим у 2007 р. ніж у 2006 р. і було представлено лише 3 видами на Поліссі, Лісостепу і в Степу. Інші види (*Penicillium spp.* та *Mycelia sterilia*) виявляли у зерні зрідка, але практично завжди в зоні Полісся. Гриби *Talaromyces luteus* та *Trichothecium roseum* спорадично вражали зерно пшениці.

Отримані нами дані висвітлюють кількісний та якісний склад мікобіоти та поширення мікроміцетів, що уражували зерно пшениці, вирощене в різних фізико-географічних регіонах України. Так, у 2006 р. найбільше грибів було виявлено в зерні пшениці з Полісся, а найменше – в зерні з зони Степу, тоді як у 2007 р., навпаки – більше спор грибів виявляли в зерні зони Степу, а найменше – в зерні з зони Полісся.

Ми також виявили різницю в контамінації асоціаціями мікроміцетів зерна отриманого в різні роки, що можна пояснити деякими відмінностями погодних умов в 2006 та 2007 рр. Виявлена різниця в контамінації зерна пшениці та подібність видового складу мікроміцетів залежно від регіону

його вирощування. Встановлено, що переважно гриби роду *Fusarium* контамінували зерно, вирощене в зоні Полісся, мукоральні гриби контамінували всі 100 % проб зерна зони Степу. Гриб *A. alternata* забруднював більше 84 % проб і був виділений в зерні усіх досліджених зон. Одним з переважних контамінантів пшениці зони Степу були гриби роду *Aspergillus* (94 % проб).

Таким чином, екзофітні або зовнішні контамінанти зерна представлені видами та родами грибів *Alternaria alternata*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Phoma exigua*, *Mycelia sterilia*, *Trichotecium roseum* та *Monascus ruber*, а ендоефітні або внутрішні представлені *A. alternata*, *Phoma exigua*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium spp.*, *Trichotecium roseum* та *Talaromices luteus*. Частина ендоефітних мікроскопічних грибів, виділених під час досліджень, володіє фітопатогенними та потенційно токсигенними властивостями. Результати наведені вище можуть бути використані для об'єктивної оцінки якості зернової продукції. Більш глибоке вивчення токсикологічних властивостей виділеної мікобіоти дозволить прогнозувати можливе забруднення зерна пшениці мікотоксинами, що може бути використане для попередження розвитку мікотоксикозів сільськогосподарських тварин.

В продовження досліджень за тими ж методиками вивчалась епіфітна та ендоефітна мікобіота зерна пшениці врожаїв 2016 та 2017 років.

Виконаними дослідженнями встановлено, що в зерні пшениці по Україні виявлено від  $1,12 \cdot 10^3$  до  $6,5 \cdot 10^4$  КУО/г, що в середньому складало  $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$  КУО/г (табл. 3.1.6).

При цьому у 2016 р. найбільше грибів було виявлено в зерні пшениці з Полісся, а найменше – з зони Степу. У 2017 р., навпаки, більше спор грибів виявляли в зерні зони Степу, а найменше – в зоні Полісся, що може бути пов'язане із вищою температурою червня та липня 2017 р. та



різницею у кількості опадів за даними архіву погоди gismeteo.ua. За 2 роки в середньому на Поліссі контамінація зерна становила  $3,3 \cdot 10^4 \pm 4,49 \cdot 10^3$  КУО/г, у Лісостепу –  $2,4 \cdot 10^4 \pm 3,24 \cdot 10^3$  КУО/г та Степу –  $3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$  КУО/г.

Таблиця 3.1.6

**Контамінація зерна пшениці в різних регіонах України в період 2016–2017 р.**

Роки, зони	Урожай 2016 р.	Урожай 2017 р.	За 2 роки
Показник			
Зона Полісся			
<i>Lim</i>	$2,95 \cdot 10^3 - 6,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3 - 2,4 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3 - 6,5 \cdot 10^4$
$M \pm m$	$3,4 \cdot 10^4 \pm 4,3 \cdot 10^3$	$1,27 \cdot 10^4 \pm 1,59 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^4 \pm 4,49 \cdot 10^3$
Зона Лісостепу			
<i>Lim</i>	$1,42 \cdot 10^3 - 4,7 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^3 - 3,62 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^3 - 4,7 \cdot 10^4$
$M \pm m$	$2,42 \cdot 10^4 \pm 3,22 \cdot 10^3$	$1,87 \cdot 10^4 \pm 2,48 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^4 \pm 3,24 \cdot 10^3$
Зона Степу			
<i>Lim</i>	$1,62 \cdot 10^3 - 4,43 \cdot 10^4$	$1,57 \cdot 10^3 - 4,3 \cdot 10^4$	$1,57 \cdot 10^3 - 4,43 \cdot 10^4$
$M \pm m$	$2,3 \cdot 10^4 \pm 2,1 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^4 \pm 2,1 \cdot 10^3$	$2,29 \cdot 10^4 \pm 2,13 \cdot 10^3$
По країні			
<i>Lim</i>	$1,42 \cdot 10^3 - 6,5 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^3 - 4,3 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^3 - 6,5 \cdot 10^4$
$M \pm m$	$3,32 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^4 \pm 2,1 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^4 \pm 3,2 \cdot 10^3$

Що стосується поширення мікроміцетів, та результати аналізу їх родового і видового складу свідчать, що найчастішими контамінантами

зерна пшениці серед епіфітної мікобіоти є мукоральні гриби, вони були виявлені у 84 % проб зерна (табл. 3.1.7 та 3.1.8).

Таблиця 3.1.7

## Епіфітна мікобіота зерна пшениці урожаю 2016 і 2017 років

Види мікроміцетів	Зона						Всього, n=70	
	Полісся, n=25		Лісостеп, n=25		Степ, n=20			
	ФАКТ	%	ФАКТ	%	ФАКТ	%	ФАКТ	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	23	92	22	88	14	70	59	84
<i>Absidia corymbifera</i>	8	32	10	40	5	25	23	33
<i>Rhizopus oryzae</i>	6	24	5	20	4	20	15	21
<b>Разом мукоральних</b>	20	80	17	68	15	75	52	74
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exiqua</i>	4	16	5	20	3	15	12	17
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	22	88	19	76	14	70	55	79
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	14	56	9	36	11	55	34	49
<i>Aspergillus flavus</i>	12	48	13	52	14	70	39	56
<i>Aspergillus niger</i>	4	16	4	16	9	45	18	26
<i>Aspergillus candidus</i>	2	8	6	24	3	15	12	17
<b>Разом аспергіл</b>	22	88	16	64	18	90	56	80
<i>Penicillium spp.</i>	13	52	18	72	10	50	41	59
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	5	20	2	8	-	-	7	10
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	4	16	3	12	-	-	7	10
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	7	28	3	12	1	5	9	13
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	8	-	-	1	5	3	4
<i>Fusarium moniliforme</i>	2	8	1	4	-	-	3	4
<i>Fusarium semitectum</i>	1	4	-	-	-	-	1	1
<i>Fusarium culmorum</i>	1	4	-	-	-	-	1	1
<b>Разом фузаріїв</b>	16	64	7	28	2	10	25	36

Серед них найчастіше виявляли гриби роду *Mucor spp.* (92 % проб) із зони Полісся. Другу позицію за частотою виділення з зерна займали гриби *Aspergillus spp.* *Alternaria alternata* (80 та 79 % проб відповідно). При цьому найбільше аспергілів було виявлено у зерні Степу (90 % проб), а

альтернацію – у зерні з Полісся (88 % проб). Подібні дослідження кормів були проведені працівниками інституту ветеринарної медицини НААНУ, в більшості випадків були виділені гриби тих же родів, але у іншому відсотковому співвідношенні [132, 133].

Таблиця 3.1.8  
Ендофітна мікобіота зерна пшениці 2016 і 2017 років

Види мікроміцетів	Зона						Всього, n=70	
	Полісся, n=25		Лісостеп, n=25		Степ, n=20			
	Факт	%	Факт	%	Факт	%	Факт	%
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales, Mucoraceae</i>								
<i>Mucor spp.</i>	5	20	4	16	4	16	13	19
<b>Разом мукоральних</b>	5	20	4	16	4	16	13	19
<i>Mitosporic fungi, Coelomycetes, Sphaeropsidales, Sphaerioidaceae</i>								
<i>Phoma exigua</i>	4	16	12	48	5	25	21	30
<i>Hyphomycetales, Dematiaceae</i>								
<i>Alternaria alternata</i>	25	100	14	56	8	40	47	67
<i>Moniliaceae</i>								
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	4	1	4	4	20	6	9
<i>Aspergillus flavus</i>	10	40	3	12	7	35	20	29
<b>Разом аспергіл</b>	11	44	4	16	11	55	26	37
<i>Penicillium spp.</i>	5	20	-	-	1	5	6	9
<i>Hyphomycetales, Agonomycetales, Agonomycetaceae</i>								
<i>Mycelia sterilia</i>	5	20	2	8	1	5	8	11
<i>Tuberculariales, Tuberculariaceae</i>								
<i>Fusarium spp.</i>	2	8	1	4	-	-	3	4
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	1	4	2	8	1	5	5	7
<i>Fusarium oxysporum</i>	2	8	1	4	1	5	4	6
<i>Fusarium moniliforme</i>	1	4	1	4	-	-	2	3
<b>Разом фузаріїв</b>	6	24	5	20	2	10	13	19

Одним із конамінантів зерна пшениці були і гриби роду *Penicillium spp.* (80 % проб), при цьому найбільше їх було виявлено у зоні Лісостепу (72 % проб).

Гриби роду *Fusarium spp.* були виявлені у 36 % проб, найбільше їх було виділено у зерні з зони Полісся (64 % проб), а найменше – із зони Степу (10 % проб).

Стосовно глибинної, або ендofітної мікобіоти зерна можна сказати, що найбільш часто виявляли гриби родів *Alternaria* (67 % проб), *Aspergillus spp.* (37 %), *Phoma exiqua* (30 %), рідше – роди *Fusarium spp.* та *Mucor spp.* (19 % проб).

Таким чином, результати отримані нами, відповідають поширенню мікроскопічних грибів на зерні пшениці для Української природно-кліматичної зони і з незначним відхиленням відповідають дослідженням, проведеним у 2006–2007 роках.

За чотири роки нами досліджено 140 проб зерна пшениці врожаю 2006, 2007 та 2016, 2017 років з різних фізико-географічних зон України. Встановлено кількісний та якісний склад мікроскопічних грибів у зерні пшениці. Виявлено, що зерно пшениці у значній мірі контаміноване мікроскопічними пліснявими грибами. Ізольовані види мікроскопічних грибів були досліджені на їх здатність щодо утворення ними вторинних метаболітів – мікотоксинів. Результати досліджень також можуть бути використанні для подальшого прогнозування можливого забруднення зерна в майбутньому залежно від фізичних факторів навколишнього середовища, умов вирощування та зберігання врожаю. Матеріали цього розділу опубліковані [169, 177, 162, 161, 168].

### 3.2. Токсигенні властивості виділених грибів

#### 3.2.1. Токсичність грибів для тест-мікроорганізмів

Першим етапом досліджень було визначення токсичності фузаріїв, що проводили мікробіологічним методом з використанням агарових блоків. Ступінь токсичності встановлювали за діаметром зон пригнічення росту тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК чутливої до трихотеценових мікотоксинів.

Дослідженнями встановлено, що із 39 культур фузаріїв, які виділено з зерна пшениці, токсичними властивостями володіли 18 ізолятів (табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1

#### Токсичність фузаріїв для тест-культури *C. pseudotropicalis* шт. 44 ПК (M±m; n=39).

№ п/п	Види фузаріїв та № ізоляту	Область, район та рік ізоляції	Діаметр зон затримки росту (мм)	Ступінь токсичності
1	2	3	4	5
1	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1206д/2	Одеська, Котовський, 2007	–	АТ
2	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1232д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	–	АТ
3	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1233д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	30±3	Т
4	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	26±2	Т
5	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1215д/1	Вінницька, Бершадський, 2006	–	АТ

продовження таблиці 3.2.1

1	2	3	4	5
6	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1209/3	Київська, Білоцерківський, 2006	9±3	СТ
7	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1213д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	–	АТ
8	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1211д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	–	АТ
9	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1210/5	Київська, Білоцерківський, 2006	12±4	СТ
10	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	10±2	СТ
11	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1229/7	Вінницька, Вінницький, 2006	10±3	СТ
12	<i>F. sporotrichiella</i> 1218/5	Чернігівська, Менський, 2006	–	АТ
13	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1218/4	Чернігівська, Менський, 2006	–	АТ
14	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1273/4	Німеччина	9±3	СТ
15	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	26±3	Т
16	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1255/3	Київська, Білоцерківський, 2007	18±3	Т
17	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1254/3	Київська, Білоцерківський, 2007	9±2	СТ
18	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1252/1	Київська, Білоцерківський, 2007	16±4	Т

продовження таблиці 3.2.1

1	2	3	4	5
19	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	АТ
20	<i>Fusarium</i> spp. 1251/4	Київська, Білоцерківський, 2007	9±2	СТ
21	<i>Fusarium</i> spp. 1231/5	Вінницька, Вінницький, 2006	11±3	СТ
22	<i>F. avenaceum</i> я	Київська, Білоцерківський, 2007	-	АТ
23	<i>F. graminearum</i> 88К-46	Харківська	-	АТ
24	<i>F. culmorum</i> б-2-1	Харківська	-	АТ
25	<i>F. semitectum</i> 1251/1	Київська, Білоцерківський, 2007	10±2	СТ
26	<i>F. culmorum</i> 1256/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	АТ
27	<i>F. graminearum</i> 1273	Німеччина	9±3	СТ
28	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1226/6	Одеська, Комінтернівський, 2007	-	АТ
29	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1214д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	9±2	СТ
30	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1240д/1	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	АТ
31	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1210д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	10±3	СТ
32	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1208/5	Київська, Білоцерківський, 2006	-	АТ

продовження таблиці 3.2.1

1	2	3	4	5
33	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1206д/3	Одеська, Котовський, 2006	–	АТ
34	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1211д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	–	АТ
35	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> Глу.д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	–	АТ
36	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1205/2	Одеська, Красноокнянський, 2006	–	АТ
37	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1274/5	Німеччина	–	АТ
38	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1235д/2	Київська, Ставищанський, 2007	–	АТ
39	<i>F. oxysporum</i> + <i>F.</i> <i>sporotrichiella</i> 1239/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	10±3	СТ

**Примітка:** Т – токсичні, СТ – слаботоксичні, АТ – атоксичні

З них чотири ізоляти *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* та *F. sporotrichiella* var. *poae* утворювали зони пригнічення росту тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК діаметром від 17 до 20 мм і були віднесені до токсичних. Ще 14 ізолятів утворювали зони затримки росту тест-культури від 8 до 15 мм та були визначені як слаботоксичні. До них належали *Fusarium sporotrichiella* var. *poae* – 3 ізоляти, *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* – 3 ізоляти, *Fusarium* spp. – 2 ізоляти, *F. semitectum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* var. *orthoceras*, *F. moniliforme* var. *lactis* – по одному ізоляту. Решта культур грибів були атоксичні.

Таким чином, серед токсичних були виділені ізоляти гриба *F. sporotrichiella*, серед слаботоксичних – *F. sporotrichiella*, *Fusarium* spp., *F. semitectum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* та *F. moniliforme*.



### 3.2.2. Фузаріотоксини ізолятів грибів роду *Fusarium*

Другим етапом вивчення токсичності було встановлено здатність цих же 39 культур грибів роду *Fusarium* продукувати Т-2 токсин та інші трихотеценові мікотоксини, до яких чутлива тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК. Результати досліджень свідчать що 12 ізолятів грибів роду *Fusarium* продукували Т-2 токсин в кількості від 5 до 22 мкг/на 10 см<sup>3</sup> середовища. (табл. 3.2.2)

Таблиця 3.2.2

#### Продукція Т-2 токсину та інших трихотеценових мікотоксинів окремими ізолятами грибів роду *Fusarium*

№ п/п	Види грибів, № ізоляту	Діаметр зон затримки росту в чашках, мм	Тонкошарова хроматографія з біоавтографією		
			Діаметр зон затримки на ТШХ, мм	Rf	Вміст Т-2 токсину мкг/10 см <sup>3</sup> середовища
1	2	3	4	5	6
1	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1206д/2	16,0±3,0	20,0±2,0	0,45	13,3±0,38
2	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1232д/2	—	—	—	—
3	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1233д/2	30,0±4,0	17,0±2,0	0,45	10,0±0,24
4	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1241/3	23,0±2,0	15,0±3,0	0,45	7,3±0,31
5	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1215д/1	20,0±3,0	12,0±2,0	0,45	5,0±0,17
6	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1209/3	—	—	—	—
7	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1213д/2	20,0±2,0	20,0±3,0	0,45	13,3±0,49

## продовження таблиці 3.2.2

1	2	3	4	5	6
8	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1211д/4	22,0±4,0	15,0±3,0	0,45	7,3±0,36
9	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1210/5	21,0±3,0	14,0±2,0	0,45	6,0±0,21
10	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	9,0±2,0	–	–	–
11	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1229/7	16,0±3,0	15,0±4,0 10,0±2,0	0,45 0,05	22,0±0,64 TTMT
12	<i>F. sporotrichiella</i> 1218/5	–	–	–	–
13	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1218/4	9,0±2,0	5,0±1,0	0,05	TTMT
14	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1273/4	30,0±3,0	20,0±3,0 8,0±2,0	0,45 0,05	8,0±0,22 TTMT
15	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1241/3	10±2	6,0±1,0	0,05	TTMT
16	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1255/3	–	–	–	–
17	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1254/3	30,0±3,0	20,0±2,0	0,45	12,0±0,28
18	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1252/1	12,0±2,0	10,0±3,0	0,45	10,0±0,31
19	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	–	–	–	–
20	<i>Fusarium</i> spp. 1251/4	12,0±2,0	10,0±2,0	0,45	10,0±0,12
21	<i>Fusarium</i> spp. 1231/5	–	–	–	–
22	<i>F. avenaceum</i> я	–	–	–	–
23	<i>F. graminearum</i> 88K–46	9,0±2,0	8,0±1,0	0,05	TTMT
24	<i>F. culmorum</i> б–2–1	–	–	–	–
25	<i>F. semitectum</i> 1251/1	–	–	–	–
26	<i>F. culmorum</i> 1256/4	–	13,0±3,0 13,0±2,0	0,05 0,4	TTMT TTMT

продовження таблиці 3.2.2

1	2	3	4	5	6
27	<i>F. graminearum</i> 1273	9,0±2,0	7,0±2,0	0,05	ТТМТ
28	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1226/6	15,0±3,0	5,0±2,0	0,05	ТТМТ
29	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1214д/4	–	–	–	–
30	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1240д/1	14,0±3,0	3,0±2,0	0,25	ТТМТ
31	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1210д/2	–	5,0±1,0	0,02	ТТМТ
32	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1208/5	13,0±2,0	4,0±2,0	0,25	ТТМТ
33	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1206д/3	–	–	–	–
34	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1211д/3	–	–	–	–
35	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> Глу.д/3	12,0±2,0	6,0±2,0	0,25	ТТМТ
36	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1205/2	11,0±3,0	5,0±2,0	0,25	ТТМТ
37	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1274/5	9,0±2,0	–	–	–
38	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1235д/2	15,0±3,0	8,0±3,0	0,25	ТТМТ
39	<i>F. oxysporum</i> + <i>F.</i> <i>sporotrichiella</i> 1239/3	–	10,0±3,0	0,25	ТТМТ

Примітка: ТТМТ – не ідентифіковані види трихотеценових мікотоксинів

Т-2 токсин продукували *F. sporotrichiella* var. *poae* – 8 ізолятів, *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* – 3 та 1 неідентифікований ізолят *Fusarium* spp. Ще п'ятнадцять ізолятів грибів продукували не ідентифіковані трихотеценові мікотоксини, серед них *F. oxysporum* var. *orthoceras* – 4

ізоляти, *F. moniliforme var. lactis* – 3 ізоляти, *F. sporotrichiella var. tricinctum* – 4 ізоляти, *F. graminearum* – 2 ізоляти та *F. culmorum* – 1 ізолят.

Ці ж ізоляти були піддані подальшому токсикологічному дослідженню з вивчення здатності продукувати зеараленон, моніліформін, фумонізін В<sub>1</sub> та дезоксиніваленол.

Таблиця 3.2.3

**Продукція токсинів окремими ізолятами роду *Fusarium spp.***

№ п/п	Види грибів, № ізоляту	Область, район, рік ізоляції	Токсини					
			F-2	ДОН	FB <sub>1</sub>	MON	T-2	ТТМТ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1206д/2	Одеська, Котовський, 2007	-	-	-	-	+	-
2	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1232д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	-	-	-	-	-	-
3	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1233д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	-	-	-	-	+	-
4	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	-	-	-	+	-
5	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1215д/1	Вінницька, Бершадський, 2006	-	-	-	-	+	-
6	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1209/3	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	-
7	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1213д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	+	-
8	<i>F. sporotrichiella var. poae</i> 1211д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	+	-

продовження таблиці 3.2.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
9	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. poae</i> 1210/5	Київська, Білоцерківський, 2006	+	-	-	-	+	-
10	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
11	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. tricinctum</i> 1229/7	Вінницька, Вінницький, 2006	-	-	-	-	+	+
12	<i>F. sporotrichiella</i> 1218/5	Чернігівська, Менський, 2006	-	-	-	-	-	-
13	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. tricinctum</i> 1218/4	Чернігівська, Менський, 2006	-	-	-	-	-	+
14	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. tricinctum</i> 1273/4	Німеччина	-	-	-	-	+	+
15	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. tricinctum</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	+	-	-	-	-	+
16	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. poae</i> 1255/3	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
17	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. tricinctum</i> 1254/3	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-
18	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. poae</i> 1252/1	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-
19	<i>F. sporotrichiella</i> <i>var. poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
20	<i>Fusarium spp.</i> 1251/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-

продовження таблиці 3.2.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
21	<i>Fusarium spp.</i> 1231/5	Вінницька, Вінницький, 2006	-	-	-	-	-	-
22	<i>F. avenaceum</i> я	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
23	<i>F. graminearum</i> 88К-46	Харківська	-	-	-	-	-	+
24	<i>F. culmorum</i> б- 2-1	Харківська	-	-	-	-	-	-
25	<i>F. semitectum</i> 1251/1	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
26	<i>F. culmorum</i> 1256/4	Київська, Білоцерківський, 2007	+	-	-	-	-	+
27	<i>F. graminearum</i> 1273	Німеччина	-	+	-	-	-	+
28	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1226/6	Одеська, Комінтернівський, 2007	-	-	-	-	-	+
29	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1214д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	-
30	<i>F. moniliforme</i> <i>var. lactis</i> 1240д/1	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	-	-	-	-	+
31	<i>F. moniliforme</i> <i>var. lactis</i> 1210д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	+	-	-	+
32	<i>F. moniliforme</i> <i>var. lactis</i> 1208/5	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	+	-	-	+
33	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1206д/3	Одеська, Котовський, 2006	-	-	+	-	-	-

продовження таблиці 3.2.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
34	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1211д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	–	–	–	–	–	–
35	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> Глу.д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	–	–	–	–	–	+
36	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1205/2	Одеська, Красноокнянськи й, 2006	–	–	–	–	–	+
37	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1274/5	Німеччина	–	–	–	–	–	–
38	<i>F. oxysporum</i> <i>var. orthoceras</i> 1235д/2	Київська, Ставищанський, 2007	–	–	–	–	–	+
39	<i>F. oxysporum</i> + <i>F. sporotrichiella</i> 1239/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	–	–	–	–	–	+

**Примітка:** MON – моніліформін

Результати досліджень в (табл. 3.2.3) показали, що із грибів виділених з зерна пшениці, три ізоляти, зокрема *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrichiella var. tricinctum* 1241/3 та *F. sporotrichiella var. poae* 1210/5 продукували зеараленон, *F. graminearum* 1273 – ДОН, три ізоляти *F. moniliforme var. lactis* 1210д/2, *F. moniliforme var. lactis* 1208/5 та *F. oxysporum var. orthoceras* 1206д/3 – фумонізін В<sub>1</sub>. Із 39 ізолятів грибів роду *Fusarium* 12 продукували Т-2 токсин. Серед них 8 ізолятів *F. sporotrichiella var. poae*, 3 ізоляти *F. sporotrichiella var. tricinctum* та 1 ізолят *Fusarium spp.* Крім цього 15 ізолятів утворювали – неідентифіковані трихотеценові мікотоксини і жоден штам не продукував моніліформін.

Аналізуючи отримані результати можна зазначити, що гриби-продуценти Т-2 токсину були виявлені в зерні Київської – (7) ізолятів, Вінницької – (2) ізоляти, Закарпатської – (1) ізолят, Одеської – (1) ізолят

областей і 1 ізолят-продуцент був виділений із зерна пшениці з Німеччини. Зеараленон синтезували ізоляти грибів, виділені у зерні пшениці Київської та Закарпатської областей, а продуценти фумонізіну В<sub>1</sub> виявлені у зерні Київської та Одеської областей. Неідентифіковані трихотеценові мікотоксини синтезували ізоляти грибів, виділених з зерна із Вінницької, Чернігівської, Закарпатської, Харківської, Київської, Одеської областей та із Німеччини.

### 3.2.3. Токсичні властивості грибів роду *Aspergillus*

Гриби роду *Aspergillus* широко розповсюджені на кормах і потенційно здатні продукувати охратоксини, афлатоксини, стеригматоцистин, коєву, аспергілову і пеніцилову кислоти та інші. Оскільки в деяких регіонах України контамінація досліджуваних проб зерна пшениці була значною і в зоні Степу досягала 100 %, була поставлена мета вивчити токсинпродукуючі властивості деяких видів грибів роду *Aspergillus*.

Зокрема нас цікавило питання наявності серед ізолятів *Aspergillus flavus*, виділених із зерна пшениці, токсичних ізолятів, а серед токсичних – продуценти афлатоксинів, коєвої, аспергілової та пеніцилової кислот. Для цього було досліджено двадцять два ізоляти *A. flavus*.

Проведеними дослідженнями продуцентів афлатоксинів серед 22 ізолятів *Aspergillus flavus* не виявлено, 8 ізолятів гриба *Aspergillus flavus* продукували коєву кислоту, 20 ізолятів – аспергілову і лише один – пеніцилову кислоту (табл. 3.2.4). Таким чином, серед грибів *Aspergillus flavus* були встановлені продуценти коєвої, аспергілової, пеніцилової кислот, а продуцентів афлатоксину серед них не виявлено.

Щодо поширення по областях, то продуценти коєвої кислоти були виділені в зерні Одеської, Вінницької, Кіровоградської, Чернігівської та Київської областей.



Таблиця 3.2.4

Продукція токсинів ізолятами *Aspergillus flavus*

№ п/п	Штами	Область, район, рік ізоляції	Мікотоксини			
			Коєва кислота	Аспергі- лова кислота	Пеніци- лова кислота	Афлато- ксини
1	2	3	4	5	6	7
1	<i>Aspergillus flavus</i> 1216/1	Кіровоградська, Гайворонський, 2006	+	+	–	–
2	<i>Aspergillus flavus</i> 1207/2	Одеська, Котовський, 2006	+	+	–	–
3	<i>Aspergillus flavus</i> 1215/1	Вінницька, Бернадський, 2006	+	+	–	–
4	<i>Aspergillus flavus</i> 1206/1	Одеська, Котовський, 2006	+	+	–	–
5	<i>Aspergillus flavus</i> 1219/3	Чернігівська, Куликівський, 2006	+	+	–	–
6	<i>Aspergillus flavus</i> 1222/2	Вінницька, Липовецький, 2006	+	–	–	–
7	<i>Aspergillus flavus</i> 1208/2	Одеська, Балтський, 2006	+	+	–	–
8	<i>Aspergillus flavus</i> 1214д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	+	+	–	–
9	<i>Aspergillus flavus</i> Глу/5	Київська, Білоцерківський, 2006	–	+	–	–
10	<i>Aspergillus flavus</i> 1226/1	Одеська, Комінтернівський, 2007	–	+	–	–
11	<i>Aspergillus flavus</i> 1229/9	Вінницька, Вінницький, 2006	–	+	–	–

продовження таблиці 3.2.4

1	2	3	4	5	6	7
12	<i>Aspergillus flavus</i> 1203/5	Одеська, Комінтернівський, 2006	–	+	–	–
13	<i>Aspergillus flavus</i> 1223/3	Вінницька, Липовецький, 2006	–	+	–	–
14	<i>Aspergillus flavus</i> 1247/5	Миколаївська, Кривоозерський, 2007	–	+	–	–
15	<i>Aspergillus flavus</i> 1249/3	Одеська, Ширяєвський, 2007	–	+	–	–
16	<i>Aspergillus flavus</i> 1262/7	Вінницька, Вінницький, 2007	–	+	–	–
17	<i>Aspergillus flavus</i> 1244/1	Закарпатська, Виноградівський, 2007	–	+	–	–
18	<i>Aspergillus flavus</i> 1221/1	Чернігівська, Козелецький, 2006	–	+	+	–
19	<i>Aspergillus flavus</i> 1231/3	Вінницька, Літинський, 2006	–	+	–	–
20	<i>Aspergillus flavus</i> 1252д/2	Київська, Білоцерківський, 2007	–	+	–	–
21	<i>Aspergillus flavus</i> 1236/6	Вінницька, Тульчинський, 2006	–	+	–	–
22	<i>Aspergillus flavus</i> 1205/3	Одеська, Красноокнянський, 2006	–	–	–	–

**Примітка:** “+” – виявлено, “–” – не виявлено

Продуценти аспергілової кислоти були виділені з зерна пшениці Одеської, Вінницької, Київської, Чернігівської, Кіровоградської, Закарпатської та Миколаївської областей і лише один продуцент пеніцилової був виділений в зерні Чернігівської області.

### 3.2.4. Вплив умов зовнішнього середовища на синтез дезоксиніваленолу ізолятами грибів роду *Fusarium*

Із активних продуцентів дезоксиніваленолу були досліджені 5 ізолятів *Fusarium graminearum*: 32/1, 193/2, 195/1, 1273, 88к-46, та 3 ізоляти *Fusarium culmorum*: 13/4, 1256/4, б-2-1. (табл. 3.2.5). Ізоляти 13/4, 32/1, 193/2 і 195/1 отримані проф. В.В. Рухлядою, 1256/4 і 1273 отримані нами, а 88к-46 і б-2-1 люб'язно надані для досліджень доктором ветеринарних наук А.М. Котиком.

Зазначені штами фузаріїв вирощували на стерильному зволоженому зерні рису за температури 28 °С протягом 24 діб.

Таблиця 3.2.5

#### Походження досліджених ізолятів грибів фузаріїв

Види грибів	Штам	Рік виділення	Джерело ізоляції	Продукція токсинів	
				ДОН	F-2
<i>F. culmorum</i>	13/4	1973	Ячмінь, Кіровоградська область	–	нд
<i>F. culmorum</i>	1256/4	2008	Пшениця, Київська область	–	нд
<i>F. culmorum</i>	б-2-1	–	Кукурудза, Харківська область	–	нд
<i>F. graminearum</i>	32/1	1973	Гречана солома, Кіровоградська область	–	нд
<i>F. graminearum</i>	193/2	1977	Пшениця, Кіровоградська область	+	нд
<i>F. graminearum</i>	195/1	1977	Пшениця, Кіровоградська область	+	+
<i>F. graminearum</i>	1273	2008	Пшениця, Німеччина	+	–
<i>F. graminearum</i>	88к-46	–	Кукурудза, Харківська область	–	нд

Дослідження показали, що дезоксиніваленол продукували ізоляти *F. graminearum* № 193/2, 195/1 і 1273. Найактивнішим продуцентом виявився ізолят *F. graminearum* 195/1, виділений із фузаріозного зерна

пшениці В.В. Рухлядою у 1977 р, тому його і використовували в подальших дослідженнях з метою отримання дезоксиніваленолу.

Оскільки на різних зернах *F. graminearum* росте по-різному, то і синтез дезоксиніваленолу відповідно відрізняється.

В посівах *F. graminearum* ізолят 195/1 спостерігали гарний ріст гриба на усіх зернових субстратах, проте інтенсивність токсиноутворення було не однаковим. Найбільшу кількість дезоксиніваленолу виявили на зерні рису, пшоно і кукурудзи, на зерні пшениці і ячменю токсину утворювалось менше і зовсім мало – на зернах сої та льону, а на інших зернових субстратах його взагалі не було виявлено (табл. 3.2.6).

Таблиця 3.2.6

**Продукція дезоксиніваленолу ізолятом 195/1 *F. graminearum* залежно від виду зернового субстрату мг/кг,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Субстрат	Вміст ДОНу	Субстрат	Вміст ДОНу
Рис	3600±11,31	Ріпак	нв
Пшоно	2000±17,40	Гірчиця	нв
Кукурудза	1200±10,34	Овес	нв
Пшениця	130±4,12	Жито	нв
Ячмінь	130±4,33	Соняшник	нв
Соя	16±0,37	Гречка	нв
Льон	14±0,63	Горох	нв
Просо	нв		

**Примітка:** “нв” – не виявлено

Необхідно зазначити, що субстрати з найбільшим накопиченням дезоксиніваленолу (рис, пшоно та кукурудза) мають у своєму хімічному складі 70–78 % вуглеводів, від 8 – до 15 % білку та до 6 % жирів. Крім цього, вони містять багато мікро-, макроелементів та вітамінів. Можливо,

саме такий хімічний склад є оптимальним для максимального накопичення дезоксиніваленолу у субстраті грибом *F. graminearum* ізолят 195/1.

В результаті проведеного дослід з визначення впливу температури було встановлено, що цей мікотоксин був виявлений в усіх трьох субстратах: рисі, кукурудзі і пшениці за температур 17 та 24 °С, хоча кількість утвореного дезоксиніваленолу була найбільшою за температури 24 °С. За температури субстрату 37 °С ріст гриба *F. graminearum* ізолят 195/1 візуально не спостерігали (табл. 3.2.7).

Таблиця 3.2.7

**Продукція дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 ( $M \pm m$ ;  $n=15$ ) за різних температурних режимів**

Субстрат	Температура, °С	Кількість токсину мг/кг субстрату
Пшениця	4	Не виявлено
	12	Не виявлено
	17	50±1,47
	24	130±3,96
	37	Не виявлено
Кукурудза	4	Не виявлено
	12	Сліди
	17	700±16,41
	24	1200±21,33
	37	Не виявлено
Рис	4	Не виявлено
	12	Сліди
	17	2400±22,48
	24	3500±29,74
	37	Не виявлено

В результаті проведених досліджень можна стверджувати, що *F. graminearum* ізолят 195/1 утворює ДОН за температур субстрату в межах від 17 до 24 °С, а температури понад 37 °С взагалі не придатні для його росту і розмноження.

Наступним етапом досліджень було визначення оптимальної вологості зернових субстратів для синтезу ДОНу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1. Для цього використали зерна рису, кукурудзи та пшениці, оскільки вони мають важливіше значення у годівлі тварин.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що найоптимальнішою температурою для синтезу дезоксиніваленолу є вологість від 40 до 80 %.

Таблиця 3.2.8

**Продукція дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 залежно від вологості субстрату ( $M \pm m$ ;  $n=21$ )**

Субстрат	Кількість токсину мг/кг субстрату	Вологість субстрату, %						
		20	30	40	50	60	70	80
Пшениця	нв	нв	нв	110± 2,12	140± 2,24	120± 2,17	80± 1,34	сліди
Кукурудза		нв	нв	980± 18,12	1200± 20,61	1350± 21,68	1300± 20,74	540± 14,31
Рис		нв	нв	2300± 20,33	3450± 27,43	3700± 29,64	3550± 28,52	3520± 27,86

**Примітка:** “нв” – не виявлено

Причому найбільше його утворювалось на зерні пшениці за вологості субстрату 50 %, на кукурудзі за 60 – 70 %, на рисі за 60 – 80 %. За вологості 20 і 30 % активний ріст гриба не спостерігався (табл. 3.2.8).

**3.2.5. Вплив терміну культивування *F. graminearum* ізолятом 195/1 на продукцію дезоксиніваленолу**

Дослідження показали, що у зерні кукурудзи гриб *F. graminearum* ізолят 195/1 почав синтезувати дезоксиніваленол після другого тижня культивування, а після третього – отримали максимум. У зерні пшениці токсин виявляли після першого тижня культивування і його кількість зростала аж до третього тижня, а потім теж зменшувалась. На пшоні і рисі

динаміка накопичення дезоксиніваленолу виявилася схожою, і в них сліди токсину виявили після третього тижня, а максимальну кількість спостерігали через чотири тижні культивування *F. graminearum* ізолят 195/1 (табл. 3.2.9).

Таблиця 3.2.9

**Продукція дезоксиніваленолу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1 за різних термінів культивування ( $M \pm m$ ;  $n=16$ )**

Субстрат	Температура 24-26 °C	Термін культивування, діб			
		7	14	21	28
Пшениця	Кількість токсину мг/кг субстрату	35±1,23	90±2,35	135±3,72	110±2,88
Кукурудза		нв	1150±20,66	1250±21,83	1180±20,45
Рис		нв	нв	сліди	3650±27,62
Пшоно		нв	нв	сліди	2100±20,49

**Примітка:** “нв” – не виявлено

Таким чином, було встановлено, що на різних субстратах гриб *F. graminearum* ізолят 195/1 утворює дезоксиніваленол з різною інтенсивністю і вона залежить від тривалості цього процесу.

Можна зробити висновок, що оптимальними параметрами для утворення ДОНу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1 є температура 24 °C, вологість субстрату 50 % та термін культивування 24 доби. Найбільше токсину синтезувалось на рисовому субстраті.

Матеріали цього розділу опубліковано [159, 177, 168].

### **3.3. Токсичність дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей і курчат**

#### **3.3.1. Токсичність дезоксиніваленолу для білих лабораторних мишей**

Згідно даних літератури дезоксиніваленол щоденно одноразово до моменту загибелі вводили внутрішньочеревно 3 білим мишам у дозі 0,8 мг/голову (0,6 LD<sub>50</sub>). В результаті цього одна миша загинула на другий день, а дві інші zostалися живими навіть після шостого введення. Тому дозу їм збільшили до 2 мг на голову (1,4 LD<sub>50</sub>), і вони загинули після одно- і дворазового введення. П'ятьом іншим білим мишам токсин вводили в дозі 2 мг/голову, з яких 4 миші загинули після одноразового введення, а одна – після повторного.

Залежно від терміну загибелі мишей виявили патоморфологічні зміни у динаміці розвитку отруєння дезоксиніваленолом. За гострого токсикозу у загиблих мишей структура міокарда в переважній більшості була частково збережена як за поздовжнього так і поперечного зрізів. У кардіоміоцитах не візуалізувалась поперечна посмугованість, окремі волокна мали не однакову товщину. Ядра м'язових волокон були дещо витягнуті, інтенсивно базофільні, їх капіляри були значно наповнені кров'ю внаслідок запальної гіперемії. Поодинокі ядра кардіоміоцитів були збільшені, просвітлені, як і їх цитоплазма, що містила еозинофільну зернистість, що вказує на розвиток слабо вираженої білкової зернистої дистрофії (рис. 3.3.1). Наявність крововиливів з відсутністю суттєвих вражень міокарда можна пояснити гострим періодом запалення і неможливістю м'язу суттєво пошкодитись за такий короткий період.



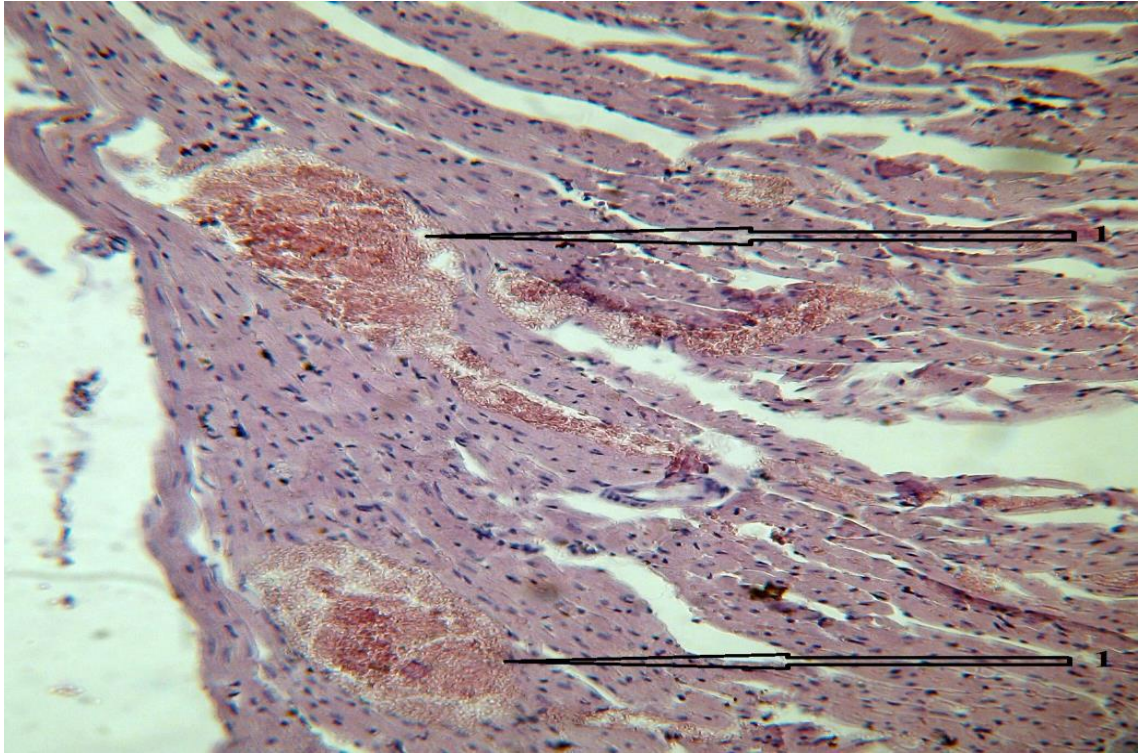


Рис. 3.3.1 Мікропрепарат серця мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – крововиливи в товщу міокарда зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

За гістологічного дослідження серця мишей, загинувших від під гострого дезоксиніваленолтоксикозу, виявляли просвітлення цитоплазми кардіоміоцитів, місцями з блідо-рожевою зернистістю. Ядра були збільшені, просвітлені, в них було видно базофільні ядерця, судини помірно наповнені кров'ю. Переважна більшість кардіоміоцитів перебувала в стані білкової зернистої дистрофії. У серці однієї загублої миші на фоні дистрофічних змін спостерігали множинні діapedезні крововиливи під епікардом та в глибину міокарду (рис. 3.3.2). В окремих судинах були сформовані гіалінові тромби, представлені гомогенною слабко-оксифільною однорідною масою, частина судин була розширена і перебувала в стані стазу.

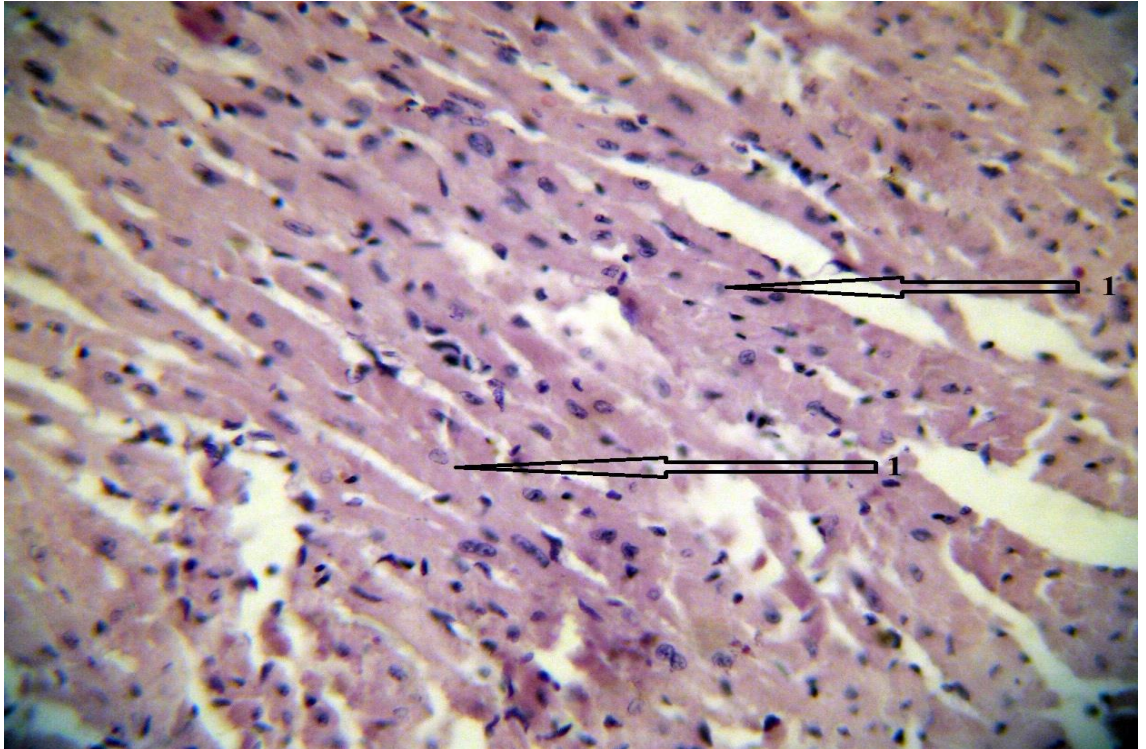


Рис. 3.3.2 Мікропрепарат серця мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – білкова зерниста дистрофія кардіоміоцитів зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

У печінці лабораторних мишей виявляли збільшення гепатоцитів, просвітлення та збільшення частини їх ядер, в яких чітко проглядали базofilні ядерця. Частина ядер була зруйнована (представлена грудочками хроматину), а цитоплазма таких гепатоцитів містила оксифільну зернистість (рис. 3.3.3). Магістральні судини печінки були наповнені кров'ю. Встановлений каріорексис свідчив про початковий етап розвитку некрозу.

В печінці на фоні дистрофічних та некротичних змін (як і в попередньому випадку), в зірчатих ретикулоендотеліоцитах, в переважній їх більшості, містився темно-коричневий, із злегка зеленкуватим відтінком, пігмент. Частина ядер гепатоцитів з ознаками каріопікнозу та каріорексису. В печінці іншої миші патологічні процеси набували більш глибоких змін, що вказувало на розвиток коагуляційного некрозу і такі

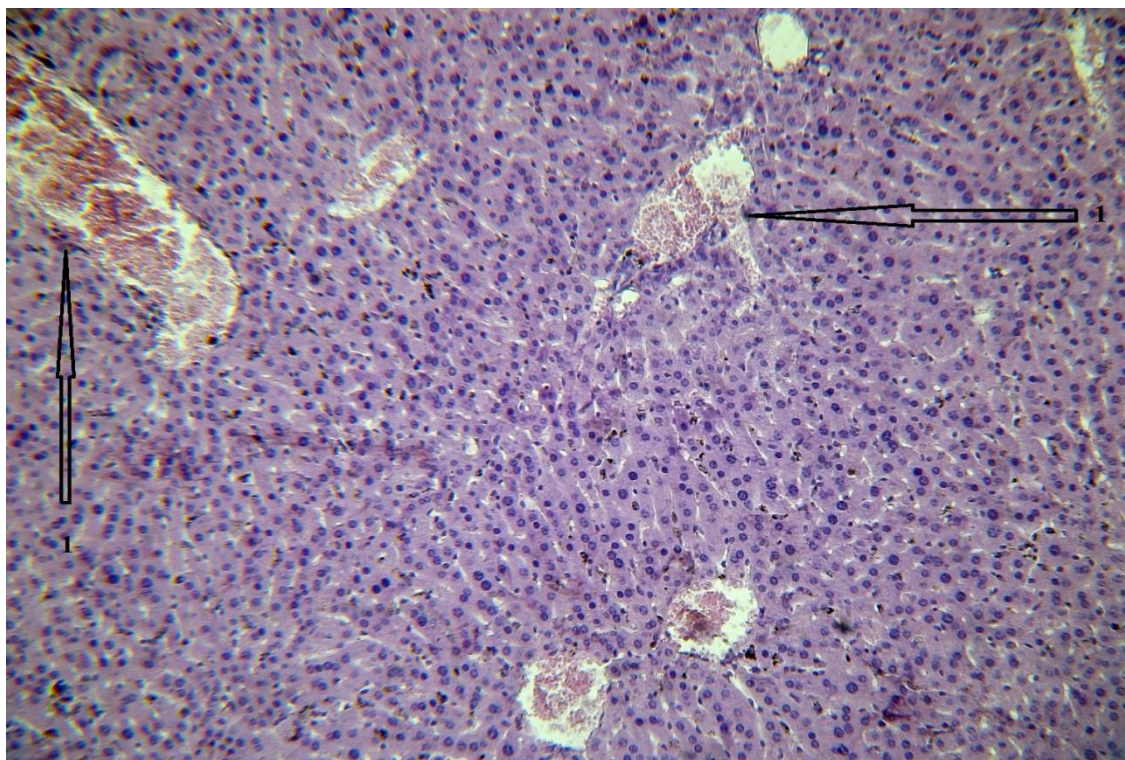


Рис. 3.3.3 Мікропрепарат печінки лабораторних мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – розширення і переповнення судин кров'ю зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

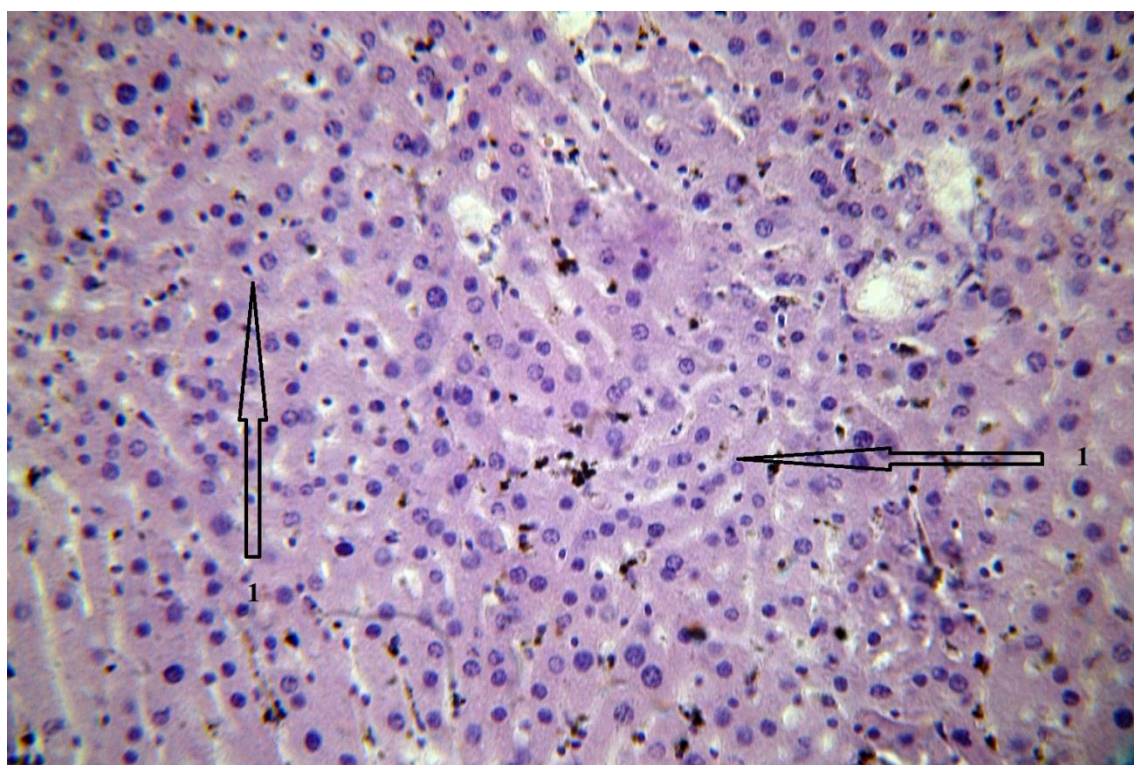


Рис. 3.3.4 Мікропрепарат печінки лабораторних мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – каріопікноз ядер гепатоцитів зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

ділянки розповсюджувалися на досить значну частину органа (рис. 3.3.4).

У нирках виявляли набухання епітелію звивистих і прямих каналців. Цитоплазма епітелію таких каналців була мутна або мала оксифільну зернистість, що свідчило про мутне набухання та зернисту дистрофію епітелію (рис. 3.3.5). Структура клубочків залишалася збереженою.

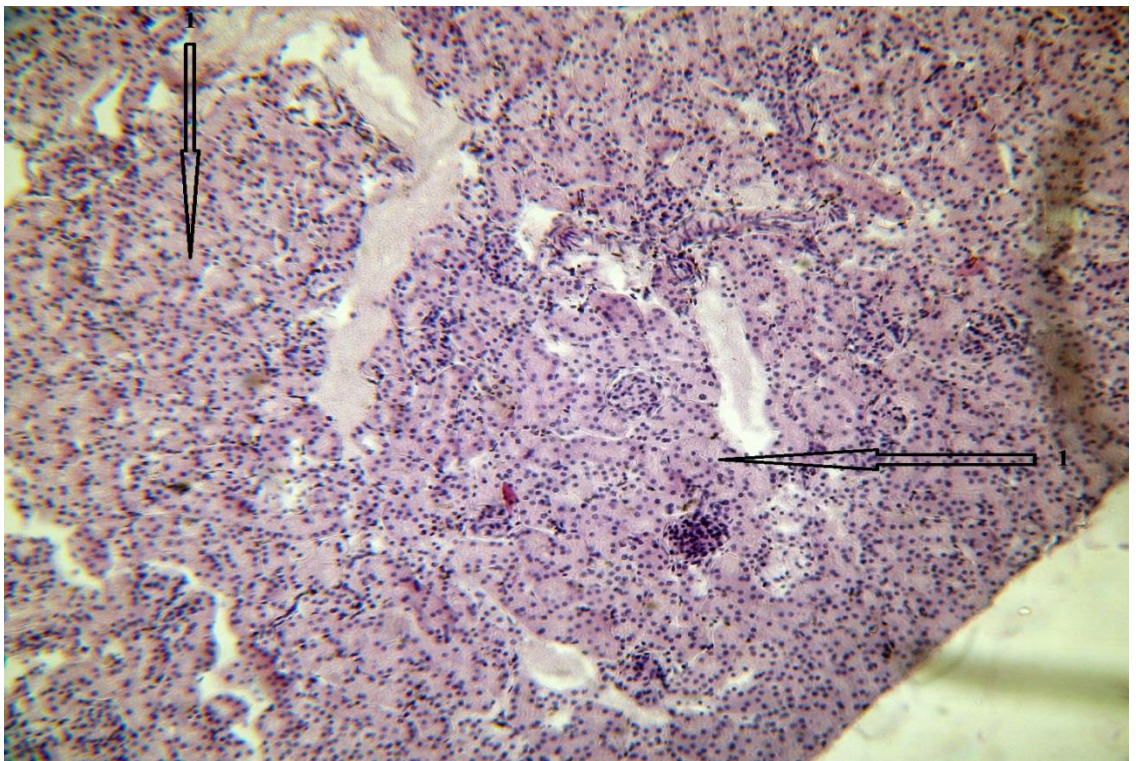


Рис. 3.3.5 Мікропрепарат нирок лабораторних мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – мутне набухання та зерниста дистрофія епітелію нирок зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

Структура звивистих та частини прямих каналців нирок була стерта і перебувала в стані анемічного інфаркту. Окремі клубочки, структура яких збереглася, мали потовщену капсулу Боумена-Шумлянського, що свідчило про під гострий перебіг запального процесу. В ділянці некрозу (інфаркту) більшість клітин ниркових каналців не мали структури і проглядалися у вигляді тіней з окремими поодинокими та частково зруйнованими ядрами. Такі ділянки займали третину нирок. В нирках лише частина кіркової речовини мала частково збережену структуру. В окремих звивистих

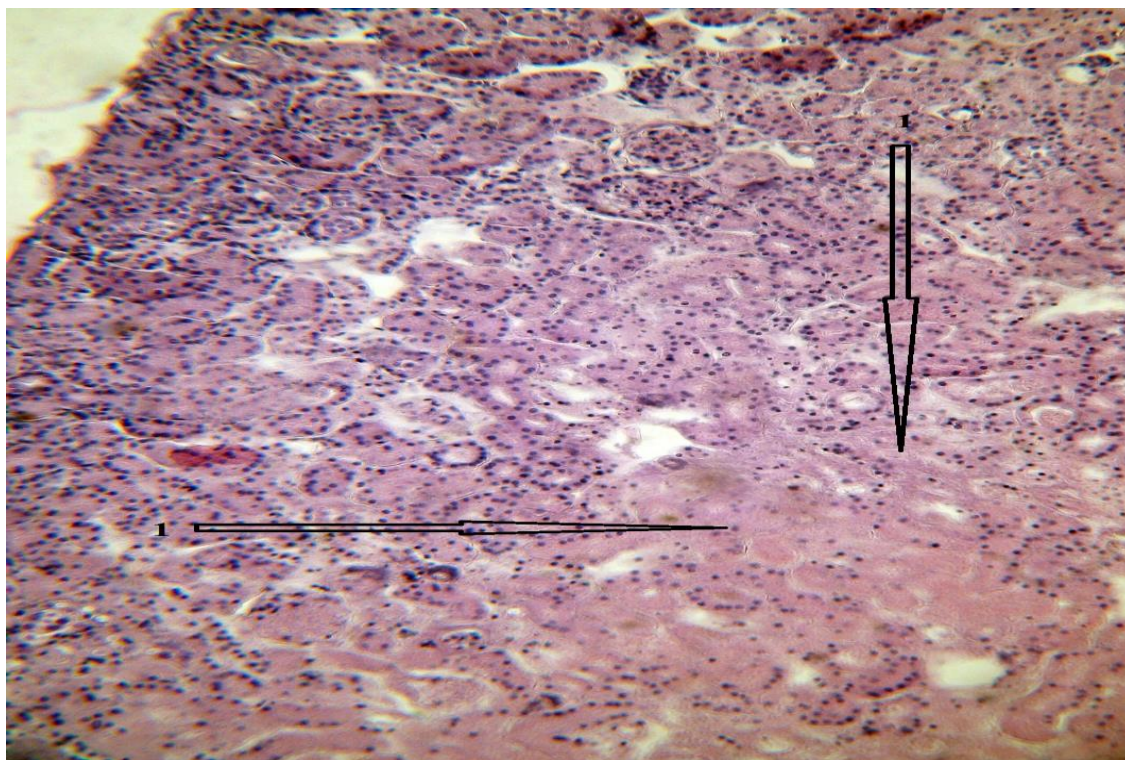


Рис. 3.3.6 Мікропрепарат нирок лабораторних мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – коагуляційний некроз нирок зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

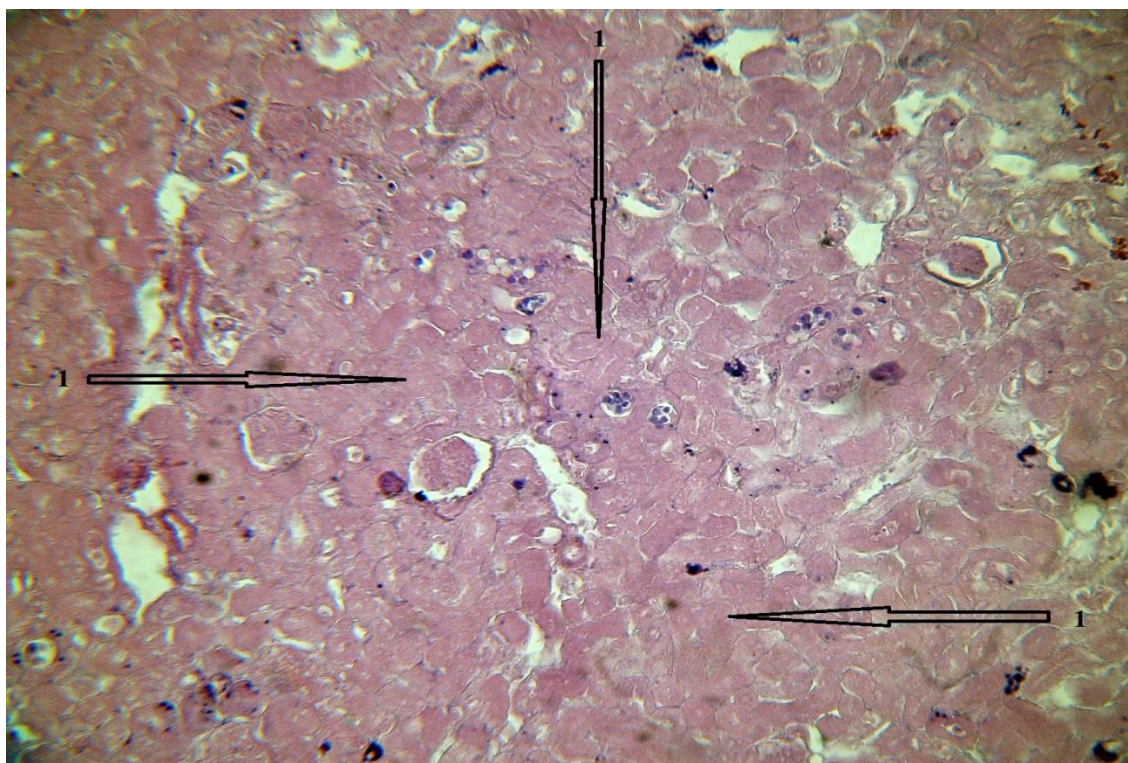


Рис. 3.3.7 Мікропрепарат нирок лабораторних мишей за дезоксиніваленолтоксикозу. 1 – некроз більшої частини нирок зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

каналлях на фоні мутного набухання відбувалося досить суттєве збільшення об'єму ядер, їх розрихлення та каріолізис. У 70–75 % структура нирок проглядалась у вигляді тіней і перебувала в стані анемічного інфаркту (рис. 3.3.6). В деяких ділянках мікропрепаратів спостерігали некроз нирок (рис. 3.3.7).

### 3.3.2. Токсичність дезоксиніваленолу для курчат породи Адлер сріблястий та його детоксикація

Щотижневими зважуваннями було встановлено, що дезоксиніваленол негативно впливав на розвиток курчат і спричинював зменшення маси тіла у птахів порівняно з групою контролю (табл. 3.2.10).

Таблиця 3.2.10

#### Маса курчат породи Адлер сріблястий за дезоксиніваленолотоксикозу, г ( $M \pm m$ ; $n=30$ )

Дослідні групи	Маса курчат, г						
	Тижні дослідю						
	Початок дослідю	Перший тиждень	Тижневий приріст	Другий тиждень	Тижневий приріст	Третій тиждень	Тижневий приріст
Дослідна 1 (токсин)	300± 3,68	361± 8,24	61± 7,42	523± 8,31	162± 12,11	634± 11,82*	111± 12,04
Дослідна 2 (токсин + Мікосорб)	311± 3,74	375± 9,03	64± 7,34	502± 8,68	127± 12,88	756± 12,37*	254± 11,38
Контроль	316± 3,65	382± 8,72	66± 7,51	555± 8,73	173± 13,15	751± 11,71	196± 11,54

Примітка: \* –  $p \leq 0,05$

Лужна фосфатаза – фосфогідролаза моноєфірів ортофосфорної кислоти, металофермент, до складу активного центру якого входить атом цинку [134], активує розщеплення фосфоро-органічних сполук.

ЛФ складається із різних ізоферментів, які локалізуються переважно в епітелії жовчовивідних шляхів, плазматичних мембранах гепатоцитів і нейронів, остеобластах кісткової тканини, клітинах кишечника, плаценти, нирок [151, 131].

Загальна активність лужної фосфатази в сироватці крові курчат, яким вводили дезоксиніваленол, не відрізнялась від контролю протягом дослідження, тоді як активність її кісткового ізоферменту була вищою лише в перший тиждень дослідження, а в подальшому знаходилась на рівні контролю (табл. 3.2.11)

Таблиця 3.2.11

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

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

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

Що стосується кишкового ізоферменту лужної фосфатази, то його активність вірогідно збільшувалась у сироватці крові курчат лише на третій тиждень дослідження, яким застосовували дезоксиніваленол, порівняно з

Таблиця 3.2.12

**Вміст макроелементів у сироватці крові курчат**  
**під впливом ДОНу Ммоль/л, М±m, n=30**

Показник	Групи курчат	Тижні досліду		
		1	2	3
Загальний кальцій	Т	2,35±0,18	2,52±0,02	2,57±0,1
	Т+М	2,61±0,06	1,97±0,17	2,55±0,12
	К	2,37±0,16	2,5±0,006	2,48±0,07
Іонізований кальцій	Т	0,99±0,24	0,88±0,21	0,93±0,02
	Т+М	1,14±0,06	0,96±0,17	1,04±0,03
	К	0,82±0,07	0,96±0,05	0,95±0,14
Загальний магній	Т	0,75±0,09	0,68±0,04	0,81±0,07
	Т+М	0,71±0,02	1,44±0,08	0,9±0,003
	К	0,84±0,03	0,83±0,01	0,84±0,12
Неорганічний фосфор	Т	1,71±0,09	1,33±0,12	1,68±0,14
	Т+М	1,55±0,08	2,09±0,24	1,81±0,13
	К	1,96±0,4	1,08±0,04	1,71±0,18

контролем. Активність кислої фосфатази не змінювалась у сироватці крові курчат як під впливом дезоксиніваленолу, так і під впливом його застосування одночасно з Мікосорбом. Це свідчить певною мірою про дещо меншу вираженість токсичного ефекту дезоксиніваленолу за використання Мікосорбу курчатам.

Вміст іонізованого кальцію у птиці другої дослідної групи (отримували мікосорб) на 7 добу експерименту складав 1,14±0,06 ммоль/л, що було на 28,0 % більше ( $p < 0,05$ ) за відповідне значення у курей контрольної групи (0,82±0,07 ммоль/л). Однак, на 14 добу досліджень рівень іонізованого кальцію мав тенденцію до зменшення (0,96±0,17 ммоль/л) і не мав вірогідної різниці з показниками птиці інших груп. Відносне значення іонізованого кальцію у сироватці крові птиці другої



дослідної групи становило 48,7 %, тоді як у першій дослідній та контролі – 35,0 та 38,4 %. Тобто, у птахів до складу раціону яких було введено Мікосорб, обмін кальцію за визначенням його іонізованої форми мав більш виражену тенденцію до відновлення. Іонізований кальцій вважається фізіологічно активною формою. Однак дослідження проведені на курях-несучках породи Мориньї довели, що залежно від віку та фізіологічного стану перерозподіл фракційного складу кальцію зазнає значних змін, особливо його комплекси, які зв'язані з карбонатами, цитратами, фосфатами та сульфатами [152]. Можна припустити, що відносне збільшення рівня іонізованого кальцію у птиці другої дослідної групи є наслідком позитивного впливу мікосорбу на вміст іонообмінного кальцію на поверхні кристалів гідроксиапатиту [151].

Найбільш показовими були зміни вмісту загального магнію. У сироватці крові птиці другої групи першого тижня досліджень його концентрація була на 18,3 % меншою ( $0,71 \pm 0,02$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ) порівняно з показником групи контролю –  $0,84 \pm 0,03$  ммоль/л. Проте на 14 добу експерименту його рівень збільшувався більш ніж у 2 рази і становив  $1,44 \pm 0,08$  ммоль/л. Це значення було на 52,7 та на 42,3 % більшим за показник у птахів першої дослідної та контрольної груп. Позитивний вплив мікосорбу пояснюється відновленням вмісту магнію в сироватці крові птиці другої дослідної групи. Однак, на третій тиждень експерименту вірогідної різниці між даним показником ми не спостерігали. Ефективність дії мікосорбу на обмін макроелементів в організмі курей підтверджується змінами концентрації неорганічного фосфору: у птиці другої дослідної групи його вміст був найбільшим –  $2,09 \pm 0,24$  ммоль/л (+ 36,3%;  $p < 0,05$ ), порівняно з показником першої дослідної групи. Складно пояснити більший його рівень в сироватці крові птиці, яка отримувала токсин, порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив ДОНу на обмін макроелементів в організмі птахів проявляється зміною метаболізму загального магнію. Його значення в життєдіяльності проявляється в тому, що він є універсальним регулятором біохімічних і фізіологічних процесів в організмі, беручи участь у різноманітних метаболічних процесах. Як кофактор багатьох ферментів магній має відношення більш як до 300 хімічних реакцій. Магній, вступаючи в оборотні зв'язки з багатьма органічними речовинами, забезпечує можливість метаболізму креатинінкінази, аденілатциклази, фосфофруктокінази, К/Na-АТФази, Са-АТФази, ферментів білкового синтезу, гліколізу, трансмембранного транспорту іонів тощо.

Стверджувати про високу діагностичну інформативність визначення вмісту магнію в крові птиці на фоні прийому корму, враженого ДОН можна лише провівши низку додаткових експериментів з визначенням дози, яка призводить до порушення його обміну в організмі курей. У ході досліджень позитивним виявилась дія міксорбу на ремоделінг кісткової тканини, на що вказує більша, порівняно з першою дослідною та контрольною групами, активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази, рівень іонізованого кальцію та вміст неорганічного фосфору.

Отримані результати показали, що дезоксиніваленол негативно впливав на формування імунітету у курчат проти хвороби Ньюкасла. Так, середні титри дослідної групи становили  $2,2 \pm 0,05$ , в той час як у контрольної птиці вони були на рівні  $2,7 \pm 0,12$  і вище. Також було визначено середнє геометричне для обох груп птахів (G). У контрольній групі воно становило 512 тоді як у дослідній лише 157,6, що статистично вказує на вірогідність дослідження. Отже, це свідчить про те, що дезоксиніваленол негативно впливає на формування поствакцинального імунітету у птахів у разі щеплення їх проти Ньюкаслської хвороби (табл. 3.2.13).

Таблиця 3.2.13

**Титри антитіл у сироватці крові курчат породи Адлер сріблястий до Ньюкаслської хвороби за дезоксиніваленолотоксикозу**

Титри антитіл до Ньюкаслської хвороби					
Піддослідна група					
Статистична величина	дослідна, n=10		контрольна, n=10		
	Титри антитіл	Log10	Титри антитіл	Log10	
		1:128	2,1	1:512	2,7
		1:128	2,1	1:1024	3,0
		1:128	2,1	1:128	2,1
		1:256	2,4	1:256	2,4
		1:256	2,4	1:1024	3,0
		1:128	2,1	1:256	2,4
		1:256	2,4	1:512	2,7
		1:128	2,1	1:512	2,7
		1:128	2,1	1:2048	3,3
		1:128	2,1	1:512	2,7
	M±m	-	2,2±0,05	-	2,7±0,12
P<	-	0,01	-		

Після забою курчат у їх нирках були виявлені патологічні зміни у вигляді численних діapedезних крововиливів в судинах, більша частина епітеліоцитів була відділена від базальної мембрани і перебувала в стані білкової зернистої дистрофії, звивисті каналці були зруйновані або заповнені еозинофільною масою (рис. 3.3.8). Їх цитоплазма була набухла і просвітлена.

У кардіоміоцитах курчат м'язові волокна були відносно потовщені, цитоплазма кардіоміоцитів просвітлена, ядра набували неправильної округлої форми, були слабо базофільні, що вказувало на розвиток білкової зернистої дистрофії (рис. 3.3.9).

В печінці курчат за дезоксиніваленолотоксикозу цитоплазма гепатоцитів була просвітлена, містила базофільне просвітлене з низьким вмістом хроматину ядро (рис. 3.3.10). Клітини перебували в стані білкової зернистої дистрофії, яка переходила у жирову. Вище описані зміни

спостерігались в печінці курчат які отримували мікотоксин, але у птахів, що отримувала сорбент, описані зміни були не так гостро виражені.

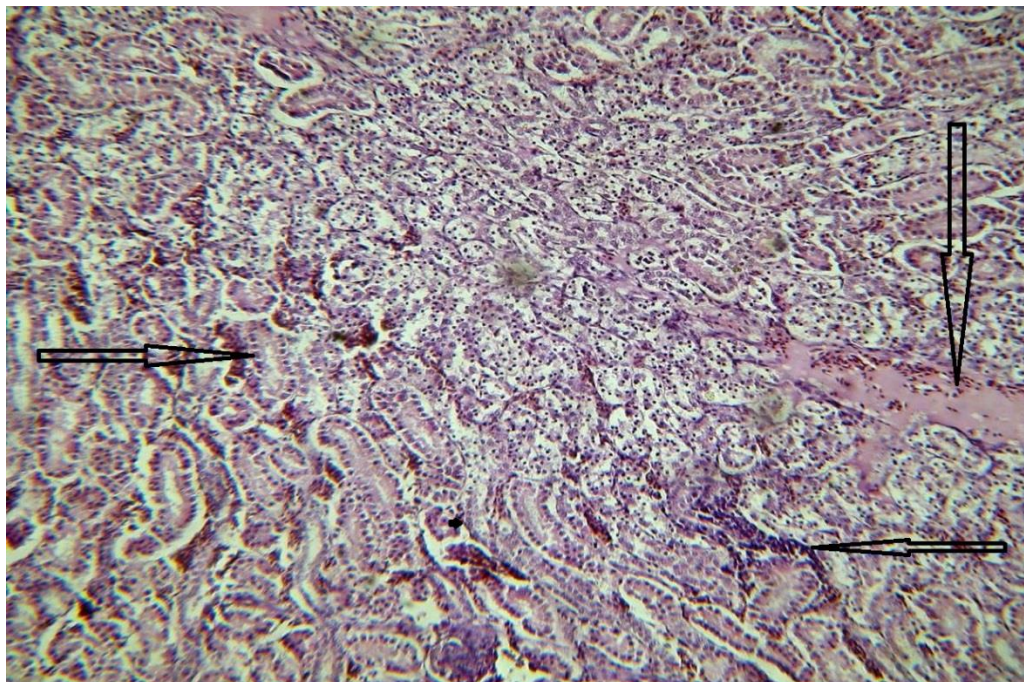


Рис. 3.3.8 Мікропрепарат нирок курчат породи Адлер сріблястий за дезоксиніваленолотоксикозу. 1 – білкова зерниста дистрофія зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

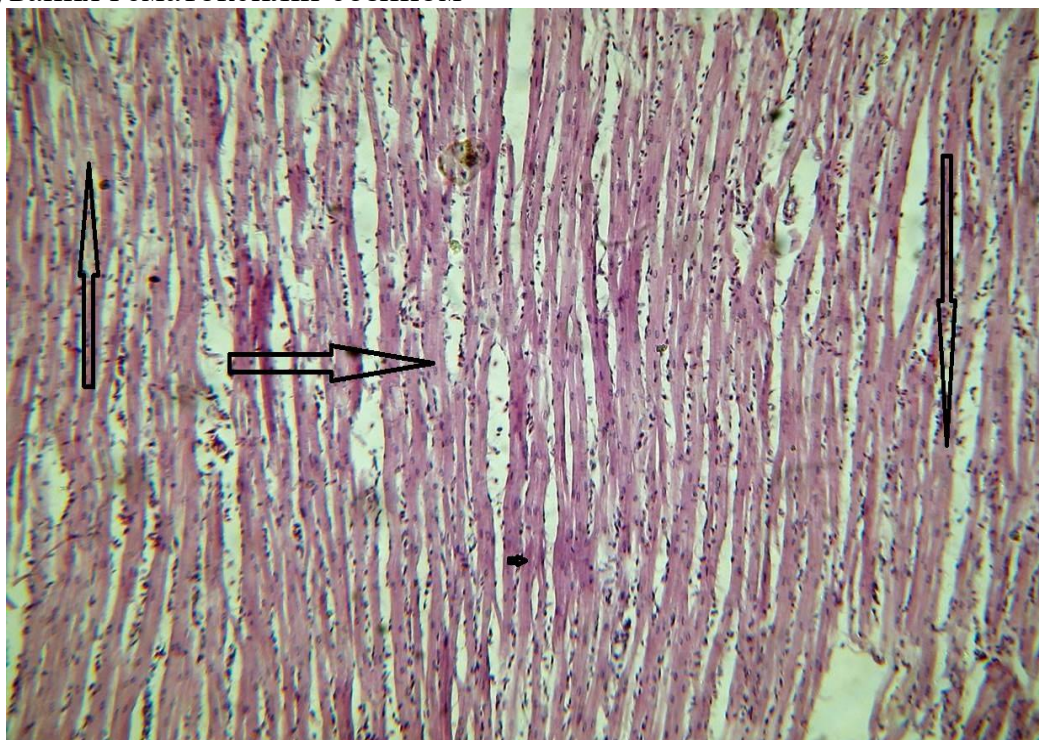


Рис. 3.3.9 Мікропрепарат серця курчат породи Адлер сріблястий за дезоксиніваленолотоксикозу. 1 – білкова зерниста дистрофія міокарду у курчат зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

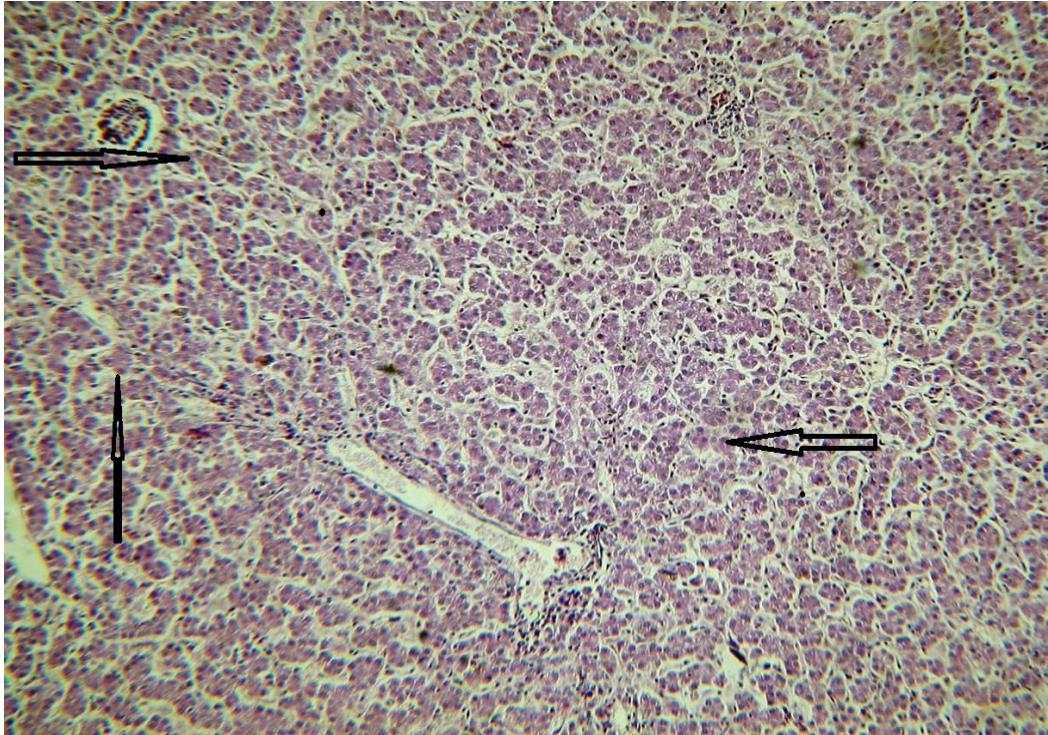


Рис. 3.3.10 Мікропрепарат печінки курчат породи Адлер сріблястий за дезоксиніваленотоксикозу. 1 – білкова зерниста дистрофія з переходом у жирову зб. (10x20), фарбування гематоксилін еозином

Аналізуючи результати досліджень, можна зробити висновок, що Мікосорб у кількості 2 % від маси корму позитивно впливає на організм курчат, що проявляється у вигляді збільшення приростів маси тіла, згладження патологічних змін внутрішніх органів, викликаних дією дезоксиніваленолу.

Матеріали цього розділу опубліковано [170, 163, 168].

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Мікроскопічні гриби дуже поширені в зовнішньому середовищі і налічують більше 100 тис. видів. Розвиваючись, вони спричиняють контамінацію зерна, що призводить до зниження його якості, а токсичні види – до утворення та накопичення у ньому мікотоксинів. Внаслідок чого знижується його поживна цінність аж до повної непридатності до згодовування тваринам та подальшої переробки. В більшості країн світу систематично проводяться мікологічний та мікотоксикологічний аналіз зерна пшениці та його похідних і продуктів його переробки. У нашій державі подібні дослідження не мали системного характеру, що унеможливило встановлення повного спектру мікроскопічних грибів, які поширені на зерні пшениці, та з'ясування потенційного токсигенного впливу мікобіоти.

Останнім часом науковці кафедри мікробіології та вірусології Білоцерківського НАУ провели вивчення мікобіоти зерна кукурудзи [128], зерна ячменю [121] та зерна вівса [127]. Вони визначили мікобіоту зерна кукурудзи, ячменю та вівса, розробили експрес-методи із визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 та T-2 токсини, вивчили токсичність охратоксину А для перепелів та фумонізину В<sub>1</sub> для курчат. Що стосується зерна пшениці, то таких системних досліджень в літературі майже немає.

Системно не досліджувалось поширення мікроміцетів зерна пшениці у різних фізико-географічних регіонах України, також поширення грибів на різних сортах цього злаку.

Мікологічне дослідження зерна показало, що існує різниця між контамінацією зерна пшениці урожаїв 2006 та 2007 рр. Останній відрізнявся як по роках, так і залежно від регіону вирощування зерна. Так,

у 2006 році найбільше грибів було виявлено в зерні пшениці з Полісся, найменше – в зерні з зони Степу. У 2007 році, навпаки, більше мікроміцетів виявляли в зерні зони Степу, а найменше – в зерні з зони Полісся. Останнє пояснюється передусім умовами навколишнього середовища. У 2007 році середня добова температура у червні була вищою порівняно із 2006 роком на 1,5–2 °С, а опади випадали частіше.

Проведеними мікологічними дослідженнями встановлено кількісний та якісний склад мікобіоти зерна пшениці врожаїв 2006 та 2007 рр., відібраного в різних регіонах і областях Степу, Лісостепу та Поліссі. В результаті проведених досліджень на поверхні зерна (екзогенна мікобіота) було виділено 21 різновид мікроміцетів, які належали до 9 родів. За два роки досліджень нами виділені та ідентифіковані гриби родів (*Mucor*, *Absidia*, *Monascus*, *Phoma*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichothecium*, *Mycelia*, *Rhizopus*, *Talaromices* та *Fusarium*). Здебільшого виділялися *A. alternata* (90 % проб), представники родини *Mucorales* (89 %), рідше роди *Aspergillus* (79 %), *Penicillium* (57 %) та *Fusarium* (37 %).

Результати отриманих нами досліджень щодо якісного складу мікроміцетів частково збігаються із даними науковців інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН [153]. За їх даними в зернових субстратах виділяли гриби родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Zygorhynchus*, *Cunninghamella*, *Mortierella*, *Absidia*, *Acremonium*, *Syncephalastrum*. Але вони вивчали мікобіоту, головним чином, концентрованих кормів в зоні Лісостепу України, і лише частково досліджували контамінанти зерна пшениці. В цьому разі слід відмітити, що рівень контамінації матеріалу представниками грибів роду *Fusarium* значно виріс – від 8,05 % у 2000 році до 59,4 % у 2002 році. Подібна кореляція, на їх думку, пов'язана із зменшенням використання протруйників насіння та засобів захисту рослин. Подібні дослідження були проведені також і італійськими вченими

на посівах пшениці [15]. Вони показали, що обробка триазольними фунгіцидами, виконана в середині періоду квітування призводила до зменшення контамінації грибами, зниження концентрації ДОНу та збільшення врожайності злаку.

Серед фузаріїв нами були виділені гриби секції *Sporotrichiella*, види *F. moniliforme* та *F. oxysporum* секції *Elegans*, види *F. semitectum* та *F. culmorum*. Отримані нами дані частково також збігаються з дослідженнями мікобіоти злаків в азіатській частині Росії, де виділяли такі мікроміцети як *Fusarium avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. moniliforme*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sambucinum* та *F. heterosporum* [142].

Представлена мікобіота зерна пшениці в Болгарії дещо відрізнялась від наших даних і вона включала гриби родів *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Mucor* і *Rhizopus* [138].

Виявлені нами гриби родів були також виділені російськими вченими при дослідженні озимої пшениці в Ставропольському краї, серед яких переважали *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* і *Rhizopus* [165].

Кенійські та німецькі вчені виявляли в зерні пшениці врожаю 2004 року мікроміцети родів *Epicoccum* та *Alternaria* та види *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium equiseti* і *Fusarium avenaceum*. Більшість з них виділили і ми, за виключенням грибів *Fusarium equiseti* та *Epicoccum*.

Нами встановлено, що ендofітна мікобіота зерна пшениці різних регіонів України була представлена видами *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Phoma exiguа*, *Mucor sp.* Останні домінували у зерні із трьох фізико-географічних регіонів України, і здебільшого виділялись з зерна врожаю 2007 року. При цьому гриби роду *Penicillium sp.* виділяли лише із зерна зони Полісся. Окрім того, представниками ендofітної мікобіоти зерна



пшениці були *Talaromyces luteus*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. candidus*, *A. nidulans*, *Trichothecium roseum*, *Mycelia sterilia*, *F. sporotrichiella*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, та *F. sp.*

Результати наших досліджень частково збігаються з дослідженням зерна пшениці в Італії. Вессарі G. [11] вказує, що рід *Alternaria* був основним компонентом мікобіоти твердої пшениці у всіх дослідних регіонах. У центральній італійській провінції був виявлений найвищий рівень поширеності грибів цього роду та його вторинних метаболітів. Фузарії були другим найпоширенішим родом грибної мікрофлори у всіх регіонах вирощування, навіть якщо були виявлені регіональні відмінності у видовому складі.

Зокрема найвищі показники зараження зерна грибами роду *Fusarium* зазнали північні, за ними – центральний, а потім південні райони вирощування. Через найвищу забрудненість фузаріями, тверда пшениця, зібрана в Північному районі вирощування в Італії, містила найбільшу кількість вторинних метаболітів [57].

Подібні дослідження проводили і вчені з Саудівської Аравії, [39] вони дослідили 100 проб зерна пшениці, з якої виділили 50 видів грибів віднесених до 18 родів. Вони ізолювали 9 видів *Alternaria*, 9 видів *Cladosporium*, 5 видів *Drechslera*, 5 видів *Ulocladium*, 4 види *Aspergillus*, 3 види *Stemphylium*, 2 види *Scytalidium*, 2 види *Torula* і по 1 виду *Acremonium*, *Embellisia*, *Phoma*, *Penicillium*, *Mycovellosiella*, *Fusarium*, *Staphylotricum*, *Stachybotrys*, *Xylohypha* та *Mycelium sterilius*.

Схожі з нашими результатами дані досліджень пшеничних висівків вчених зі Словачії [103]. У 56 досліджених пробах зерна було виявлено спори грибів від  $1.82 \times 10^1$ – до  $3.42 \times 10^4$  КУО/г. Вченими виявлено на зерні пшениці 65 видів грибів, що належали до 23 родів. Домінуючим родом був *Penicillium spp.* (20 ізолятів), за яким слідував *Aspergillus spp.* (10 ізолятів) та *Cladosporium spp.* (3 ізоляти) вони виділялись у 100 %, 89

% та 72 % відповідно всіх проб. Виділені ізоляти грибів з зерна були потенційно токсиногенними щодо мікотоксинів, а саме цитриніну (23 ізоляти), циклопіазонової кислоти (43 ізоляти), гризеофульвіну (23 ізоляти), охратоксину А (14 ізолятів), патуліну (30 ізолятів), пенітрему А (18 ізолятів) та стеригматоцистину (7 ізолятів). Крім того, були виділені з зерна фумонізин В<sub>1</sub> та моніліформін продукуючі штами *Fusarium*.

Вчені з Пакистану, досліджуючи зерно пшениці, отримали подібні результати [47]. В районі Квета (Балошистан) виділяли від  $1,0 \times 10^3$  до  $1,8 \times 10^3$  КУО/г. зерна пшениці.

Подібні дослідження були проведені в регіоні Войводина у Сербії [55]. Вивчено мікобіоту пшениці звичайної (*Triticum aestivum*) та гібридної пшениці спельти (*Triticum aestivum ssp. Spelta*), врожаю 2015 року. Отримані результати показали, що із зерен пшениці звичайної було виділено більше грибів ніж із зерен спельти. Найчастіше із пшениці звичайної виділяли гриби роду *Alternaria* (41,7 %), *Fusarium* (15,2 %), тоді як зараження цією мікобіотою гібридної пшениці спельти становила відповідно 32,4 % та 10,4 %. *Aspergillus flavus* було виявлено у 40,0 % проб пшениці.

В результаті проведених досліджень нами вперше отримана інформація про якісний і кількісний склад мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в різних регіонах України. Проведена паралель між фізико-географічними, агрокліматичними умовами та формуванням комплексів мікроміцетів. Отримані мікологічні дані в поєднанні з результатами досліджень токсигенних властивостей мікроміцетів можуть бути використані для об'єктивної оцінки якості і безпечності зернової продукції, забезпечать доцільну розробку держстандартів, методичних вказівок, рекомендацій із виявлення тих мікотоксинів, продуценти яких переважно виявляються в зерні пшениці різних регіонів України. Подальше токсикологічне вивчення виділеної мікобіоти щодо наявності у

ній токсигенних ізолятів дозволить прогнозувати появу в зерні мікотоксинів, що важливо для попередження мікотоксикозів людей і тварин.

На першому етапі вивчення токсигенної здатності отриманих нами грибів роду *Fusarium* ми використовували метод агарових блоків. В результаті досліджень було виявлено, що із 39 мікроміцетів чотири були віднесені до ступеня токсичних, 13 виявилися слаботоксичними, а решта атоксичними. За подальшого їх дослідження було виявлено 12 продуцентів найнебезпечнішого трихотеценового мікотоксину групи А – Т-2 токсину, ще 16 ізолятів продукували неідентифіковані трихотеценові мікотоксини, а 3 з них одночасно продукували по декілька трихотеценів. Також серед них були виявлені 3 продуценти зеараленону, 1 – дезоксиніваленолу, та ще 3 синтезували фумонізін В<sub>1</sub>.

У штаті Північна Кароліна (США) із рослинних продуктів, були виділені продуценти зеараленону, дезоксиніваленолу та Т-2 токсину [83].

В кенійському зерні пшениці виявляли високий вміст ДОНу та Т-2 токсину і мінімальні рівні зеараленону та фумонізину В<sub>1</sub> [70].

Дослідження мікобіоти у Франції показали, що із 25 штамів грибів чотири синтезували ДОН та зераленон, 2 – гліотоксин, 1 – фумонізін В<sub>1</sub> [59].

Враховуючи широке поширення гриба *Aspergillus flavus* ми поставили за мету вивчити токсигенні властивості виділених штамів. Для цього ми вивчали здатність останніх продукувати афлатоксини, коєву, аспергілову та пеніцилову кислоти. Серед 22 досліджених штамів *Aspergillus flavus* 8 продукували коєву кислоту, 20 – аспергілову і лише один – пеніцилову кислоту. Нам не вдалось виявити серед цих ізолятів продуцентів афлатоксинів, що в котрий раз підтверджує гіпотезу, що на території України в природних умовах відсутні афлатоксигенні штами *Aspergillus flavus*.

Подібні дослідження були проведені радянськими дослідниками. Із 34 досліджених ними штамів *Aspergillus flavus-oryzae* 29 були продуцентами коєвої кислоти, а 4 штами синтезували афлатоксини [149].

Накопичення у зернових кормах дезоксиніваленолу створює ризик надходження в організм тварин і птахів, та негативного впливу на формування імунітету проти хвороби Ньюкасла. Так, ДОН в дозі 70 мг/кг маси тіла негативно впливає на імунну відповідь до збудника хвороби Ньюкасла у курчат, про це свідчить зниження титру антитіл у сироватці крові птахів.

Дезоксиніваленол знижує рівень імуноглобулінів в крові свиней та інгібує ріст лімфоцитів [42]. Французькі вчені [80] досліджували вплив ДОНу на формування імунної відповіді у свиней після вакцинації овальбуміном. В результаті ДОН негативно впливає на імунну відповідь. Словенські вчені [38] довели, що дезоксиніваленол знижував продуктивність, збільшував кількість пошкоджених ДНК лімфоцитів та знижував рівні загального антиоксидантного статусу у поросят.

Виявлено, що дезоксиніваленол порушує функції дендритних клітин як в дослідях *in vitro* так і *in vivo*, що може сприяти імуносупресивному впливу [14]. Спільні дослідження французьких, румунських та бразильських вчених показали негативний вплив ДОНу на шлунково-кишковий тракт свиней і людей [81]. Токсин зменшував електричний епітеліальний опір і в той же час збільшував прохідність кишкової палички через стінку кишечника.

В досліді на курчатах породи Адлер сріблястий нами доведено, що дезоксиніваленол негативно впливає на продуктивність, змінює активність ферментів та мікроелементів сироватки крові, а також викликає патологічні зміни печінки, серця та нирок. Застосування препарату Мікосорб знижує токсичну дію дезоксиніваленолу в організмі курчат.

Схожі з результатами отриманими нами були і у німецьких дослідників, які годували курей кормами із вмістом дезоксиніваленолу. При цьому кури, що отримували ДОН, мали меншу масу тіла порівняно із контролем, менше співвідношення м'язової маси до загальної маси тіла, підвищену конверсію корму, зниження інтенсивності яйцекладки, за збільшення маси печінки та зменшення маси шлунка [32].

Дослідженнями було встановлено, що під впливом дезоксиніваленолу відбулось зниження активності загальної ЛФ в сироватці крові курчат в перший тиждень досліду, що свідчило про під гостре ураження печінки, потім спостерігали підвищення активності загальної ЛФ за рахунок кишкового ізоферменту, що вказувало на патологічний процес у печінці, порушення проникності мембран клітин печінки та руйнування гепатоцитів, а також патологію кісткової тканини з високим ступенем її резорбції. В кінці досліду спостерігали зменшення активності загальної ЛФ в сироватці крові курчат обох дослідних груп. Як наслідок, відмічали заміну паренхіматозних клітин сполучною тканиною. За хронічного гепатиту та цирозу печінки у курчат за дезоксиніваленолтоксикозу встановлена тенденція до підвищення вмісту кишкового ізоферменту. Визначення окремих ізоферментів лужної фосфатази сироватки крові є показовим для діагностики захворювання у курчат.

Менший вміст іонізованого, нейтрального, білок зв'язаного кальцію та неорганічного фосфору в сироватці крові курчат, які отримували дезоксиніваленол протягом всього досліду, вказує на порушення фосфорно-кальцієвого та D-вітамінного обміну. В групі курчат, які отримували з токсином Мікосорб, показники мінерального обміну зазнавали меншого негативного впливу, що свідчить про антитоксичну дію мікосорбу.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше обґрунтовано санітарно-гігієнічну оцінку зерна пшениці з різних регіонів України на основі систематизованого дослідження мікобіоти зерна пшениці, вирощеного в зонах Степу, Лісостепу і Полісся, шляхом вивчення складу епіфітних та ендоефітних токсигенних мікроміцетів, зокрема, продуценти Т-2 токсину, зеараленону, фумонізину В<sub>1</sub>, дезоксиніваленолу, коєвої, аспергілової і пеніцилової кислот. Встановлено, що основним мікотоксином зерна пшениці, який представляє ризик для здоров'я тварин і людини, є дезоксиніваленол та його активні продуценти. Встановлено оптимальні температурно-вологісний режим, вид субстрату та тривалість продукції мікотоксинів грибами роду *Fusarium*. Виявлено імуносупресивну дію дезоксиніваленолу в організмі курчат породи Адлер сріблястий та проведено оцінку ефективності профілактичної детоксикації в організмі птиці з використанням Мікосорбу.

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

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

3. Із 39 досліджених штамів *Fusarium spp.* виявлено три штами-продуценти зеараленону та фумонізину В<sub>1</sub> та один – дезоксиніваленолу. З 22 досліджених штамів *Aspergillus flavus* 8 штамів є продуцентами коєвої

кислоти, 20 – аспергілової і один – пеніцилової кислоти. Серед штамів *Aspergillus flavus* продуцентів афлатоксинів не виявлено.

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

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

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

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

8. Згодовування курчатам породи Адлер сріблястий з профілактичною метою препарату Мікосорб в кількості 20 г/кг комбікорму за експериментального дезоксиніваленолотоксикозу знижує вираженість

змін активності тканинних ізоферментів лужної фосфатази у сироватці крові, дегенеративних змін серця, печінки та нирок на тлі збереження продуктивності птиці.



## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

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

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

4. Контроль контамінації зерна грибами роду *Fusarium* необхідно здійснювати згідно методу, наведеного в Методичних рекомендаціях «Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленол (ДОН)» Рухляда В.В., Островський Д.М. (Затверджено Науково-методичною радою Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, протокол № 1 від 25.12. 2014 р.).

5. Методичні вказівки по експресному визначенню здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 токсин (зеараленон) пропонується до застосування у лабораторіях ветеринарної медицини країни та у лабораторіях науково-дослідних установ. (Затверджені Науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України Рухляда В.В., Андрійчук А.В., Білан А.В. та ін., протокол № 1 від 23.12. 2010 р.).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Afzal M., Zahid S. Effects of addition of a mycotoxin detoxifier in poultry feed containing different levels of aflatoxins on the performance of broilers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2004. Vol. 17. №. 7. P. 990-994.
2. Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *Foods*. 2020. Vol. 9(137). P 1–48.
3. Fernando W. G. et all. Building on a foundation: advances in epidemiology, resistance breeding, and forecasting research for reducing the impact of *Fusarium* head blight in wheat and barley. *Can J Plant Pathol.* 2021. Vol. 43(4). P. 495-526.
4. Alm H. et all. The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenol on in vitro maturation of pig oocytes and in vitro culture of pig zygotes. *Toxicology in vitro*. 2002. Issue 6., Vol. 16. P. 643–648.
5. Amuzie C. J., Harkema J. R., Pestka J. J. Tissue distribution and proinflammatory cytokine induction by the trichothecene deoxynivalenol in the mouse: comparison of nasal vs. oral exposure. *Toxicology*. 2008. Issue 1., Vol. 248. P. 39–44.
6. Awad W. A. et all. The impact of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) on poultry. *International journal of poultry science*. 2008. Vol. 7(9). P. 827–842.
7. Bail M. L. et all. Simulation of consumer exposure to deoxynivalenol according to wheat crop management and grain segregation: case studies and methodological considerations. *Regulatory toxicology and pharmacology*. 2005. Issue 3., Vol. 42. P. 253–259.
8. Baka Z. A. M. Plant extract control of the fungi associated with different Egyptian wheat cultivars grains. *Journal of plant protection research*. 2014. Vol. 54. № 3. P. 231–237.

9. Bamberg J. R. et al. Biological and biochemical actions of trichothecene mycotoxins. *Progress in molecular and subcellular biology*. 1983. Vol. 8. P. 41–110.

10. Bankina B., Bimšteine G., Neusa-Luca I. What influences the composition of fungi in wheat grains? *Acta Agrobotanica*. 2017. Vol. 70(4). P. 1–8.

11. Beccari G. et al. Cultivation area affects the presence of fungal communities and secondary metabolites in Italian durum wheat grains. *Toxins*. 2020. Vol. 12. P. 1–32.

12. Bhalerao V. A., Chavan A. M. Antifungal activity of leaf extract against mycotoxin producing fungi. *International journal of research in pharmaceutical sciences*. 2020. Vol. 11., Issue. 2. P. 2650–2656.

13. Bhat R., Rai R. V., Karim A. A. Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2010. Vol. 9. P. 57–81.

14. Bimczok D. et al. The Fusarium toxin deoxynivalenol disrupts phenotype and function of monocyte-derived dendritic cells in vivo and in vitro. *Immunology*. 2007. Issue 8., Vol. 212. P. 655–666.

15. Blandino M., Minelli L., Reyneri A. Strategies for the chemical control of *Fusarium* head blight: effect on yield, allelopathic parameters and deoxynivalenol contamination in winter wheat grain. *Europ. J. Agronomy*. 2006. Issue. 3., Vol. 25. P. 193–201.

16. Bosly H. A., Kawanna M. A. Fungi species and red flour beetle in stored wheat flour under Jazan region conditions. *Toxicology and industrial health*. 2014. Vol. 30(4). P. 304–310.

17. Brandfass C., Karlovsky P. Simultaneous detection of *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* in plant material by duplex PCR with melting curve analysis. *BMC Microbiology* 2006, 6:4  
<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/6/4>

18. Buim M. R. et al. Immunohistochemistry of fumonisin in poultry using avidin–biotin–peroxidase system. *Nat. Toxins*. 1999. Issue. 6., Vol. 7. P 279-282.

19. Bullerman L. B., Bianchini A. Stability of mycotoxins during food processing. *International journal of food microbiology*. 2007. Issue 1–2., Vol. 119. P. 140–146.

20. Campagnoli A. et al. Use of the electronic nose as a screening tool for the recognition of durum wheat naturally contaminated by deoxynivalenol: a preliminary approach. *Sensors*. 2011. Vol. 11., Issue. 5. P. 4899–4916.

21. Buerstmayr M, Steiner B, Buerstmayr H. Breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat-progress and challenges. *Plant Breed*. 2020; Vol. 139(3): P. 1–26.

22. Campbell H. L. et al. Comparison of mycotoxin profiles among cereal samples from eastern Canada. *Canadian journal of botany*. 2002. Vol. 80. P. 526–532.

23. Can-xing D. et al. Testing of seed borne fungi in wheat crop gene bank of China. *Agricultural sciences in china*. 2007. Vol. 6(6). P. 682–687.

24. Chi M. S. et al. Acute toxicity of 12,13-epoxytrichothecenes in one-day-old broiler chicks. *Applied and environmental microbiology*. 1978. Vol. 35. № 4. P. 636–640.

25. Chiotta M. L. et al. Toxigenic fungal species and natural occurrence of mycotoxins in crops harvested in Argentina. *Revista Argentina de microbiología*. 2020. Issue 4. Vol. 52. P. 339–347.

26. Creppy E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol letters*. 2002. Vol. 127. P. 19–28.

27. Desjardins A. E., Proctor R. H. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International journal of food microbiology*. 2007. 119 (1–2). P. 47–50.

28. Doll S. Valenta H., Danicke S. Fusarium mycotoxins in conventionally and organically grown grain from Thuringia Germany. *Landbauforsch. volkenrode*. 2002. T. 2., Vol. 52. P. 91–96.

29. Domsch K. H., Gams W. N., Anderson T. H. Compendium of soil fungi. *Academic press. London Ltd*. 1980. Vol. 1. 839 p.

30. Dors G. C., de Almeida Pinto L. A., Badiale-Furlong E. Migration of mycotoxins into rice starchy endosperm during the parboiling process. *LWT – food science and technology*. 2009. Vol. 42. P. 433–437.

31. Drakopoulos D. et al. The agronomic and economic viability of innovative cropping systems to reduce *Fusarium* head blight and related mycotoxins in wheat. *Agricultural systems*. 2021. Vol. 192. 103198.

32. Ebrahim M. et al. Effect of increasing concentrations of deoxynivalenol (DON) in diet on health and performance of laying hens of different genetic background. *Europ.Poult.Sci*. 2014. Vol. 78. P. 1–16.

33. Eriksen G. S., Pettersson H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal feed science and technology*. 2004. Vol. 114. P. 205–239.

34. Ezekiel C. N. et al. Fungal diversity and mycotoxins in low moisture content ready-to-eat foods in Nigeria. *Frontiers in microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 1–17.

35. Ferrigo D., Raiola A., Causin R. *Fusarium* toxins in cereals: occurrence, legislation, factors promoting the appearance and their management. *Molecules*. 2016. Vol. 21, Issue 5. P 1–35.

36. Knutsen H. K. et al. Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. *EFSA J*. 2017; 15(9): e04718.

37. Fink-Gremmels J. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The veterinary journal*. 2008. Issue 1., Vol. 176. P. 84–92.

38. Frankic T., Salobir J., Rezar V. The effect of vitamin E supplementation on reduction of lymphocyte DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in weaned pigs. *Animal feed science and technology*. 2008. T. 141. P. 274–286.

39. Gashgari R. et al. Mycotoxigenic fungi contaminating wheat; toxicity of different *Alternaria compacta* strains. *Saudi journal of biological sciences*. 2019. Vol. 26. P. 210–215.

40. Girish C. K., Smith T. K. Impact of feed-borne mycotoxins on avian cell-mediated and humoral immune responses. *World mycotoxin journal*. 2008. Vol. 1(2). P. 105–121.

41. Godtfredsen W. O., Grove J. F., Tamm C. On the nomenclature of a new class of sesquiterpens. *Helv. Chim. Acta*. 1967. Vol. 50. – P. 1666–1668.

42. Goyarts T. et al. Effect of the fusarium toxin deoxynivalenol (DON) on IgA, IgM and IgG concentrations and proliferation of porcine blood lymphocytes. *Toxicology in vitro 2006*. Issue 6. Vol. 20. P. 858–867.

43. Greenhalgh R., Neish G. A., Miller J. D. Deoxynivalenol, acetyl deoxynivalenol, and zearalenone formation by canadian isolates of *Fusarium graminearum* on solid substrates. *Applied and environmental microbiology*. 1983. Issue 3., Vol. 46. P. 625–629.

44. Gromadzka K. et al. Mycotoxins and related *Fusarium* species in preharvest maize ear rot in Poland. *Plant soil environment*. 2016. Vol. 62. № 8. P. 348–354.

45. Hajieghrari B. Wheat crown and root rotting fungi in Moghan area, northwest of Iran. *African journal of biotechnology*. 2009. Vol. 8 (22), P. 6214–6219.

46. Hajihassani M., Hajihassani A., Khaghani S. Incidence and distribution of seed-borne fungi associated with wheat in Markazi province, Iran. *African journal of biotechnology*. 2012. Vol. 11(23). P. 6290–6295.

47. Hameed S. et al. Mycotoxicological evaluation of indigenous varieties of wheat from Quetta, Balochistan, Pakistan. *Pak-euro journal of medical and life sciences*. 2019. Vol. 2(4). P. 79–82.

48. Hope R. G. et al. Interactions between *Fusarium culmorum*, other contaminant fungi, environmental stress and fungicides, affect growth and deoxynivalenol productions in wheat grain. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtschaft. Berlin-Dahlem*. 2000. Vol. 377. P. 102–103.

49. Horugel K. und al. Auswirkungen von Verpilzung und Mycotoxinbehaftung der Futtermittel auf Leistung und Gesundheit bei Schweinen und Rindern. *Gesunde Pflanz*. 2003. № 5. Vol. 55. P. 151–157.

50. Islam S., Sarker N. I., Ali A. Effect of seed borne fungi on germinating wheat seed and their treatment with chemicals. *International journal of natural and social sciences*. 2015. Vol. 2. P. 28–32.

51. Iwaniuk P. et al. Multifactorial wheat response under *Fusarium culmorum*, herbicidal, fungicidal and biostimulator treatments on the biochemical and mycotoxins status of wheat. *Journal of the saudi society of agricultural sciences*. 2021. Issue 7., Vol. 20. P. 443–453.

52. Kabir A. et al. Screening of seed born mycoflora of wheat, rice, gram and mustard. *Biomedical & pharmacology journal*. 2011. Vol. 4(2). P. 275–279.

53. Kaneko J. J., Harvey J. W. Bruss M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. *Clinical enzymology*. London : Academic Press, 2008. 916 p.

54. Kochiieru Y. et al. The impact of harvesting time on *Fusarium* mycotoxins in spring wheat grain and their interaction with grain quality. *Agronomy*. 2021. Vol. 11., Issue. 4. P. 1–13.

55. Krulj J. A. et al. Mycobiota on common wheat (*triticum aestivum*) and spelt (*triticum aestivum* ssp. *spelta*) grains from the region of vojvodina in 2015. *Food and feed research*. 2016. Vol. 43 (1). P. 1–8.

56. Kumar V., Basu M. S., Rajendran T. P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop protection*. 2008. T. 27. P. 891–905.

57. Xue A. G. et al. Prevalence of *Fusarium* species causing head blight of spring wheat, barley and oat in Ontario during 2001–2017. *Can j plant pathol.* 2019. Vol. 41(3). P. 392–402.

58. Larran S. et al. The endophytic fungi from wheat (*Triticum aestivum* L.). *World journal of microbiology and biotechnology*. 2007. Vol. 23. P. 567–572.

59. Mesterházy Á. et al. The role of adapted and non-adapted resistance sources in breeding resistance of winter wheat to *Fusarium* head blight and deoxynivalenol contamination. *World Mycotoxin J.* 2018. Vol. 11(4). P. 1–20.

60. Le Bars J., Le Bars P. Fusariotoxicosis in France in relation to toxigenic potential of *Fusarium* populations. *Veterinary Pharmacology and Therapi.* 1997. Issue 1., Vol. 20. C. 252–293.

61. Levels of fungi and mycotoxins in samples of grain dust collected on farms in Eastern Poland. Kryszynska-Traczyk E. et al. *American academy of emergency medicine*. 2001. Vol. 2, №8. P. 269–274.

62. Levic J. T., Stankovic S. Z., Krnjaja V. S. *Fusarium* species: the occurrence and the importance in agriculture of Serbia. *Proc. Nat. Sci.* 2009. Vol. 116. P. 33–48.

63. Llorens A. et al. Influence of environmental factors on the biosynthesis of type B trichothecenes by isolates of *Fusarium* spp. from Spanish crops. *International journal of food microbiology*. 2004. Issue 1., Vol. 94 P. 43–54.

64. Ma Y. Y., Guo H. W. Mini-review of studies on the carcinogenicity of deoxynivalenol. *Environmental toxicology and pharmacology* 2008. Issue 1., Vol. 25. P. 1–9.



65. 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 chemistry*. 2002. Vol. 79. P. 315–318.

66. Mashinini K., Dutton M. F. The incidence of fungi and mycotoxins in south Africa wheat and wheat-based products. *J. Environ. Sci. Health*. 2006, Vol. 41(3). P. 285–296.

67. Morassi L. L. P. et al. Fungi in cake production chain: occurrence and evaluation of growth potential in different cake formulations during storage. *Food research international*. 2018. Vol. 106. P. 141–148.

68. Mule G et al. Clustering of trichothecene-producing *Fusarium* strains determined from 28s ribosomal DNA sequences. *Applied and environment microbiology*. 1997. Issue 5., Vol. 63. P. 1843–1846.

69. Müllenborn C. et al. Effect of fungicides on the complex of *Fusarium* species and saprophytic fungi colonizing wheat kernels. *European journal of plant pathology*. 2008. Vol. 120. P. 157–166.

70. Muthomi J. W. et al. The occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Kenyan wheat. *Crop Protection*. 2008. Vol. 27 P. 1215–1219.

71. Newbery F., Qi A., Fitt B. D. Modelling impacts of climate change on arable crop diseases: progress, challenges and applications. *Current opinion in plant biology*. 2016. Vol. 32. P. 101–109.

72. Karron E. et al. Application of widely used fungicides does not necessarily affect grain yield, and incidence of *Fusarium* spp. and mycotoxins DON, HT-2 and T-2 in spring barley in northern climates. *KVASNY PRUMYSL*. 2020. Vol. 66(1). P. 215–223.

73. Okorski A. et al. Prevalence of fusarium fungi and deoxynivalenol levels in winter wheat grain in different climatic regions of Poland. *Toxins*. 2022. Vol. 14, Issue 102. P. 1–18.

74. Parent-Massin D. Haematotoxicity of trichothecenes. *Toxicology letters*. 2004. T. 153. P. 75–81.
75. Pathak N., Zaidi R. K. Fungi associated with wheat seed discolouration and abnormalities in in-vitro study. *Agricultural sciences*. 2013. Vol. 4., № 9. P. 516–520.
76. Pathak N., Zaidi R. K. Studies on seed-borne fungi of wheat in seed health testing programme. *Archives of phytopathology and plant protection*. 2013. Vol. 46. P. 389–401.
77. Pathre S. V., Mirocha C. J. Analysis of deoxynivalenol from cultures of fusarium species. *Applied and environmental microbiology*. 1978. Issue 5., Vol. 35. P. 992–994.
78. Perczak A. et al. The efficiency of lactic acid bacteria against pathogenic fungi and mycotoxins. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2018. Vol. 69. P. 32–45.
79. Pestka J. J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal feed science and technology*. 2007. № 137. P. 283–298.
80. Pinton P. et al. Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the pig vaccinal immune responses. *Toxicology letters*. 2008. T. 177. P. 215–222.
81. Pinton P. et al. The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal barrier permeability and 2 reduces claudin expression. *Toxicology and applied pharmacology*. 2009. Issue 1., Vol. 237. P. 41–48.
82. Pohland A. E. et al. Overview of international mycotoxin and phycotoxin programs. *Alaken Inc.* 1998. P. 17–24.
83. Production of zearalenon, T-2 toxin and deoxynivalenol by *Fusarium* spp. isolated from plant materials grown in North Carolina. Richardson K. E. et al. *Mycopatologia*. 1985. T. 3, Vol. 90. P. 155–160.

84. Pronyk C., Cenkowski S., Abramson D. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food control*. 2006. Vol. 17. P. 789–796.

85. Rabie L. et al Moniliformin a mycotoxin from *Fusarium fusarioides*. *Agric. food chem.* 1978. Vol. 26. P. 375–379.

86. Rahman A. et al. Screening of wheat germplasm for seed associated fungi in geographical areas of Pakistan. *African journal of agricultural research*. 2018. Vol. 13(5). P. 258–271.

87. Ramirez M. L., Chulze S., Magan N. Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *International journal of food microbiology*. 2006. Issue 6., Vol. 106. P. 291–296.

88. Reid L. M. et al. Interaction of *Fusarium graminearum* and *F. moniliforme* in maize ears: disease progress, fungal biomass, and mycotoxin accumulation. *Phytopathology*. 1999. Issue 11., Vol. 89. P. 1028–1037.

89. Saleemi M. K. et al. Study of fungi and their toxigenic potential isolated from wheat and wheat bran. *Toxin reviews*. 2017. Issue 1., Vol. 36. P. 80–88.

90. Saleemia M. K. et al. Toxicopathological effects of feeding aflatoxins B1 in broilers and its amelioration with indigenous mycotoxin binder. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020. Vol. 187. P. 1–7.

91. Schaafsma A. W., Hooker D. C. Climatic models to predict occurrence of *Fusarium* toxins in wheat and maize. *International journal of food microbiology*. 2007. T. 119. P. 116–125.

92. Schiro G. et al. *Alternaria* and *Fusarium* fungi: differences in distribution and spore deposition in topographically heterogeneous wheat field. *Journal of fungi*. 2018. Vol. 4(63). P. 1–17.

93. Schmidt M. et al. Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria. *Journal of cereal science*. 2016. Vo. 69. P. 95–103.

94. Shude S. P, Yobo K. S., Mbili K. C. Progress in the management of *Fusarium* head blight of wheat: An overview. *South african journal of science*. 2020. Vol. 116, № 11–12. P. 1–7.
95. Snijders C. H. A. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicology letters*. 2004. T. 153. P. 37–46.
96. Sprando R. L. et all. The Effect of vomitoxin (Deoxnivalenol) on testicular morphology, testicular spermatid counts and epididymal sperm counts in IL-6KO [B6129-IL6 (TmlKopf) (IL-6 gene deficient)] and WT [B6129F2 (Wild Type to B6129-IL6 with an Intact IL-6 gene)] mice. *Food and chemical toxicology*. 1999. T. 37. P. 1073–1079.
97. Stanciu O. et all. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in wheat from Europe. *Food technology*. 2015. Vol. 19, Issue 1. P. 35–60.
98. Davari M. et all. Occurrence of deoxynivalenol producing isolates of *Fusarium graminearum* species complex associated with head blight of wheat in Moghan area. (2014). *Journal of Crop Protection*. Vol. 3(2). P. 113–123.
99. Swamy H. V. L. N. et all. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with fusarium mycotoxins on growth and immunological parameters of broiler chickens. *Poultry science*. 2004. Vol. 83. P. 533–543.
100. Szathmary C. I. et all. Identification of mycotoxins produced by species of fusarium and stachybotrys obtained from eastern europe. *Applied and environmental microbiology*. 1976. Issue 4., Vol. 32. P. 579–584.
101. Szkudelska K., Szkudelski T., Nogowski L. Short-time deoxynivalenol treatment induces metabolic disturbances in the rat. *Toxicology letters*. 2002. Vol. 136. P. 25–31.
102. Tanaka K. et all. Mycotoxins in rice. *International journal of food microbiology*. 2007. Issue 1–2., Vol. 119. P. 59–66.
103. Tančinová D., Labuda R. Fungi on wheat bran and their to xinogenity. *Ann agric environ med*. 2009. Vol. 16. P. 325–331.

104. Tiemann U. et al. The effect of feeding a diet naturally contaminated with deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) on the spleen and liver of sow and fetus from day 35 to 70 of gestation. *Toxicology letters*. 2008. Issue 3., Vol. 179. P. 113–117.

105. Tunalı B. et al. Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant disease*. 2008. Vol. 92. № 9. P. 1299–1306.

106. Turner P. C. et al. Urinary deoxynivalenol is correlated with cereal intake in individuals from the United Kingdom. *Environmental health perspectives*. 2008. Issue 1., Vol. 116. P. 21–25.

107. Vesonder R. F. et al. Production of vomitoxin on corn by *Fusarium graminearum* NRRL 5883 and *Fusarium roseum* NRRL 6101. *Applied and environmental microbiology*. 1982. Issue 4., Vol. 43. P. 967–970.

108. Vesonder R. F., Ciegler A., Jensen A. H. Isolation of the emetic principle from fusarium-infected corn. *Applied microbiology*. Dec. 1973. Issue 6., Vol. 26. P. 1008–1010.

109. Vesonder R. F., Ellis J. J., Rohwedder W. K. Elaboration of vomitoxin and zearalenone by *Fusarium* isolates and the biological activity of fusarium-produced toxins. *Applied and environmental microbiology*. 1981. Issue 6., Vol. 42. P. 1132–1134.

110. Vesonder R. V., Ciegler A., Rogers R. F. Survey of 1977 Crop year preharvest corn for vomitoxin. *Applied and environmental microbiology*. 1978. Issue 6., –Vol. 36. P. 885–888.

111. Vesonder R.V. et al. Co-identity of the refusal and emetic principle from fusarium-infected corn. *Applied and environmental microbiology*. 1976. Issue 2., Vol. 31. P. 280–285.

112. Viczko E. An in ovo toxicological assessment of individual and combined fusarium mycotoxins in the chicken embryo. A thesis submitted to the college of graduate and postdoctoral studies in fulfillment of the requirements

for the degree of master of science in the department of animal and poultry science university of Saskatchewan Saskatoon, Saskatchewan, Canada. 2018.

113. Visconti A. et al. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology letters*. 2004. Issue 1., Vol. 153. P. 181–189.

114. Wolf-Hall C. E. Mold and mycotoxin problems encountered during malting and brewing. *International journal of food microbiology*. 2007. Vol. 119, Issues. 1–2. P. 89-94.

115. Worku A. F. et al. Occurrence of mycotoxins in farm-stored wheat in Ethiopia. *African journal of food agriculture nutrition end development*. 2019. Vol. 19(4). P. 14829–14847.

116. Xu F. et al. Spatial distribution of root and crown rot fungi associated with winter wheat in the north china plain and its relationship with climate variables. *Frontiers in microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 1–14.

117. Yigezu Y. A. et al. Food losses and wastage along the wheat value chain in egypt and their implications on food and energy security, natural resources, and the environment. *Sustainability*. 2021. Vol. 13. P. 1–22.

118. Yoshizawa T., Morooka N. Biological modification of trichotecene mycotoxins: acetylation and deacetylation of deoxynivalenol by *Fusarium spp.* *Applied Microbiology*. 1975. Issue 1., Vol. 29. P. 54–58.

119. Young J. C. et al. Detoxification of deoxynivalenol with sodium bisulfite and evaluation of the effects when pure mycotoxin or contaminated corn was treated and given to pigs. *J. Agric. Food Chem.* 1987. T. 2. Vol. 35. P. 259–261.

120. Yuen Y. G., Schoneweis S. D. Strategies for managing *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *International Journal of Food Microbiology*. 2007. T. 119 P. 126–130.

121. Андрійчук А. В. Мікобіота зерна ячменю, біосинтез і біологічна дія охратоксину А: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03. Одеса, 2007. 19 с.
122. Леонтъев, Д. В., & Акулов, О. Ю. (2007). *Загальна мікологія*. Видавничка група "Основа".
123. Ашмарін І. П., Воробйов А. А. Статистичні методи у мікробіологічних дослідженнях. *Медгіз*. 1962. 180 с.
124. Билай В. И. Фузариин. Киев : Наука. 1977. 444 с.
125. Билай В. И., Коваль Э. З. Аспергилы. Киев : Наукова Думка. 1988. 204 с.
126. Билай В. И., Элланская И. А. Метод микрокультуры для получения типичного конидиеобразования у фузариев. *Микология и фитопатология*. 1975. Т. 9. № 1. С. 74–76.
127. Білан А. В. Мікроміцети зерна вівса, їх токсигенні властивості та вплив фумонізіну В<sub>1</sub> на курчат: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03. Одеса, 2009. 20 с.
128. Білик С. А. Мікобіота зерна кукурудзи та токсигенні властивості грибів родів *Fusarium Link* і *Aspergillus Micheli*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.03. Одеса, 2006. 19 с.
129. Брезвин О. Отчич В., Коцюмбас І. Контроль мікотоксинів у кормах і їх знешкодження. *Вісник Львівського університету*. 2013. Випуск 62. С. 242–249.
130. Бусенко О. Т. та ін. Технологія виробництва продукції тваринництва. Київ : Вища освіта. 2005. 496 с.
131. Валиниеце М. Ю., Бауман В. К., Калнциема В. Х. Действие витамина D<sub>3</sub> и его аналогов на активность щелочной фосфатазы в кишечном эпителии и сыворотке крови цыплят. Транспортные и обменные процессы в кишечнике животных. Рига : Зинатне, 1984. С. 157–168.

132. Васянович О. М., Руда М. Є., Янголь Ю. А. Ураження зернових кормів мікроскопічними пліснявими грибами на території України. *Ветеринарна біотехнологія*. 2016. № 29. С. 62–67.

133. Васянович О. М., Сапсай І. С., Янголь Ю. А. Моніторингові дослідження кормів на наявність в них грибної мікрофлори. *Ветеринарна біотехнологія*. 2015. № 27. С. 82–87.

134. Ветеринарна клінічна біохімія / Левченко В. І. та ін. ; за ред. Левченка В. І. і Галяса В. Л. Біла Церква, 2002. 400 с.

135. Ветеринарна токсикологія : веб-сайт. URL: <http://medbib.in.ua/veterinarnaya-toksikologiya.html> (дата звернення 18.09.2022)

136. Високос М. П. Практикум для лабораторно-практичних занять з гігієни тварин / М. П. Високос, М. В. Чорний, М. О. Захаренко. – Харків : Еспада, 2003. – 218 с.

137. Волощук Н. М. та ін. Контамінація та ушкодження мікроміцетами зерна та кормів. *Біоресурси і природокористування*. 2017. Том. 9. № 1–2. С. 14–18.

138. Вълчева А. Микологичен и микотоксикологичен статус на пшеница. Доказване на деоксиниваленол (ДОН) от групата на трихотеценовите микотоксини. *Животновъд. Науки*. 2000. – Т. 37, № 5–6. С. 93–96.

139. Гігієна тварин: Практикум / [М.В. Демчук, Й.В. Андрусишин, Є.С. Гаврілець та ін.]; під ред. М.В. Демчука. – К.: «Сільгоспосвіта», 1994. – 328 с.

140. Годівля сільськогосподарських тварин : підручник. / Ібатулін І. І. та ін. Вінниця : Нова Книга, 2007. 616 с.

141. Жданова Н. М. Моніторинг мікроміцетів при визначенні екологічного стану ґрунтів. Агроєкологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських земель. Київ. 2002. С. 146–152.



142. Черних, С. А., Лемішко, С. М., & Березань, І. С. (2021). Забруднення мікотоксинами продовольчого зерна: причини, наслідки, профілактика.

143. Іващенко В. Г., Шипилова Н. П., Левітин М. М. Видовий склад грибів роду *Fusarium* на злаках. *Мікологія і фітопатологія*. 2000. Т. 34, № 4. С. 54–58.

144. Камінська О. В. Токсигенні мікроміцети роду *Fusarium*, біологічне обґрунтування заходів обмеження накопичення їх вторинних метаболітів у пшениці озимій та кукурудзі в правобережному лісостепу України: дис. на здобуття наук. ступеня канд. сг. наук: 06.01.11. Київ, 2020. 145 с.

145. Клінічна лабораторна діагностика, навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. Залюбовська О. І., Зленко В. В., Авідзба Ю. Н., Литвиненко М. І., Нечвоглод Т. О., 2015. 105с.

146. Контамінація зерна кукурудзи фузаріотоксинами Т-2, F-2 та ДОН. Рухляда В. В., Андрійчук А. В., Розпутня О. А., Островський Д. М. *Ветеринарна медицина України*. 2010. № 8. С. 31–33.

147. Котик А. Н., Труфанова В. А. Обнаружение в пшенице нафтохинонового фузариотоксина – ауурофузарина. *Мікологія і фітопатологія*. 1998.Т. 32., № 6. С. 58–61.

148. Котик А., Труфанова В. Случаи микотоксикозов сельскохозяйственных птиц в Украине в 1974 – 1996 гг. *Птахівництво*. 1997. № 47. С. 92–100.

149. Львова Л. С. Влияние технологических приемов переработки пищевых продуктов на содержание в них микотоксинов. *Оценка загрязнения пищевых продуктов микотоксинами*. 1985. С. 186-206.

150. Львова Л. С. и др. Биосинтез микотоксинов грибами родов *Aspergillus* и *Penicillium*, выделенных из зерна. *Прикладная биохимия и микробиология*. 1978. В. 5. С. 735–741.

151. Мельник А. Ю. та ін. Активність лужної (кістковий, кишковий ізоферменти) та кислій фосфатаз у сироватці крові курей-несучок під час яйцекладки. *Наук. Вісник вет. Медицини: Зб. Наук. Праць. Біла Церква*, 2009. Вип. 62. С. 59–65.

152. Мельник А. Ю., Москаленко В. П. Фракційний склад кальцію в курей-несучок під час яйцекладки. *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту*. Вип. 56. Біла Церква. 2008. С. 112–118.

153. Балим, Ю. П., & Руда, М. Є. (2013). Мікотоксикологічний моніторинг кормів для тварин та експериментальне обґрунтування розробки вітчизняного сорбуючого засобу. *Ветеринарна медицина*, (97), 413-418.

154. Іутинська, Г. О. (2006). Грунтова мікробіологія.

155. Мікотоксикологічний моніторинг концентрованих кормів лісостепу України / О. Малінін та ін. *Тваринництво України*. 2003. № 12. С. 26–28.

156. Дубініна, А. А., Ленерт, С. О., Летута, Т. М., Непочатих, Т. А., & Щербакова, І. С. (2019). Мікотоксини в рослинній сировині.

157. Кричковська, Л. В., Белінська, А. П., Анан'єва, В. В., Дубоносів, В. Л., & Овсяннікова, Т. О. (2017). Безпека харчових продуктів: антиаліментарні фактори, ксенобіотики, харчові добавки.

158. Ображей А. Ф. та ін. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці і поліпшенню якості кормів. *Київ*. 1998. 107 с.

159. Островський Д. М. Біосинтез дезоксиніваленолу грибом *Fusarium graminearum schwabe* штам 195/1 на різних зернових субстратах. *Збірник наукових праць*. 2009. Вип. 19. Част. 2. Том. 1. С. 129–132.

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

161. Островський Д. М., Андрійчук А. В., Зоценко В. М. Мікроміцети зерна пшениці в Україні. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. Вип. 1(140). С. 116–122.

162. Островський Д. М., Корнієнко Л. Є., Андрійчук А. В. Мікроміцети зерна пшениці в Україні. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 1(133). С. 157–162.

163. Островський Д. М., Мельник А. Ю., Утеченко М. В. Вивчення впливу дезоксиніваленолу на курчат породи Адлер сріблястий та профілактичної дії мікосорбу. *Науковий вісник ветеринарної медицини: збірник наукових праць*. 2014. Вип. 14 (114). С. 151–156.

164. Пидопличко Н. М. Пеницилли. Ключ для определения видов. Киев : Наукова Думка. 1972. 152 с.

165. Spread of toxin-producing fungi on winter wheat grain in the Stavropol region. Gavrilov A. A. et al. Proceedings of the International Forum on Problems of Science, Technology and Education. December 2–6 2002. Т. 1. Р. 132–133.

166. Рухляда В. В. Эффективность детоксикации Т-2 токсина в корме физико-химическими методами. 1993. *Ветеринария*. № 5. С. 47–50.

167. Рухляда В. В., Кулініч М. М., Тарануха С. І. Поширення мікроміцетів на зернових кормах та їх токсигенні властивості. *Ветеринарна медицина України*. 2001. № 6. С. 44–45.

168. Рухляда В. В., Островский Д. Н., Андрійчук А. В. Микромицеты зерна пшеницы разных почвенно-климатических регионов Украины и токсичность *Fusarium spp.* *Труды ВИЭВ*. 2009. т. 75, С. 555-557.

169. Рухляда В. В., Островський Д. М., Курченко І. М. Епіфітна і ендофітна мікобіота зерна пшениці в Україні. *Науковий вісник ветеринарної медицини: збірник наукових праць*. 2009. Вип. 62. С. 78–80.

170. Рухляда В. В., Утеченко М. В., Островський Д. М. Вплив дезоксиніваленолу на білих мишей. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2009. Вип. 6(25). С. 116–119.

171. Рухляда В. В., Элланская И. А., Шайда Д. А. Виды *Fusarium* Lk. ex Fr. на кормах и их токсикологическая характеристика *Микробиологический журнал*. 1981. Т. 43, № 4. С. 468–474.

172. Sutton, D. Fothergill, A. and Rinaldi, M. (2001) The Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. M: The World, 468.

173. Спосіб експресного визначення здатності грибів *Fusarium spp.* продукувати зеараленон Пат. UA, 12712C12N 5/00 B23H3/00. № 200508728; заявл. 13.09.2005; опубл. 15.02.2006, Бюл. № 2.

174. Спосіб експресного визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати Т-2 токсин: пат. UA, 4794 C12N1/00 № 20040402869; заявл. 20.04.2004; опубл. 15.02.2005, Бюл. № 2.

175. Технологія виробництва продукції тваринництва. Бусенко О. Т. та ін.; за ред. О. Т. Бусенка. Київ.: Вища освіта, 2005. 496 с.

176. Ткачук В. І. Вплив якості корму на баланс азоту у порісних свиноматок. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2018. В. 2 (34). С. 228–233.

177. Токсигенні властивості мікроміцетів зерна пшениці та ячменю. Андрійчук А. В., Білан А. В., Сидорчук П. І., Островський Д. М. *Вісник аграрної науки*. 2011. № 9. С. 22–24.

178. Труфанова В. А. Частота контамінації мікотоксинами кормів для птиці. *Ветеринарна медицина України*. 2004. № 9. С. 26–28.

179. Тутельян В. А., Кравченко Л. В. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты). Москва. Медицина. 1985. – 319 с.

180. Харченко С. М., Башта О. В. Методичні рекомендації прискороного визначення токсигенних грибів та мікотоксинів в кормах. Київ: 2003. 11 с.

181. Харченко С. Н. Справочник по микозам и микотоксикозам сельскохозяйственных животных. Київ : Урожай, 1982. 162 с.

182. Харченко С. Н., Литвин В. П. Микологическое исследование разных видов кормов в хозяйстве промышленного типа Киевской области. *Микробиологический журнал*. 1997. Т. 4, № 2. С. 139–144.

## ДОДАТКИ

## ДОДАТОК А

**Таблиця 2.4. Параметри мікроклімату у птахівничому приміщенні при вирощуванні курчат породи Адлер Сріблястий в літній період,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Показник	Вік птиці, тиждень			
	5	6	7	8
Температура повітря в приміщенні, ВНТП-АПК-04.05, t °С.	20-25	20-25	20-25	20-25
Фактична температура повітря в приміщенні, °С.	23,8±0,67	24,11±0,46	23,9±0,77	22,5±0,53
Відносна вологість, ВНТП-АПК-04.05, %.	60-70	60-70	60 -70	60-70
Фактична відносна вологість повітря, %.	67,4±1,27	65,2±0,92	66,5±0,61	68,4±0,87
Норматив овітлення на рівні годівниць, ВНТП-АПК-04.05, лк.	5-10	5-10	5-10	5-10
Фактичне овітлення на рівні годівниць, лк.	7,4±1,27	8,1±0,67	8,6±0,27	9,3±0,57
Вміст NH <sub>3</sub> згідно з ВНТП-АПК-04.05, мг/м <sup>3</sup>	15	15	15	15
Фактичний вміст NH <sub>3</sub> мг/м <sup>3</sup>	12,1±0,04	13,4±0,03	13,8±0,05	14,1±0,06
Вміст CO <sub>2</sub> згідно з ВНТП-АПК-04.05, л/м <sup>3</sup>	2,5	2,5	2,5	2,5
Фактичний вміст CO <sub>2</sub> л/м <sup>3</sup>	1,6±0,01	1,7±0,01	1,9±0,02	2,1±0,02
Бактеріальна забрудненість згідно з ВНТП-АПК-04.05, тис. мікроб. тіл в 1м <sup>3</sup>	220	220	220	220
Фактична бактеріальна забрудненість тис. мікроб.тіл в 1м <sup>3</sup>	111,7±4,81	122,9±5,32	132,5±6,12	136,4±6,34

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ  
ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ЕКСПРЕС-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ  
ЗДАТНОСТІ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM*  
ПРОДУКУВАТИ ЗЕАРАЛЕНОН  
(F-2 ТОКСИН)**

(методичні рекомендації для лабораторій  
ветеринарної медицини України)

Біла Церква  
2011



УДК 639:615.918:633.15:582.28

Резюме і затверджено  
науково-методичною радою  
Державного комітету  
ветеринарної медицини України  
(Протокол № 1 від 23.12.2010 р.)

Укладачі: **В.В. Рухляда**, д-р вет. наук;  
**А.В. Андрійчук, А.В. Білан, Ю.М. Новожицька,**  
**С.А. Білик**, кандидати вет. наук;  
**Д.М. Острівський**, асистент; **О.А. Розпуття**, аспірантка

Експрес-метод визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати зезараленін F-2 токсин (методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України) / В.В. Рухляда, А.В. Андрійчук, А.В. Білан, Ю.М. Новожицька та ін. - Біла Церква, 2011. - 14 с.

У рекомендаціях подано відомості про експресний метод визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати зезараленін (F-2 токсин) та правила його застосування у практичній діяльності лабораторій.

Рецензенти: **Б.М. Ярчук**, професор, завідувач кафедри інфекційних хвороб ШН БНАУ;  
**В.М. Івченко**, д-р вет. наук, професор, завідувач кафедри лабораторної діагностики Інституту післядипломного навчання працівників і спеціалістів ветеринарної медицини БНАУ;  
**А.О. Межелський**, канд. вет. наук, заступник директора ДНДЛДВСЕ.

© БНАУ, 2011

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ВИЗНАЧЕННЯ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM*  
У ЗЕРНІ ПШЕНИЦІ ТА ЇХ ЗДАТНОСТІ  
ПРОДУКУВАТИ ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛ (ДОН)**

(методичні рекомендації для лабораторій  
ветеринарної медицини України)

Біла Церква  
2015

УДК 639:615.918:633.15:582.28

Розглянуто і затверджено  
Науково-методичною радою  
Державної ветеринарної  
та фітосанітарної служби України  
(Протокол № 1 від 25 грудня 2014 р.)

Укладачі: **В.В. Рухляда**, д-р вет. наук;  
**Д.М. Островський**, асистент

**Рухляда В.В.** Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксиніваленон (ДОН) (методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України) / **В.В. Рухляда**, **Д.М. Островський**. – Біла Церква, 2015. – 8 с.

Описаний метод визначення наявності мікроскопічних грибів та дезоксиніваленону у зерні пшениці.

Рецензенти: **Б.М. Ярчук**, канд. вет. наук, професор кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин БНАУ;  
**В.В. Педосєков**, д-р вет. наук, професор, завідувач кафедри епізоотології та організації ветеринарної справи НУБІП України

© БНАУ, 2015

## ДОДАТОК Г

## А К Т

відбору зразків кормів для проведення досліджень

" 11 " січня 2007р.

ООО "Чубівське зерно" склад № 6, 2.  
(назва підприємства, місце відбору зразків, умови зберігання кормів)

Комісія у складі

Вердимський В. В. – завідувач лабораторії ХПД, лаборанта ХПД Гервояк С. В., аспіранта БДАУ Остrowsького Д. М.

У присутності

завідуючого складом Галочуш Т. М.

Номер зразка	Назва корму	Дата виготовлення	Вага зразка	Кількість упаковок	Маса (кількість) партії, з якої відібрано зразки (г)
1	Пшениця	2006	0,5	1	600

Зразки відібрані для визначення якості у районній державній лабораторії ветмедцини.

Підписи:



В. В. Вердимський  
С. В. Гервояк  
Д. М. Остrowsький  
Т. М. Галочуш

ДОДАТОК Д

А К Т

відбору зразків кормів для проведення досліджень

“ 10 ” сгтл 2007р.

ООО „Котовське зерно“ склад №1  
(назва підприємства, місце відбору зразків, умови зберігання кормів)

Комісія у складі завідуюча лабораторією Мітвінова О.В.  
(посада, прізвище, ім'я та по батькові)  
лаборанта А.М. Туманова, аспіранта  
БДАУ Острівського Д.М.

У присутності завідуючого складів Трушкіна В.С.  
(прізвище, ім'я, та по батькові)

Номер зразка	Назва корму	Дата виготовлення	Вага зразка	Кількість упаковок	Маса (кількість) партії, з якої відібрано зразки (г)
3	Пилитур	2006	0,3	1	2000

Зразки відібрані для визначення якості у районній державній лабораторії ветмедцинини.

Підписи:



Мітвінова О.В.  
Туманова А.М.  
Острівський Д.М.  
Трушкіна В.С.

## ДОДАТОК Е

## А К Т

відбору зразків кормів для проведення досліджень

« 11 » січня 2007р.

ООО "Чубівське зерно" склад № 6, 2.  
(назва підприємства, місце відбору зразків, умови зберігання кормів)

Комісія у складі

Вердимський В. В. – завідувач лабораторії ХПД, лаборанта ХПД Гервояк С. В.,  
аспіранта БДАУ Остrowsького Д. М.

У присутності

завідуючого складом Галочуш Т. М.

Номер зразка	Назва корму	Дата виготовлення	Вага зразка	Кількість упаковок	Маса (кількість) партії, з якої відібрано зразки (г)
1	Життя	2006	0,5	1	600

Зразки відібрані для визначення якості у районній державній лабораторії ветмедцини.

Підписи:



В. В. Вердимський  
С. В. Гервояк  
Д. М. Остrowsький  
Т. М. Галочуш

## ДОДАТОК Ж

“ПОГОДЖЕНО”  
 перший проректор БНАУ  
 проф. Новак В.І.  
 25.07 2018 р.



“ЗАТВЕРДЖЕНО”  
 директор ННДЦ БНАУ  
 доц. Кузьменко  
 24.07.18



## АКТ

## впровадження наукових досліджень

Якою науково-дослідною установою запропонована розробка для впровадження: Білоцерківський національний аграрний університет, кафедра мікробіології та вірусології.

**Найменування впровадженої розробки:** сорбент «Мікосорб» у кількості 2 %/кг корму.

**Автори наукової роботи:** доценти кафедри мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету Зоєнко В.М., Андрійчук А.В., асистент кафедри мікробіології та вірусології Островський Д.М.

**Підприємство де здійснюється впровадження:** ННДЦ БНАУ, Біла Церква, Київська область.

**Рік і обсяг впровадження:** результати досліджень впроваджено в господарстві в 2018 р., на поголів'ї 300 курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий.

**Вид запроваджуваних результатів:** впровадження результатів використання сорбенту «Мікосорб» за вирощування курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий.


**Новизна результатів досліджень:** застосовується відносно новий сорбент «Мікосорб» в кількості 2 % на 1 кг. шляхом додавання його у комбікорм, що містять мікотоксин дезоксиніваленол, при вирощуванні курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий.


**Практичні рекомендації:** Для зниження токсичного ефекту дезоксиніваленолу, слід додавати сорбент «Мікосорб» в кількості 2 %/кг комбікорму.


**Економічний ефект:** за вирощування 100 голів курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий із використання у комбікормі ураженого мікотоксином дезоксиніваленол сорбенту «Мікосорб» в кількості 2 %/кг комбікорму сприяє підвищенню продуктивності птахів на 5,43%.

1. За використання сорбенту «Мікосорб» підвищується збереженість курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий на 12 %.

2. Згодовування сорбенту «Мікосорб» в кількості 2 % від маси комбікорму курчатам м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий сприяє збільшенню валового приросту птиці на 9,69 кг., за період дослідю.

Доцент кафедри мікробіології та вірусології  В.М. Зоненко

Доцент кафедри мікробіології та вірусології  А.В. Андрійчук

Асистент кафедри мікробіології та вірусології  Д.М. Острівський



## ДОДАТОК 3

“ПОГОДЖЕНО”

перший проректор БНАУ

проф. Новак В.П.

20.06 2018 р.



“ЗАТВЕРДЖЕНО”

директор ННДЦ БНАУ

доп. Кузьменко П.І.



## АКТ

## виробничої перевірки закінчених науково-дослідних робіт

Ми, що нижче підписались, директор Навчально-наукового дослідницького центру Білоцерківського національного аграрного університету доцент Кузьменко П.І., доценти кафедри мікробіології та вірусології Зоценко В.М., Андрійчук А.В., асистент Островський Д.М., склали цей акт про те, що в період з 04.06. 2018 р., по 25.06. 2018 р. на пташнику ННДЦ БНАУ було проведено виробничу перевірку щодо використання сорбенту «Мікосорб» з метою зниження негативного впливу мікотоксину дезоксиніваленолу на організм курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий.

Для проведення виробничої перевірки птахів за принципом аналогів було розподілено на три групи по 100 голів у кожній. Курчат утримували на глибокій підстилці, кожна група в окремій секції. Птиці контрольної групи згодовували повноцінний раціон, що не містив токсинів, дослідній групі № 1 згодовували в складі комбікорму зерно пшениці що містило токсин дезоксиніваленол («Дослідна (Т)»). Дослідна група птиці № 2 «(М+Т)» (токсин + мікосорб) – отримувала повноцінний комбікорм з зерном пшениці що містило дезоксиніваленол, і Мікосорб в кількості 2 % до маси корму (табл. 1). За птахами вівся постійний догляд, щотижневе зважування і відбір крові для біохімічних досліджень.

Встановлено, що додавання в раціон сорбенту «Мікосорб» зменшувало негативний вплив дезоксиніваленолу на курчат дослідної групи, що підтверджувалось зниженням загибелі птиці на 12 %. Згодовування «Мікосорбу» в кількості 2 % до комбікорму сприяло збільшенню середньодобових приростів птиці за період виробничої перевірки на 5,43 %.

**Таблиця 1.** Економічна ефективність згодовування Мікосорбу курчатам Адлер Сріблястий ( $M \pm m$ ,  $n=100$ )

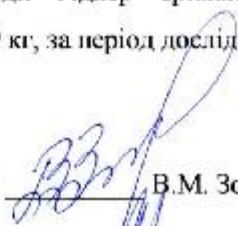
Показники	Групи птиці		
	Контроль	Дослідна № 1 (Т)	Дослідна № 2 (M+T)
Початкове поголів'я курчат, гол.	100	100	100
Поголів'я на кінець досліді, гол.	91	74	86
Збереженість, %	91,0	74,0	86,0
Середнє поголів'я за період, гол.	95,5	87,0	93,0
Загальна маса птиці на початок досліді, (вік 4 тижні) кг	31,81	31,57	31,35
Середня жива маса 1 гол. на початок досліді, (вік 4 тижні), г	318,1±6,11	315,7±7,19	313,5±8,17
Загальна маса птиці на кінець досліді, (вік 7 тижнів) кг	53,15	42,00	51,47
Середня жива маса 1 гол. на кінець досліді, (вік 7 тижні) г	584,1±11,21	567,7±14,19	598,5±12,16
Витрати комбікорму за період досліді (4-7 тижні), кг	86,24	51,16	80,07
Вартість комбікорму в період досліді (4-7 тижні), грн	238,02	141,20	220,99
Вартість використаного «Мікосорбу» в період досліді (4-7 тижні 2 % до корму), грн	-	-	138,36
Вартість електроенергії за період досліді, грн	197,26	197,26	197,26
Вартість загиблої птиці в процесі вирощування, грн	145,80	421,20	226,80
Інші виробничі витрати, грн.	172,25	172,25	172,25
Одержано валового приросту у живій вазі, за період досліді, кг	21,34	10,43	20,12
Собівартість вирощування птиці за період досліді, грн	753,33	931,91	800,66
Вартість приросту в живій вазі птиці, грн	950,70	464,86	896,74
Прибуток від приросту в живій вазі, за період досліджень, грн	197,37	-467,05	96,08
Рентабельність, %	26,2	-	12,0


## Висновки


1. Використання у складі комбікормів сорбенту «Мікосорб» для курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий сприяло підвищенню продуктивності птахів на 5,43%.

2. За використання сорбенту «Мікосорб» підвищується збереженість курчат м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий на 12 %.

3. Згодовування сорбенту «Мікосорб» в кількості 2% від маси комбікорму курчатам м'ясо-ячної породи Адлер сріблястий сприяє збільшенню валового приросту птиці на 9,69 кг, за період дослідю.

Доцент кафедри мікробіології та вірусології  В.М. Зоценко

Доцент кафедри мікробіології та вірусології  А.В. Андрійчук

Асистент кафедри мікробіології та вірусології  Д.М. Островський

## ДОДАТОК К



Проректор з освітньої, виховної та міжнародної діяльності Білоцерківського національного аграрного університету,  
д-р с.-г. наук, професор

 Т.М. Димань

« 04 » 2023 р.

### Акт впровадження наукових розробок в освітній процес

Даним актом підтверджується, що методичні рекомендації:

1) Рухляда В.В., Андрійчук А.В., Білан А.В., Повожицька Ю.М., Білик С.А., **Острівський Д. М.**, Розпутня О.А. Експрес-метод визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати зсараленон F-2 токсин: методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України;

2) Рухляда В.В., **Острівський Д. М.** Визначення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці та їх здатності продукувати дезоксипіваленон (ДОН): методичні рекомендації для лабораторій ветеринарної медицини України,

які є частиною дисертаційної роботи **Острівського Дениса Миколайовича**, асистента кафедри «Мікробіології та вірусології» Білоцерківського національного аграрного університету, використовуються в освітньому процесі для підготовки здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», а також у науково-методичній роботі науково-педагогічних працівників біолого-технологічного факультету.

Декан біолого-технологічного факультету, доцент



Сергій ЧЕРНЮК

## ДОДАТОК Л

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Перший проректор Львівського національного  
університету ветеринарної медицини та  
біотехнологій імені С. З. Гжицького  
канд. біол. наук, доцент



Ігор ТУРКО

” \_\_\_\_\_ 2023 р.

## АКТ

про впровадження/використання результатів кандидатської дисертації в  
освітній процес

Даним документом підтверджується, що результати дисертаційної роботи Островського Дениса Миколайовича на тему «Санітарно-гігієнічна оцінка зерна пшениці, контамінованого токсигенними міксоміцетами» на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.06 – гігієна тварин та ветеринарна санітарія впроваджено у навчальну програму «Гігієна тварин», що викладається на кафедрі гігієни, санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М. В. Демчука Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза».

доктор ветеринарних наук,  
професор, завідувач кафедри гігієни,  
санітарії та загальної ветеринарної  
профілактики імені М. В. Демчука  
Львівського національного університету  
ветеринарної медицини  
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Богдан ГУТИЙ

## ДОДАТОК М

**“ЗАТВЕРДЖЕНО”**  
 директор ФГ «Еліта Агро»  
 І.І. Фостик  
 10 \_\_\_\_\_ 2023 р.

**АКТ**  
**впровадження наукових розробок у виробництво**

Якою науково-дослідною установою запропонована розробка для *впровадження*: Білоцерківський національний аграрний університет, кафедра мікробіології та вірусології.

**Найменування впровадженої розробки:** сорбент «Мікосорб» у кількості 2 % на 1 кг корму.

**Автори наукової роботи:** асистент кафедри мікробіології та вірусології Білоцерківського національного аграрного університету Островський Д.М, директор ФГ «Еліта Агро» Фостик І.І.

**Підприємство де здійснюється впровадження:** ФГ «Еліта Агро» Тернопільська область, Гусятинський район, с. Клювинці.

**Рік і обсяг впровадження:** результати досліджень впроваджено в господарстві в 2023 р., на поголів'ї 300 курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий.

**Вид запроваджуваних результатів:** впровадження результатів використання сорбенту «Мікосорб» за вирощування курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий.

**Новизна результатів досліджень:** застосовується відносно новий сорбент «Мікосорб» в кількості 2 % на 1 кг. шляхом додавання його у комбікорм, що містить мікотоксин дезоксиніваленол, при вирощуванні курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий.

**Практичні рекомендації:** Для зниження токсичного ефекту дезоксиніваленолу, слід додавати сорбент «Мікосорб» в кількості 2 % на кг комбікорму.

**Економічний ефект:** за вирощування 300 голів курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий із використання у комбікормі ураженого мікотоксином дезоксиніваленол сорбенту «Мікосорб» в кількості 2 % на 1 кг комбікорму сприяє підвищенню енергії росту молодняку птиці на 5,7 %.

1. За використання сорбенту «Мікосорб» підвищується збереженість курчат м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий на 13 %.

2. Згодовування сорбенту «Мікосорб» в кількості 2 % від маси комбікорму курчатам м'ясо-яєчної породи Адлер сріблястий сприяє збільшенню валового приросту птиці на 5,43 % (179,6 кг.), за період дослідю.

3. Економічний ефект використання сорбенту Мікосорб складається з таких частин як: збільшення збереженості поголів'я та підвищення енергії росту молодняку курей, що дозволяє додатково отримати дохід від приросту птиці в живій вазі, за період досліджень, на 297,2 грн.

Асистент кафедри мікробіології та вірусології \_\_\_\_\_ Д.М. Островський  
 Директор ФГ «Еліта Агро» \_\_\_\_\_ І.І. Фостик

