

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гноєвий І.В. Методи підвищення ефективності виробництва і використання кормів за цілорічно однотипної годівлі високопродуктивних корів. Автореферат. Львів: – 2008. – С. 3-44.
2. Вороненко В.І., Іовенко В.М. і інші. –Довідник з вівчарства. Нова Каховка “ПІЕЛ”, 2008. – С. 4-24.
3. Ігнатов Г.Л. Взаємозв'язок властивостей жиропоту у овець асканійської тонкорунної породи. Зб. Вівчарство. 1979. вип 18. – С. 14-20.
4. Князев А.Н., Менделеев М.Б. Основные свойства шерсти. В кн.: Натуральная шерсть, ее пласировка и сортировка. М.: Легкая индустрия. 1978. – С. 28-68.
5. Макар І.А., Стапай П.В. і інші. Вади овечої вовни та шляхи її попередження. Львів. 2006. – С. 3-7.
6. Мутаєв М.М., Старовойтенко Н.И. Методические рекомендации по эффективной системе организации производства продукции овцеводства на малых фермах в условиях центральных районов нечерноземной зоны. Дубровицы, 1991. – С. 3-39.
7. Наумов О.Б. Розвиток і ефективність агротекстильного виробництва в Україні: теорія, методологія, стратегія. Миколаїв, 2006. – С.1-37.

УДК 619:616.992.28

**ВИВЧЕННЯ ТОКСИНОУТВОРЮЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ
FUSARIUM MONILIFORME SHELTON ІЗОЛЬОВАНОГО З
ЗЕРНОВИХ УКРАЇНИ**

А.В.БІЛАН,

Т.М.ЦАРЕНКО – кандидати вет. наук,

Білоцерківський національний аграрний університет

Постановка проблеми. *Fusarium moniliforme* широко поширений в усьому світі, цей вид мікроскопічних грибів зустрічається на різних кормових культурах і особливо на кукурудзі [20]. Він також був ізолюваний на території України та прикордонних з нею областях інших держав Росії, Грузії, Білорусії та Молдови [1, 3, 4, 7].

Останім часом дослідники приділяють значну увагу токсинам цього гриба, з якими пов'язують розвиток лейкоенцефаломалії конячих та набряк легенів у свиней [14, 21, 25], а також первісний рак стравоходу та гепато- і кардіотоксичність у людей [13, 15, 22]. Дослідженнями закордонних науковців встановлено здатність *Fusarium moniliforme* продукувати – моніліформін [18], фузаріни А, С, F [8], фумонізину [10, 12] та інші токсичні вторинні метаболіти.

Стан вивчення проблеми. Попередніми дослідженнями грибів, виділених з зернових на території України, встановлена здатність їх продукувати моніліформін [5, 7]. Що стосується інших токсичних ме-

таболітів то повідомлень у доступній науковій літературі ми не знайшли. Тому мета нашої роботи вивчити здатність гриба *Fusarium moniliforme* продукувати інші види токсинів і висвітлити це питання.

Завдання і методика досліджень. Об'єктом токсикологічних досліджень були 55 культур гриба *Fusarium moniliforme*, виділених з зернових України, 12 з яких (7 *F. moniliforme* та 5 *F. moniliforme* var. *lactis*) ізолювано з зерна вівса урожаю 2004 – 2005 років, а інші 43 культури (23 *F. moniliforme* і 20 *F. moniliforme* var. *lactis*) виділені у 2000 – 2004 роках із кукурудзи та пшениці.

Матеріалом дослідження слугували зразки 21-добової біомаси ізолятів, що отримані при культивуванні міцелія мікроміцетів при 24°C в термостаті на стерильному рідкому середовищі Чапека – Докса, агарі Чапека і сусло – агарі, а також стерильних, зволжених зернових субстратах ячменю з кукурудзою, вівса з кукурудзою та рису.

Токсичність культур визначали мікробіологічним методом з використанням паперових дисків, агарових блоків і тест-культури мікроорганізмів *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК, модифікованим методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) з біоавтографічним проявом і біологічною пробою на білих мишах, а токсигенність тонкошаровою хроматографією.

Мікробіологічний метод визначення токсичності з використанням агарових блоків та паперових дисків [6] полягав у наступному: гриби культивували на агарі Чапека або сусло – агарі в чашках Петрі при 24°C протягом тижня і додатково ще 2 – 3 доби при 4°C в холодильнику. Потім трубчастим вибійником готували агарові блоки з міцелієм гриба і розкладали їх на поверхню сусло-агару в чашку Петрі куди попередньо було внесено суспензію клітин *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК і в термостат при 37°C на 24 години. Відмічали наявність або відсутність зон затримки росту *Candida pseudotropicalis*, що чутлива до трихотеценових мікотоксинів (ТТМТ). 12 штамів досліджували на токсичність біопробою на білих мишах (по чотири для кожного ізоляту). Для цього культури культивували протягом 21 доби на рідкому середовищі Чапека – Докса і культуральну рідину вводили інтраперітонеально дозою 0,5 мл трьом мишам, а контрольним по 0,5 мл стерильного середовища і спостереження проводили протягом 7 днів. Для визначення здатності ізолятів *Fusarium moniliforme* продукувати фузаріотоксини – зеараленон (F-2 токсин), Т-2 токсин, моніліформін, фузарін С, фумонізину та фузарієву кислоту, гриби культивували на 10 г стерильного, зволоженого зернового субстрату в 50 мл колбах при 24°C протягом трьох тижнів, а в деяких випадках для стимуляції токсиноутворення, додатково ще тиждень при 4°C в холодильнику. Фузаріотоксини екстрагували розчином ацетонітрил – вода (1:1), етилацетатом, ацетонітрилом та дистильованою водою. Очистку проводили гексаном, а в деяких випадках обмежувались лише фільтрацією екстракту через фільтрувальний папір. Наявність

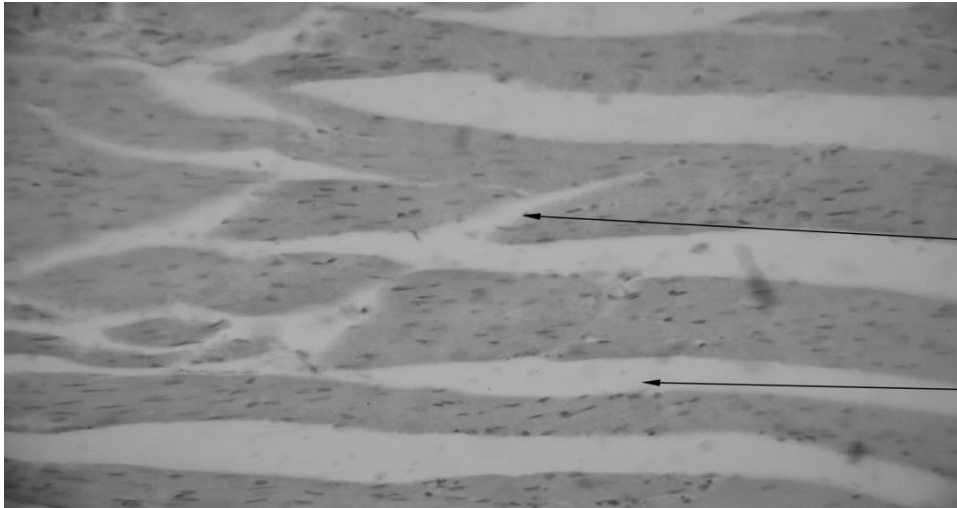
Т-2 токсину визначали модифікованим методом ТШХ з біоавтографічним проявом [6]. При цьому екстракцію токсину проводили етилацетатом, очистку – гексаном і ацетонітрилом або водним розчином метанолу. Вміст зеараленону по методу Mirocha C.J. et al. [16]. Для ідентифікації F-2 токсину розподіл проводили в системі етилацетат-гексан (3:1) і пластини оприскували 20% розчином сірчаної кислоти в метанолі з наступним прогріванням при температурі 120°C 10 хв. Зеараленон проявлявся плямами жовтого кольору. Моніліформін визначали методом ТШХ за Rabie J.C. et al. [18]. Для проявлення токсину пластини експонували в ультрафіолетовому світлі і оприскували розчином 2,4 динітрофенілгідразину з наступним прогріванням при 110 – 120 °C протягом 5 хв. Моніліформін проявлявся плямами червоного або коричневого кольору з Rf 0,25 – 0,3. Для визначення фузаріну С користувалися методом ТШХ за Bacon C.W. et al. [8]. Токсин екстрагували етилацетатом, розподіл в системі хлороформ – метанол (9:1) і оглядали під ультрафіолетовими променями. Фузарін С проявлявся плямами яскраво жовтого кольору. Присутність фумонізину В1 визначали за методом Dupuy J., Le Bars P. [10].

Результати досліджень. Токсикологічно досліджено 55 культур гриба *Fusarium moniliforme*. Дослідження мікробіологічним методом показало, що навколо паперових дисків з екстрактами та агаровими блоками з тижневими культурами п'яти ізолятів утворюється зона затримки росту *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК.

Методом біологічної проби встановлено, що культуральна рідина 7 ізолятів із 12 досліджених володіла токсичними властивостями, а саме викликала загибель білих мишей. Після загибелі тварин було проведено розтин з метою вивчення патологічних змін та відбору внутрішніх органів (серця та печінки) для гістологічного дослідження. У загиблих тварин в грудній порожнині незначна кількість рідини червоного кольору, легені яскраво – червоного кольору, щільної консистенції при розрізі паренхіми виділяються бульбашки повітря з домішками крові. Серце темно вишневого кольору, згустків крові не відмічали. У черевній порожнині невелика кількість рідини темно – червоного кольору, печінка з вентрального боку темного кольору, з дорсального – яскраво коричневого, а периферія – чорного, дряблої консистенції. Шлунок переповнений газами, кормові маси відсутні, товстий відділ кишечника переповнений газами із незначними залишками кормових мас. Нирки – темно вишневого кольору, без видимих змін.

При вивченні гістопрепаратів у лабораторії патанатомії БНАУ в препаратах з паренхіми серця виявлено: виражений набряк строми, повнокрів'я судин міокарду, у кардіоміоцитах відсутня поперечна посмугованість, їх цитопlasма набухла, частина ядер базofilьні і вони мають видовжену форму, а інші овальної форми, каріопlasма просвітлена. Поодинокі ядра кардіоміоцитів у стані пікнозу і навколо них відмічається зона просвітління. Переважають надриви та розриви

м'язових волокон, пучки волокон розрихлені по довжині і мають також поперечні надриви. Місцями в структурі м'язів є обширні поодинокі та дрібні крововиливи, що в основному виявляються в міокарді, але ближче до епікарду. Під епікардом інтенсивно розширені і кровонаповнені коронарні судини (рис. 1.).

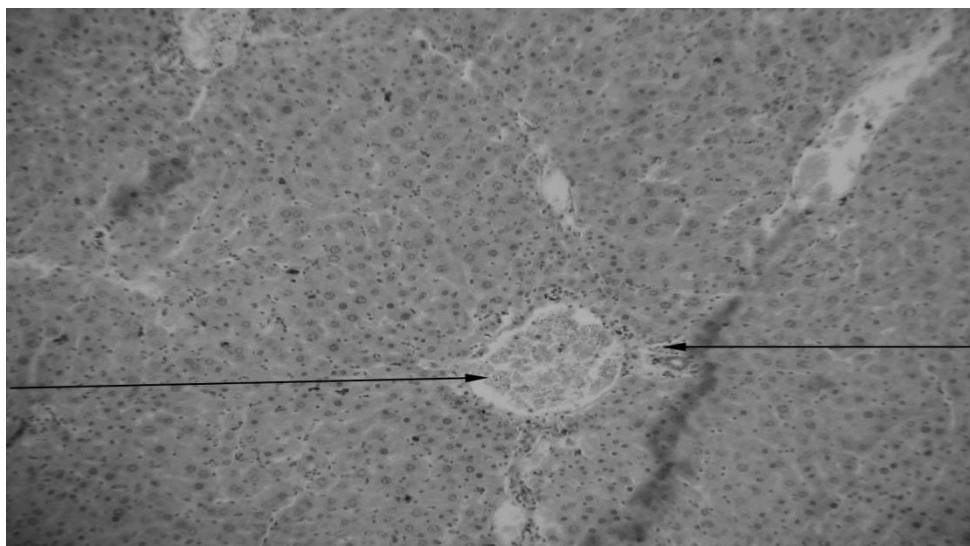


*Рисунок 1. а) надриви м'язових волокон у серцевих м'язах мишей;
б) поздовжні розриви м'язових волокон у серцевих м'язах мишей.
Заб. 10×40. Заб. гематоксилін-еозином.*

При дослідженні гістопрепаратів з печінки виявлено наступне: розширення центральних вен і повнокрів'я судин (застійні явища), структура балок не чітка, гепатоцити в стані слабо вираженої білкової дистрофії (гостра застійна гіперемія), виражена дифузна круглоклітинна інфільтрація строми (гепатит). Поодинокі ядра пікноморфні із зоною просвітління навколо них (некроз), окремі ядра гепатоцитів зруйновані, їх вміст розпався на дрібну зернистість (каріорексис) по всій структурі цитоплазми. Присутні клітини, в яких ядро не зруйноване і така базофільна зернистість у вигляді гранул у цитоплазмі навколо ядра. Спостерігаються також кристалики гематосидерину та гематоїдину – наслідок діapedезу еритроцитів (бура пігментація) в Купферовських клітинах ретикулярної тканини (рис. 2.).

Ці зміни, за даними закордонних дослідників, характерні підгострому токсикозу, викликаного впливом моніліформіну [11, 24].

Визначенням здатності фузаріїв продукувати різні види фузаріотоксинів при культивуванні на зернових субстратах за допомогою методу ТШХ з'ясовано, що із досліджених культур гриба *Fusarium moniliforme* 11 продукували моніліформін, у тому числі 4 ізоляти, виділені з зерна вівса. Шість ізолятів – продуцентів моніліформіну – виявились токсичними і при біопробі на білих мишах, а токсичність 5 культур була встановлена ще мікробіологічним методом, і ці культури ізольовані під час власних досліджень мікобіоти зерна вівса.



**Рисунок 2. Розширення центральних вен печінки мишей (гепатит).
Заб. 10×20. Заб. гематоксилін-еозином.**

Дев'ять штамів продукували фузарієву кислоту, у тому числі 1 культура *F. moniliforme* var. *lactis*, що ізолювана на вівсі і також виявилась токсичною за мікробіологічним тестом. Цей вторинний метаболіт при розподілі в системі ХМ – хлороформ: метанол (95:5) мав R_f 0.88 – 0.92 і слабку червоно-коричневу флюоресценцію під променями ультрафіолетових ламп з довжиною хвилі 254 та 365 нм.

F–2 токсин (зеараленон) синтезували 7 культур, екстракти чотирьох з яких також викликали загибель білих мишей та два – затримку росту мікроорганізмів *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК.

Здатністю продукувати фузарін С володіли 5 культур, три з яких ізолювані на зерні вівса і одна токсична за мікробіологічним тестом.

Стосовно Т-2 токсину, то однозначної відповіді дати неможливо, оскільки методом безпосередньої екстракції його з субстратів культур не виявлено. Але тест-культура *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК, що чутлива до трихотеценових мікотоксинів (ТТМТ) і використовувалась під час дослідження, утворювала зони затримки росту, то можливо зробити висновок про здатність синтезу грибами *F. moniliforme* речовин споріднених ТТМТ.

Проведені попередні дослідження щодо здатності утворювати фумонізін В₁ показали, що 5 із 5 досліджених штамів *F. moniliforme* продукували цей токсин, три з яких виділені на зерні вівса. Екстракція токсину проводилась розчином ацетонітрил – вода (1:1), розподіл у системі БОВ – бутанол: оцтова кислота: вода (2:1:1) після чого оприскував пластину 0,5%-розчином анісового альдегіду та наступним прогріванням при 110° – 120 °С протягом 5 хв. Фумонізін В₁ проявлявся плямами яскравого жовтого кольору з R_f 0.60 – 0.65.

Під час вивчення наукової літератури щодо токсичної здатності гриба *F. moniliforme* було знайдено повідомлення зарубіжних авторів, що описують цей мікроміцет як такий, що має досить високий то-

кисигенний потенціал. Цей вид, а також його різновиди здатні синтезувати моніліформін, фумонізину, фузаріоцин, фузаріни та фузарієву кислоту. Моніліформін уперше було виділено в 1973 році із культури *F. moniliforme*. Пізніше його виділили із культур *F. acuminatum* (Ell. et Ev.) Booth, *F. avenaceum*, *F. oxysporum* [19]. В Україні доволі поширеним продуцентом моніліформіну є *F. moniliforme* var. *lactis* (Pig. et Rib.). Токсин викликає захворювання коней на лейкоенцефаломачію, яка характеризується високою смертністю, некротичним розплавленням білої речовини головного мозку і сірої речовини спинного мозку. При підгострій інтоксикації моніліформіном на перший план виступають симптоми недостатнього кровопостачання міокарда [11, 13]. Деякі дослідники вважають, що причиною цього захворювання також можуть бути фумонізину [14, 21]. Токсини фузаріни та фумонізину, виділені з ізолятів *F. moniliforme*, є високомутагенними сполуками і викликають захворювання на рак [8, 12]. Фузарієва кислота належить до числа нестійких сполук, вперше вона була ізолювана японськими вченими із *F. moniliforme*. Пізніше Гойман виділив її із *F. oxysporum* var. *lycopersici*, вона знижує кров'яний тиск, впливає на серцево-судинну систему, має селективну транквілізуючу дію і здатність посилювати активність інших фузаріотоксинів [19, 20].

Також є повідомлення про здатність *F. moniliforme* продукувати епоксітрихотецени, діацетоксісцірпенол, Т-2 токсин та зеараленон [9, 23], а інші дослідники повідомляють про відсутність трихотеценових мікотоксинів у токсичних ізолятах *F. moniliforme* [17]. Оскільки проведеними дослідженнями нами не виявлено Т-2 токсину в екстрактах, а тест культура мікроорганізмів *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК утворювала зони затримки росту під час мікробіологічного дослідження, можна зробити висновок про присутність подібних або споріднених з трихотеценовими мікотоксинами речовин у культурах гриба *Fusarium moniliforme*. Тому, на нашу думку, потрібно звертати належну увагу на одночасну колонізацію зерна кількома видами фузаріїв, а це є досить поширеним явищем (особливо в західних та північних областях України).

Висновки та пропозиції:

1. Проведеними токсикологічними дослідженнями 55 культур гриба *Fusarium moniliforme* встановлено, що 29 штамів володіли токсигенними властивостями. За мікробіологічним тестом екстракти чотирьох ізолятів викликали зону затримки росту культури *Candida pseudotropicalis* штаму 44 ПК.

2. Культуральна рідина 7 ізолятів із 12 досліджених викликала загибель лабораторних тварин, а також при гістологічному дослідженні препаратів внутрішніх органів (серця та печінки) загинув мишок виявлено зміни характерні токсичному впливу моніліформіну.

3. Моніліформін продукували 11 культур, фузарієву кислоту – 9, зеараленон – 7, фузарін С – 5, речовини споріднені з ТТМТ – 4 і

проведеними попередніми дослідженнями 5 штамів встановлена їх здатність продукувати фумонізін В₁.

Перспективою подальших досліджень буде вивчення синтезу мікотоксину фумонізіну В₁ іншими видами мікроскопічних грибів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Балабанов В.Л. Санитарно-микологические и биохимические исследования кукурузы в условиях Молдавской ССР: Автореф. дис. ...канд. вет. наук. –М., 1966. – 23 с.
2. Билай В.И. Фузариин. – К. 1977. – 443 с.
3. Калашников К.Я., Шапиро И.Д. Вредители и болезни кукурузы. Изд. с.-х. лит, Л., 1962. – 189 с.
4. Квачадзе Л.Д. Токсическая микрофлора на кукурузном зерне в Грузинской ССР // Труды ВНИИВС.– 1970. – Т. 36. – С. 69 – 73.
5. Леонов А.И., Кононенко Г.П., Соболева Н.А. Характеристика токсичности изолятов *Fusarium moniliforme* var. *lactis*. Доклады ВАСХНИЛ. – 1991. №7.с. 25 – 27.
6. Рухляда В.В. Фузариотоксин Т-2 у кормах і його визначення. // Вісник БДАУ. 7 Біла Церква. – 1998. вип. 4. част.І., с. 107 – 113.
7. Рухляда В.В., Элланская И.А., Кулинич Н.Н. Видовой состав и токсигенные свойства грибов рода *Fusarium* Lk: Fr., контаминирующих кукурузу. микробиол. журн., – 1995. 57, №4. – с. 35 – 42.
8. Bacon C.W., Marijanovic D.R., Norred W.P. Production of fusarin C on cereal and soybean by *Fusarium moniliforme*. // Appl. Microbiol. – 1989. – 55 (11). – P. 2745 – 2748.
9. Chakrabarthi D.K. and Ghosal S. Occurrence of free and conjugated 12,13-epoxytrichothecenes and zeralenon in banana fruits infected with *Fusarium moniliforme*. // Appl. Environ. Microbiol. – 1986. – 51. – P. 217 – 219.
10. Dupuy J., Le Bars P. Thermostability of Fumonisin B₁, a Mycotoxin from *Fusarium moniliforme*, in Corn. // Appl. Microbiol. – 1993. – Vol.59, (9). – P. 2864 – 2867.
11. Fan L. L., Li J.A., Sun L.H. Effect of moniliformin on myocardial contractility in rats // Biomedical and Environmental Sciences. – 1991. –V. 4, №3. – P. 290 – 294.
12. Fumonisin novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O. et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 1988. – 54. – P. 1806 – 1811.
13. Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O. and Thiel, P.G. Hepato and cardiotoxicity of *Fusarium verticillioides* (*F. moniliforme*) isolates from southern African maize // Food Cosmet. Toxicol. – 1981. –19. – P. 447 – 456.
14. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. Marasas, W.F.O., T. S. Kellerman, W.C.A. Gelderblom and Thiel, P.G. // Onderstepoort J. Vet. Res. – 1988. – 55. – P.197 – 203.
15. Mycoflora of corn produced in human esophageal cancer areas in Transkei, southern Africa. Marasas, W.F.O., Wehner, F.C., van Rensburg, S.J. and van Schalkwyk, D.J. // Phytopathology. – 1981. – 71. – P. 792 – 796.

16. Mirocha C.J., Schauerhamer C.M., Pathre S.V. Isolation, detection, and quantitation of zearalenon in maize, oats and barley // JAOAC. – 1974. – 57, №5. – P. 1104 – 1110.
17. Mirocha C.J., Abbas H.K., Vesonder R.F. Absence of Trichothecenes in Toxigenic Isolates of *Fusarium moniliforme*. // Appl. and Environ. Microbiol. – 1990. – Vol. 56, №2. – P. 520 – 525.
18. Moniliformin, a mycotoxin from *Fusarium fusarioides*. Rabie, J. C., Lübben, A., Louv, A. et al. // Agric. Food Chem. – 1978. – 26. – P. 375 – 379.
19. Nelson P.J., Dignani M.C. and Anaissie E.J. Taxonomy, Biology, and Clinical Aspects of *Fusarium Species*. // Clinical Microbiology Reviews. – 1994. – P. 479 – 504.
20. Nelson P.J. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. // Mycopathologia. –1992. –117. – P. 29 – 36.
21. Production of Fumonisin by *F. moniliforme* and *F. proliferatum* Isolates Associated with Equine leucoencephalomalacia and a Pulmonary Edema Syndrome in Swine. Ross P.F., Nelson P.E., Richard I.L. et al. // Appl. and Environ. Microbiol. – 1990. – Vol. 56, №10. – P. 3225 – 3226.
22. Ross P.F., Fellinghan S.A. Cancer patterns in Transkei. // S.Afr. J. Sci. – 1981. – 77. –P. 555 – 561.
23. Toxic substances produced by *Fusarium*. V. Occurrence of zearalenon, diacetoxyscirpenol, and T-2 toxin in moldy corn infected with *Fusarium moniliforme* Sheld. Ghosal S., Biswas K., Srivastava R.S. et al. // J.Pharm. Sci. – 1978. – 67. – P. 1768 – 1769.
24. Toxicity of a moniliformin-producing strains of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* isolates from maize. Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O., Steyn P.S. et al. // Food Cosmet. Toxicol. – 1977. – V. 15. – P. 579 – 587.
25. Wilson B.J., Maronpot R.A., Hildebrandt P.K. Equine leucoencephalomalacia in equine animals // The Vet. Res. – 1976. – 163, №11. – P. 1293 – 1295.

УДК 636.087.8

УДОСКОНАЛЕННЯ ІНКУБАЦІЇ КАЧИННИХ ЯЄЦЬ КРОСУ «БЛАГОВАРСЬКИЙ»

В.В.ПРИЙМАК – к. с.-г. наук, доцент, Херсонський ДАУ

Постановка проблеми. Ефективність галузі птахівництва перш за все залежить від дотримання раціональних науково-обґрунтованих нормативів вирощування та утримання птиці [2], які базуються на використанні нових високопродуктивних і стійких до захворювань ліній та кросів птиці, використанні повнораціональних і збалансованих за поживністю комбікормів у годівлі, удосконаленні їх ресурсозберігаючих технологій виробництва продукції тваринництва [1]. Однією із важливих ланок таких технологічних прийомів є розробка нових способів підвищення інкубаційних якостей яєць. Відтворні якості птахів значною мірою