

УДК 619:615.918:633.15:582.28

ОСТРОВСЬКИЙ Д.М., асистент

КОРНІЄНКО Л.Є., д-р вет. наук

АНДРІЙЧУК А.В., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

[denostr@meta.ua](mailto:denostr@meta.ua)

## ТОКСИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОМІЦЕТІВ *FUSARIUM* ТА *ASPERGILLUS*

Вивчено токсигенний потенціал 39 видів грибів роду *Fusarium* та 22 штамів грибів *Aspergillus flavus* виділених із зерна пшениці. Серед них виявлені продуценти F-2 токсину – (зеараленону), дезоксиніваленолу, фумонізіну В<sub>1</sub>, Т-2 токсину, невизначених трихотеценових мікотоксинів, коєвої, аспергілової та пеніцилової кислот. Результати досліджень показали, що із грибів виділених із зерна пшениці, три штами *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* 1241/3 та *F. sporotrichiella* var. *poae* 1210/5 продукували зеараленон, один *F. graminearum* 1273 – ДОН, три штами *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* – дванадцять продукували Т-2 токсин, серед них 8 *F. sporotrichiella* var. *poae*, 3 *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* та 1 *Fusarium* spp., п'ятнадцять штамів утворювали невизначені трихотеценові мікотоксини і жоден штам не продукував моніліформін.

**Ключові слова:** дезоксиніваленол, ДОН, *Fusarium*, токсин, F-2, Т-2, ТТМТ, фумонізін В<sub>1</sub>, коєва кислота, аспергілова кислота, пеніцилова кислота.

**Постановка проблеми.** Нині в науковій літературі та всесвітній мережі Інтернет з'являється значна кількість матеріалів досліджень випадків отруєнь мікотоксинами або виявлення їх у зернових кормах та харчових продуктах. Так, за повідомленнями департаменту харчування та сільського господарства ООН FAO, на початку XXI століття 25 % врожаю зернових культур було забруднено мікотоксинами, з'явилися повідомлення про забруднення навіть 80 % світового врожаю зерна [1, 2]. Нині відомо понад 400 видів мікотоксинів. До родів цвілевих грибів, що продукують мікотоксини, належать: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Neotyphodium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium* [3].

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** За останні 10 років в Україні та інших країнах, в яких виробляються основні зернові культури, спостерігається значне зростання зараження мікотоксинами. Все це виводить товарне зерно не тільки з категорії продовольчого, але і робить його непридатним для використання на корм [4].

Зернові культури уражують близько 20 видів фузарієвих грибів, але основна увага у зв'язку з небезпекою забруднення зерна мікотоксинами, приділяється *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. sambucinum* [5, 6]. Вони відрізняються один від одного за культуральними властивостями, морфологічними ознаками макро- та мікроконідій, за наявністю або відсутністю хламідоспор.

**Метою досліджень** було визначення токсигенного потенціалу грибів *Fusarium* та *Aspergillus*, виділених із зерна пшениці.

**Матеріал і методи досліджень.** Мікотоксикологічному дослідженню підлягали 39 грибів роду *Fusarium* та 22 штами *Aspergillus flavus*.

Епіфітну мікофлору вивчали методом прямої інокуляції, для цього зерна пшениці розкладали у чашки Петрі на поверхню середовища Чапека по 6–7 шт. Матеріал з кожного зразка висівали в 4 чашки, 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 визначення здатності продукувати мікотоксини 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. Вміст токсинів в екстракті виявляли методом ТШХ. Для цього його розчиняли в 200 мкл ацетонітрилу і на стартову лінію пластини *Sorbfil* за допомогою мікрошприца наносили 20 мкл досліджуваного розчину і поруч наносили стандартний розчин мікотоксину виробництва r-biopharm в метанолі (100 мкг/см<sup>3</sup>). 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 °С ДОН виявлявся в довгохвильовому УФ-світлі у вигляді плям з синьою флуоресценцією з *Rf* 0,35–0,40. Наявність F-2 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. 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.

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 ТШХ. Для цього екстракти наносили на пластини *Sorbfil* і розподіл проводили в системі розчинників толуол:етилацетат:мурашина кислота (6:3:1). Коєва кислота на пластинках мала вигляд плям світло-коричневого кольору, а після обробки пластин 1 % розчином хлориду заліза (III) плями набували коричнево-вишневого забарвлення із *Rf* 0–0,1. Для виявлення афлатоксинів пластини оглядали в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 365 нм, а для підтвердження результатів хроматограми обробляли проявником азотна кислота–дистильована вода (1:2) [113]. Стандартний розчин афлатоксину В<sub>1</sub> проявлявся на пластині плямами блакитного кольору з *Rf* 0,35–0,37. Пеніцилову кислоту виявляли шляхом витримання пластини в камері з парами аміаку, де вона проявлялась у вигляді плям малинового кольору з *Rf* 0,53. Аспергілову кислоту виявляли за взаємодії зі спиртовим розчином хлориду феруму, де вона забарвлювалась в червоний колір, а після обприскування розчином мідного купоросу, мала вигляд зелених плям з *Rf* 0,1–0,15.

**Основні результати дослідження.** Результати досліджень показали, що із грибів виділених із зерна пшениці, три штами *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 штами *F. moniliforme. var. lactis* 1210д/2, *F. moniliforme. var. lactis* 1208/5 та *F. oxysporum. var. orthoceras* 1206д/3 – фумонізін В<sub>1</sub> (табл. 1). Із 39 штамів грибів *Fusarium* – дванадцять штамів продукували Т-2 токсин, серед них 8 *F. sporotrichiella var. poae*, 3 *F. sporotrichiella var. tricinctum* та 1 *Fusarium spp.*, п'ятнадцять штамів утворювали невизначені трихотеценові мікотоксини і жоден штам не продукував моніліформін.

Ще п'ятнадцять штамів грибів продукували невизначені нами 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.

Аналізуючи отримані результати можна вказати, що продуценти Т-2 токсину були виявлені в Київській – (7), Вінницькій – (2), Закарпатській – (1), Одеській – (1) областях і 1 штам-продуцент був виділений із зерна пшениці з Німеччини. Зеараленон синтезували штами виділені у Київській та Закарпатській областях, а продуценти фумонізину В<sub>1</sub> виявлені у Київській та Одеській областях. Не ідентифіковані трихотеценові мікотоксини синтезували штами із Вінницької, Чернігівської, Закарпатської, Харківської, Київської, Одеської областей та із Німеччини.

Проведеними дослідженнями встановлено, що продуцентів афлатоксинів серед 22 грибів *Aspergillus flavus* не виявлено, 8 штамів гриба *Aspergillus flavus* продукували коєву кислоту, 20 штамів – аспергілову і лише один – пеніцилову кислоту (табл. 2).

Таблиця 1 – Продукція токсинів видами *Fusarium spp.* із різних фізико-географічних регіонів

№ п/п	Вид гриба, № штаму	Область, район, рік ізоляції	Вид токсину					
			F-2	ДОН	FB <sub>1</sub>	MON	T-2	TTMT
1	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1206д/2	Одеська, Котовський, 2007	-	-	-	-	+	-
2	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1232д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	-	-	-	-	-	-
3	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1233д/2	Київська, Кагарлицький, 2007	-	-	-	-	+	-
4	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	-	-	-	+	-
5	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1215д/1	Вінницька, Бершадський, 2006	-	-	-	-	+	-
6	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1209/3	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	-
7	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1213д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	+	-
8	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1211д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	+	-
9	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1210/5	Київська, Білоцерківський, 2006	+	-	-	-	+	-
10	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
11	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1229/7	Вінницька, Вінницький, 2006	-	-	-	-	+	+
12	<i>F. sporotrichiella</i> 1218/5	Чернігівська, Менський, 2006	-	-	-	-	-	-
13	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1218/4	Чернігівська, Менський, 2006	-	-	-	-	-	+
14	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1273/4	Німеччина	-	-	-	-	+	+
15	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1241/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	+	-	-	-	-	+
16	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1255/3	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
17	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>tricinctum</i> 1254/3	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-
18	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1252/1	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-
19	<i>F. sporotrichiella</i> var. <i>poae</i> 1258/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	-	-
20	<i>Fusarium spp.</i> 1251/4	Київська, Білоцерківський, 2007	-	-	-	-	+	-
21	<i>Fusarium spp.</i> 1231/5	Вінницька, Вінницький, 2006	-	-	-	-	-	-
22	<i>F. avenaceum</i>	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> var. <i>orthoceras</i> 1226/6	Одеська, Комінтернівський, 2007	-	-	-	-	-	+
29	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1214д/4	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	-
30	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1240д/1	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	-	-	-	-	+
31	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1210д/2	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	+	-	-	+
32	<i>F. moniliforme</i> var. <i>lactis</i> 1208/5	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	+	-	-	+
33	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1206д/3	Одеська, Котовський, 2006	-	-	+	-	-	-
34	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1211д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	-
35	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> Глу.д/3	Київська, Білоцерківський, 2006	-	-	-	-	-	+
36	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1205/2	Одеська, Красноокнянський, 2006	-	-	-	-	-	+
37	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1274/5	Німеччина	-	-	-	-	-	-
38	<i>F. oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i> 1235д/2	Київська, Ставищанський, 2007	-	-	-	-	-	+
39	<i>F. oxysporum</i> + <i>F. sporotrichiella</i> 1239/3	Закарпатська, Виноградівський, 2007	-	-	-	-	-	+

Примітка: TTMT – не встановлені види трихотеценових мікотоксинів.

Таблиця 2 – Продукція токсинів штамами *Aspergillus flavus*

№ п/п	Штам	Область, район, рік ізоляції	Вид мікотоксину			
			коєва кислота	аспергіло- ва кислота	пеніцилова кислота	афлаток- сини
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	–	+	–	–
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.

Щодо поширення по областях, то продуценти коєвої кислоти були виділені в Одеській, Вінницькій, Кіровоградській, Чернігівській та Київській областях. Продуценти аспергілової кислоти були виділені з Одеської, Вінницької, Київської, Чернігівської, Кіровоградської, Закарпатської та Миколаївської областей і лише один продуцент пеніцилової був виділений в Чернігівській області. Наразі проводяться дослідження мікобіоти зерна пшениці 2016 року врожаю, є зміни порівняно із попередніми роками, результати яких будуть висвітлені у наступних публікаціях.

**Висновки.** Таким чином, проведеними мікологічними дослідженнями встановлений комплекс мікроміцетів, що контамінують зерно пшениці з різних фізико-географічних регіонів. Виявлена різниця в контамінації зерна грибами родів *Fusarium*, *Aspergillus*, і *Penicillium* залежно від регіону його вирощування. Мікотоксикологічними дослідженнями у зерні виявлені продуценти Т-2, F-2 токсинів, ДОНу, моніліформіну, фумонізину В<sub>1</sub>, коєвої, аспергілової та пеніцилової кислот. Ця інформація може бути використана для об'єктивної оцінки якості зернової продукції. З метою контролю безпечності вирощених зернових потрібно проводити постійний моніторинг їх контамінації мікотоксинами та токсигенними мікроміцетами.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Evaluation of certain mycotoxins in food: fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO technical report series; 908). – Geneva, 2002. – 62 p.
2. Food Quality and Safety Systems – A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (НАССР) System. – Rome: FAO, 1998. – 232 p., <http://www.fao.org/docrep/W8088E/W8088E00.htm>.
3. Тутельян В. А. Микотоксини: Медицинские и биологические аспекты / В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко. – М.: Медицина, 1985. – 319 с.
4. Брезвин О. Контроль мікотоксинів у кормах і їх знешкодження / О. Брезвин, В. Отчич, І. Коцюмбас // Вісник Львівського університету. Сер.: Біологічна. – 2013. – Вип. 62. – С. 242-249.

5. Васянович О. Ураження зернових кормів мікроскопічними пліснявими грибами на території України / О. Васянович, М. Руда, Ю. Янголь // Ветеринарна біотехнологія. – 2016 – Вип. 29. – С. 62-67.
6. Васянович О. Моніторингові дослідження кормів на наявність в них грибноі мікрофлори / О. Васянович, І. Сапсай, Ю. Янголь // Ветеринарна біотехнологія. – 2015. – Вип. 27. – С. 82-87.

#### REFERENCES

1. Evaluation of certain mycotoxins in food : fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO technical report series; 908). Geneva, 2002, 62 p.
2. Food Quality and Safety Systems – A Training Manual on Food Hygiene and the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) System. Rome: FAO, 1998, 232 p. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/W8088E/W8088E00.htm>.
3. Tutel'jan, V.A., Kravchenko, L.V. (1985). Mikotoksiny: Medicinskie i biologicheskie aspekty [Mycotoxins: Medical and Biological Aspects]. Moscow, Medicine, 319 p.
4. Brezvin, O., Otchich, V., Kotsyumbas, I. (2013). Kontrol' mikotoksyniv u kormah i i'h zneshkodzhennja [Control of mycotoxins in feed and their neutralization]. Visnyk of Lviv National University. Ser : Biological, Issue 62, pp. 242-249.
5. Vasyanovich, O., Ruda, M., Yangol, Y. (2016). Urazhennja zernovyh kormiv mikroskopichnymy plisnjavymy grybamy na terytorii' Ukraïny [Grain feed damage by microscopic mold fungi in the territory of Ukraine]. Veterinary biotechnology, vol. 29, pp. 62-67.
6. Vasyanovich, O., Sapsay, I., Angol, Y. (2015). Monitoryngovi doslidzhennja kormiv na najavnist' v nyh grybnoi' mikroflory [Monitoring research of feed for the presence of fungi microflora in them]. Veterinary biotechnology, vol. 27, pp. 82-87.

#### Токсигенные свойства микромицет *Fusarium* и *Aspergillus*

Д.Н. Островский, Л.Е. Корниенко, А.В. Андрейчук

Изучено токсигенный потенциал 39 видов грибов рода *Fusarium* и 22 штаммов грибов *Aspergillus flavus*, полученных из зерна пшеницы. Среди них выявлены продуценты F-2 токсина – (зеараленона), дезоксиниваленола, фумонизина В<sub>1</sub>, Т-2 токсина, неопределенные трихотеценовые микотоксины, коевой, аспергиловой и пеницилловой кислот. Результаты исследований показали, что из грибов выделенных из зерна пшеницы, три штамма *F. culmorum* 1256/4, *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* 1241/3 и *F. sporotrichiella* var. *poae* 1210/5 продуцировали зеараленон, один *F. graminearum* 1273 – ДОН, три штамма *F. moniliforme* var. *lactis* 1210д/2, *F. moniliforme* var. *lactis* 1208/5 и *F. oxysporum* var. *orthoceras* 1206д/3 – фумонизин В<sub>1</sub>. Из 39 штаммов грибов *Fusarium* – двенадцать продуцировали Т-2 токсин, среди них 8 *F. sporotrichiella* var. *poae*, 3 *F. sporotrichiella* var. *tricinctum* и 1 *Fusarium* spp., пятнадцать штаммов синтезировали неопределенные трихотеценовые микотоксины и ни один штамм не продуцировал монилюформин.

**Ключевые слова:** дезоксиниваленол, ДОН, *Fusarium*, токсин, F-2, Т-2, ТТМТ, фумонизин В<sub>1</sub>, коевая кислота, аспергиловая кислота, пеницилловая кислота.

#### Toxigen properties of *Fusarium* and *Aspergillus* micromitsets

D. Ostrovskiy, L. Korniyenko, A. Andreychuk

Nowadays, in the scientific literature and the World Wide Web, there is a significant amount of materials for the investigation of cases of mycotoxin poisoning or their discovery in grain feeds and food products. Thus, according to the UN Food and Agriculture Department, FAO, at the beginning of the 21st century, 25% of the grain crop was contaminated with mycotoxins, reports of contamination of even 80% of the world's grain crop were reported. Today more than 400 species of mycotoxins are known. The genera of molds that produce mycotoxins are related: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Neotyphodium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, *Trichothecium*.

Over the past 10 years, there has been a significant increase in mycotoxin contamination in Ukraine and in other countries where major crops are produced. All this takes the commodity grain not only from the category of food, but also makes it unfit for use on the feed. Cereal crops affect about 20 types of fusarium fungi, but the main attention due to the risk of contaminated grains by mycotoxins is given to *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. sambucinum*.

They differ from each other for their cultural properties, morphological features of macro- and microconidia, in the presence or absence of chlamydo spores.

Of the 39 strains of fungi, *Fusarium* – twelve strains producing T-2 toxin among them – 8 *F. sporotrichiella* var. *Poae*, 3 *F. sporotrichiella* var. *Tricinctum* and 1 *Fusarium* spp., The fifteen strains formed – indeterminate trichothecene mycotoxins and no strain produced moniliformine. Another fifteen fungi strains produced Trichothecene mycotoxins, not defined by us, 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.

Analyzing the results obtained, it can be noted that T-2 toxin producers were identified in Kyiv – (7), Vinnytsa – (2), Transcarpathian – (1), Odessa – (1) regions and 1 strain producer was isolated from wheat grain from Germany Zeараленон was synthesized by strains isolated in the Kyiv and Transcarpathian regions, and producers of fumonisin B<sub>1</sub> were found in the Kyiv and Odessa region. Trichothecene mycotoxins not identified were synthesized from strains from Vinnitsa, Chernigov, Transcarpathian, Kharkiv, Kyiv, Odessa regions and from Germany.

The conducted studies of aflatoxin producers in 22 fungi were not detected by *Aspergillus flavus*, 8 strains of fungus *Aspergillus flavus* produced coevine acid, 20 strains – aspergillum and only one – penicillic acid. Regarding distribution in region, the producers of coevine acid were allocated in Odessa, Vinnytsia, Kirovograd, Chernihiv and Kyiv regions. Producers of aspergilliacid were isolated from Odesa, Vinnitsa, Kyiv, Chernihiv, Kirovograd, Transcarpathian and Mykolayiv regions, and only one producer of penicillin was isolated in the Chernigiv region.

Conclusions. Thus, the mycological researches have established a set of micromycetes that contaminate wheat grain from different physical and geographical regions. The difference in the contamination of grain with the fungi of the genera *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* is detected, depending on the region of its cultivation. Mycotoxicological studies in the grains revealed the producers of T-2, F-2 toxins, DON, moniliformin, fumonisin B1, coev, aspergil, and penicillic acids. This information can be used to objectively assess the quality of grain products. In order to control the safety of grown crops, it is necessary to continuously monitor their contamination with mycotoxins and toxigenic micromycetes.

**Key words:** deoxynivalenol, DON, *Fusarium*, toxin, F-2, T-2, TTMT, fumonisin B1, kioic acid, aspergic acid, penicillic acid.

Надійшла 15.05.2017 р.

УДК 636.09:616:615.371

ПІНЧУК Н.Г., канд. вет. наук

nat\_pinchuk@mail.ru

ГОЛОВКО А.М., д-р вет. наук, академік НААН

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

КОЛЕСНИКОВА К.Ю., канд. вет. наук

Херсонське державне підприємство – біологічна фабрика

### СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТЕСТУ ЗАРАЖЕННЯ СВИНЕЙ ШТАМАМИ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

Висвітлено переваги і недоліки різних методів зараження свиней збудником *Er. rhusiopathiae* та проведено дослідження із встановлення еталонного методу для тесту зараження свиней за контролювання якості вакцин живих та інактивованих від бешихи свиней за показниками ефективність/імуногенність. Встановлено, що штами *Er. rhusiopathiae* сероваріантів 1a та 2b були патогенними для свиней в дозах  $1,0 \times 10^6$  та  $2,0 \times 10^7$  КУО/0,1 см<sup>3</sup> відповідно і можуть використовуватися як контрольні.

Запропоновані моделі зараження свиней (внутрішньошкірне та скарифікація) можуть бути рекомендовані для здійснення контролювання якості вакцин від бешихи свиней за показниками ефективність/імуногенність згідно з вимогами European Pharmacopoeia 0064 та ДСТУ 6079:2009.

**Ключові слова:** збудник бешихи свиней, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, імуногенність, ізоляти, патогенність, сероваріанти, штами.

**Постановка проблеми.** Бешиха свиней (*Swine erysipelas*) – одне з найбільш поширених і небезпечних захворювань, переважно свиней у віці від 3 до 12 місяців [1], яке щорічно спричиняє значні економічні збитки свинарству практично на всіх континентах світу [2].

Основним методом попередження в господарствах як масових спалахів, так і окремих випадків бешихи свиней залишається специфічна імунопрофілактика живими та інактивованими вакцинами, які мають забезпечувати високий рівень захисних антитіл від усіх можливих небезпечних сероваріантів збудника бешихи, серед яких 80 % становлять ізоляти сероварів 1a, 1b та 2b [3].

Вимоги *European Pharmacopoeia 0064* та *ДСТУ 6079:2009* щодо контролювання якості вакцин від бешихи свиней за показниками ефективність/імуногенність передбачають проведення дослідження на тваринах цільових видів з їх подальшим, через рекомендований термін після вакцинації, контрольним зараженням патогенними для свиней сероваріантами *Er. rhusiopathiae* [4–5].

**Аналіз основних досліджень і публікацій.** Тест зараження свиней має імітувати, наскільки це можливо, природні шляхи інфікування [6]. Для цього тесту описані різні методи з різними шляхами введення збудника захворювання (скарифікація, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, внутрішньошкірний, оральний та в кон'юнктиву), що створює значні труднощі в оцінюванні результатів досліджень при контролюванні якості вакцин живих та інактивованих від бешихи свиней за показниками ефективність/імуногенність [6–7] (табл. 1).

Використання різних моделей зараження і різних за патогенністю штамів *Er. rhusiopathiae* є причиною виникнення різних клінічних ознак і різного за часом розвитку захворювання свиней на бешиху [7].

Вивчення даного питання відкриває шлях до розробки стандартного тесту зараження свиней, що дозволяє проводити контролювання якості вакцин від бешихи свиней за показниками ефектив-