

2. Між середнім діаметром м'язових волокон свиней досліджених порід відмічається певна різниця. Найбільш товсті м'язові волокна у свиней порід полтавська м'ясна (52,48 мк), ландрас (49,70 мк). Найбільш тонкі м'язові волокна (41,92 мк) у свиней великої білої породи.

3. За розвитком перимізії між м'язовими пучками та особливо волокнистих структур сполучної тканини спостерігається істотна різниця. Найбільш грубі волокнисті структури сполучної тканини у свиней миргородської породи та породи полтавська м'ясна.

Перспектива подальших досліджень. Якість м'яса значною мірою залежить від структури м'язової тканини, а цей показник вважають однією з породних ознак. Кількість і якість основних компонентів мускулатури багато в чому визначають харчові достоїнства м'яса. Співвідношення між структурними елементами м'язів є також важливим показником оцінки якості м'яса.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гистоморфология мясности свиней // Научн.тр./Ладан П.Е., Белкина Н.Н., Степанов В.И., Подьячев В.Н. – М.: Колос, 1970. – С.55-79.
2. Коваленко В.А. и др. Некоторые гистоморфологические особенности свиней разных пород и селекционных групп / Научные основы развития животноводства в СССР. Межвуз.сб.вып.15.-Минск.: Урожай. – 1985. – С.29.
3. Меркулов А. Б. Курс патогистологической техники / А. Б. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 237 с.
4. Мирчев Т. Гистологическое и электронно-микроскопическое исследование бледной дряблой водянистой свинины / Т. Мирчев, С. Витанов // Ветеринарно-медицинские науки. – София, 1987. – Т. XXIV. – С. 98.

УДК 639:615.918:633.15

МІКОБІОТА ЗЕРНОВИХ УКРАЇНИ ТА РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТОКСИГЕННИХ ФУЗАРІЇВ ПРОДУЦЕНТІВ ЗЕАРАЛЕНОНУ (F-2 ТОКСИНУ)

Розпутня О.А. – аспірантка, Білоцерківський НАУ

Постановка проблеми. В Україні зернові культури займають важливе продовольче, кормове та економічне значення в галузі сільськогосподарського виробництва, оскільки вони несуть свої унікальні біологічні властивості. У своєму складі зернові містять велику кількість висококалорійних органічних сполук – білків, вуглеводів, жирів, макро- та мікроелементів; різноманітні ферменти, а також вітаміни: В₁, В₂, В₆, С, Е тощо. Але в процесі вирощування, збирання та зберігання урожаю кожний вид зернових може уражатись токсигенними мікроміцетами – грибами родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps*, які погіршують харчову цінність та приводять до накопичення у зерні вторинних метаболітів – мікотоксинів [1]. Згодовування фуражу

із зерна, контамінованого мікотоксинами, негативно позначається на продуктивності тварин, їх репродуктивній здатності, знижує ефективність вакцинопрофілактичних та лікувальних заходів [2]. Крім того, вживання продуктів від таких тварин створює небезпеку для людей [3].

Стан вивчення проблеми. Дослідження вітчизняних та зарубіжних учених показують високу частоту ураженості харчових продуктів і кормів на всіх континентах [4, 5]. До найбільш важливих чинників, що впливають на ріст грибів і утворення токсинів, відносять температуру середовища, відносну вологість повітря, тип субстрату і його вологість, рН і тривалість зберігання. Так само враховуються географічні, погодний-кліматичні умови та сезон року [6].

Для грибів роду *Penicillium* кращими умовами для розвитку є помірні та знижені температури. У регіонах з жарким вологим кліматом, зокрема в країнах Латинської Америки, Азії, Африки і деяких частинах Австралії, найбільш розповсюджуваними є продуценти афлатоксинів [7].

У країнах з холодним та помірним кліматом, таких, як Канада, північ США, ряд європейських країн, у тому числі і в нашій країні – частіше виявляють гриби роду *Fusarium*, що здатні продукувати різні за ступенем токсичності мікотоксини: Т-2 токсин, вомітоксин, зеараленон. За даними науковців, в останні роки спостерігається зростання частоти ураження зерна грибами роду *Fusarium*, і паралельно зростає щільність популяцій високотоксигенних штамів [8].

Оскільки неможливо повністю запобігти забрудненню мікотоксинами зернових фуражних культур, переважна більшість дослідників рекомендують проводити мікологічний аналіз зерна для виявлення потенційних продуцентів мікотоксинів.

Завдання і методика досліджень. Для з'ясування питань піднятих темою даної праці було поставлено завдання дослідити мікобіоту зернових культур для встановлення розповсюдження токсигенних фузаріїв на зерні основних фуражних культур та провести пошук активних продуцентів F-2 токсину (зеараленону) з метою подальшого лабораторного дослідження і напрацювання токсину для постановки дослідів на птиці.

Зразки фуражних культур надходили з господарств різної форми власності, переважно з тих, де виникали спалахи мікотоксикозів тварин чи була підозра на їх наявність. Дослідженню було піддано проби від урожаїв 2009-2010 років. Їх відбирали відповідно ГОСТ 13586.3-83 та ДСТУ 3570-97 із господарств трьох різних географічних регіонів країни, а саме:

- Північно-Східного (Київська, Сумська та Харківська області);
- Центрального (Черкаська, Кіровоградська та Полтавська області);
- Південного (Одеська область).

За цей період усього було проведено мікологічне дослідження 100 зразків фуражних культур з них: пшениці – 48, ячменю – 15, комбікормів та преміксів – 14, кукурудзи – 10, сої – 9, та соломи – 4.

Ураженість кормів мікроміцетами визначали мікологічним методом шляхом посіву на середовище Чапека у стерильні чашки Петрі, культивуючи протягом 3 – 5 діб за температури 24 та 37 °С. Для отримання чистих культур, гриби роду *Fusarium* пересівали на скошений сусло-агар з послідуною ідентифікацією виду за допомогою визначників Білай та Підоплічко [9].

Ступінь забруднення зернових культур визначали на основі даних контамінації зернових, грибами окремих видів. Поширення окремих видів грибів визначали за формулою:

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

де:

X – частота поширення;

A – кількість зразків, у яких зустрічався вид гриба;

B – кількість досліджених зразків.

Для визначення токсичності фузаріїв, що були виділені із проб зернових, застосовували мікробіологічний метод паперових дисків, суть якого полягає в пригніченні росту чутливого до трихотеценів тест-мікроорганізму *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК. Ступінь токсичності встановлювали залежно від діаметра зон затримки росту тест-культури. У первинних посівах зерна методом агарових блоків встановлювали токсигенні колонії фузаріїв, що вирости [10].

Штами грибів роду *Fusarium* також досліджували на здатність продукувати F-2 токсин (зеараленон) розробленим нами експрес-методом [11]. Виділені штами культивували у 50-ти міліметрових пробірках на скошеному агарі Чапека, які інкубували спочатку протягом 12 діб за 24°C, а потім ще 4 доби – за 4°C.

З метою накопичення F-2 токсину штами фузаріїв, що продукували зеараленон, висівали на стерильну та зволожену зерноsumіші ячменю і кукурудзи у 100 мл колби і культивували протягом 21 доби за температури 24°C та 14 діб – за 8°C. Вирощені культури фузаріїв знезаражували в автоклаві протягом 30 хв. за 0,5 атм, після чого субстрат висушували.

Зеараленон в екстракті визначали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ), а його кількість виявляли методом конкурентного твердо фазного імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-систем RIDASCREEN FAST Zeaalenon ELISA (виробництва R-Biopharm-AG, Darmstadt, Germany).

Висушені та подрібнені екстракти екстрагували метанолом і використовували згідно з методичними рекомендаціями [12]. У випадках перевищування верхньої межі концентрації зеараленону (50 мкг/кг) проводили подальше розведення основного фільтрату до необхідного об'єму. Оптичну густину в лунках планшета по завершенні реакції визначали на аналізаторі імуноферментних реакцій «Sunrise» (Австрія) при довжині хвилі 450 нм. Концентрацію F-2 токсину вираховували по калібрувальній кривій відповідно відносному поглинанню цих розчинів з урахуванням використаних розведень.

Результати досліджень. Проведеними дослідженнями встановлено, що кормові культури значно уражені мікроскопічними грибами. У ході їх мікологічних досліджень із 100 зразків кормів було виділено 271 культури грибів, які віднесені до 8 родів та 10 видів.

Виявлена мікобіота кормів була досить різноманітна і представлена широко розповсюдженими міксоміцетами наступних родів: *Fusarium* – 65%, *Penicillium* – 55%, *Mucor* – 50%, *Alternaria alternata* – 43%, *Aspergillus* – 36%,

дещо менше зустрічалося представники родів *Micelia sterilia* – 12%, *Phoma exiqa* – 6%, *Trichotencium roseum* – 4% (табл. 1).

Із досліджуваних зразків гриби роду *Fusarium* значною мірою контамінували зерно кукурудзи та сої – 80%, 88%, дещо менше ячмінь та пшеницю – 68%. На зразках соломи відмічали 100% ураження *F. sambucinum*. Серед фузаріїв домінуючими були види *F. sporotrichellav. poae* – 27,7%, *F. moniliforme* – 18,4%, *F. oxysporum* – 15,3%, рідше зустрічався вид *F. avenaceum* – 1,5%. Крім фузаріїв до домінуючих належали гриби родів *Penicillium*, що також значно вражали сою – 88%, та кукурудзу – 50%. Контамінацію мукоральними грибами, частіше грибом *Absidia spinosa* відмічали в більшій половині зразків зерна кукурудзи. Дещо менше відмічали ураження грибом *Alternaria alternata*, який переважав в зерні ячміню – 68%, та дещо менше в пшениці. Серед кормів контамінованих аспергілами ячмінь був заражений на 50%, інші корми 30 – 42%. *Micelia sterilia*, *Phoma exiqa*, *Trichotencium roseum* були виділені в поодиноких випадках, що не перевищували 20%. Комбікорми, в порівнянні із фуражним зерном, меншою мірою були забруднені мікроміцетами, за рахунок додавання різного роду консервуючих добавок.

Таблиця 1 – Характеристика виявленої мікобіоти кормів

Види культур	Кількість проб	Мікобіота															
		Fusarium		Aspergillus.		Penicillium.		Mucor		Altern. alternata		Micelia sterilia		Phoma exiqa		Trichot. roseum	
		факт	%	факт	%	факт	%	факт	%	факт	%	факт	%	факт	%	факт	%
Пшениця	47	32	68	16	34	24	51	8	38	29	61	11	23	4	8,5	4	8,5
Ячмінь	16	11	68	8	50	7	43	7	43	11	68	1	6	2	12,5	–	–
Кукурудза	10	8	80	3	30	5	50	8	80	–	–	–	–	–	–	–	–
Соя	9	8	88	3	33	8	88	7	77	3	33	–	–	–	–	–	–
Комбікорм	14	2	14,2	6	42	10	71	7	50	–	–	–	–	–	–	–	–
Солома	4	4	100	–	–	1	25	3	75	–	–	–	–	–	–	–	–
Усього	100		65		36		55		50		43		12		6		4

Щодо розповсюдження грибів по регіонах, то в пробах кормів із центральних областей найчастіше виявляли гриби роду *Penicillium* – 78%, дещо менше їх було в господарствах північно-східних та південних (табл. 2).

Ізольовані фузарії зустрічали у вищезгаданих регіонах майже в одакових відсотках 62–66%, та дещо більше в господарствах центральних областей (74%) проб кормів було вражене фузаріозними грибами. Мукоральні гриби були виділені стовідсотково в південному регіоні та майже три четвертих у центральному. Види мікроскопічних грибів такі як – *Alternaria alternata* та *Micelia sterilia* – були виділені з проб господарств Північно-Східних областей і займали незначне місце заодно із *Phoma exiqa*, *Trichotencium roseum* – представником мітоспорових грибів.

Токсикологічними методами було проведено дослідження ізольованих фузарій – 65 штамів, які були виділені впродовж 2-х років із фуражних кормів. Для цього застосовували мікробіологічний метод паперових дисків і ступінь токсичності визначали за діаметром зон пригнічення росту чутливої до трихо-

теценових мікотоксинів тест-культури *Candida pseudotropicalis* шт. 44 ПК. Із них токсичними виявилися лише 3 штами (4,6%), що утворювали зони затримки росту тест-культури діаметром 20 мм. і належали до видів *F.graminearum* та *F. moniliforme*. До слаботоксичних (діаметр зон в межах 9-11 мм) належало 27 (41,5%), а решта були атоксичними не утворювали зон затримки росту 33 штами (50,7%).

Таблиця 2 – Розповсюдження мікроскопічних грибів в кормах по різних регіонах України

Регіон	К-ть зразків		Fusarium		Aspergillus		Penicillium		Mucor		Altern. alternata		Micelia sterilia		Phoma exiua		Trichot. roseum		
	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	
Північно-східний	74	46	62	22	46,8	35	47	31	42	32	43,2	12	16,2	5	6,7	4	5,4		
Центральний	23	17	74	14	60,8	18	78	16	69,5	5	21,7	–	–	–	–				
Південний	3	2	66	–	–	2	66	3	100	1	33	–	–	1	33				
Усього	100	65		36		55		50		38		12		6		4			

Здатність фузаріїв продукувати зеараленон (F-2 токсин) було визначення експрес-методом. Дослідженням встановлено, що з виділених культур грибів роду *Fusarium* 9 штамів продукували зеараленон (табл. 3). Усі продуценти належать до трьох видів, два з яких *F. culmorum*, *F. graminearum* – до секції *Discolor*, а два інших – *F. moniliforme*, *F. oxysporum* – до секції *Elegans*.

Таблиця 3 - Видовий склад і токсичність виділених штамів грибів роду *Fusarium*

Види та різновиди фузарій	Досліджено штамів		Ступінь токсичності			Продукували зеараленон	
	n	%	атоксичні	слабо токсичні	токсичні	штами	кількість (мг/кг)
<i>F. avenaceum</i>	1	1,5	1	–	–	–	
<i>F. culmorum</i>	3	4,6	–	3	–	–	
<i>F. graminearum</i>	6	9,2	2	2	2	2	11,7–240
<i>F. moniliforme</i>	12	18,4	3	8	1	3	15–381,2
<i>F. oxysporum</i>	10	15,3	2	8	–	4	9,5–12
<i>F. sambucinum</i>	3	4,6	3	–	–	–	
<i>F. sporotrichella</i> v. <i>poae</i>	18	27,7	14	4	–	–	
<i>F. sp-la</i> v. <i>tricinatum</i>	4	6,2	4	–	–	–	
<i>F. spp.</i>	8	12,3	4	4	–	–	
Всього	65		33	27	3		

Методом ІФА була підтверджена здатність цих 9 штамів продукувати зеараленон, та встановлено, що найбільшу кількість токсину (15–381,2 мг/кг) синтезували види *F. moniliforme*. Дещо менше зеараленону продукували *F. graminearum* (11,7–240 мг/кг). Решта досліджених фузаріїв синтезували F-токсин у кількості від 9,5–12 мг /кг.

Деякі із досліджуваних штамів фузарій були виділені з господарств Київської області, де у свиней усіх статевих вікових груп, а особливо підсвинків 2–5-місячного віку, спостерігали ознаки естрогенізму.

Крім того, в одному з господарств Черкаської області, раціон яких постійно був повноцінним і збалансованим за основними поживними речовинами, спостерігали випадок зниження вмісту жиру в молоці корів. У подальшому була встановлена причина – контамінація згодовуваної зерноsumіші фузаріотоксинами, у т. ч. і зеараленону [13].

Висновки та пропозиції.

1. За період досліджень мікобіота кормів була представлена міксоміцетами шести наступних родів: *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria alternata*, *Micelia sterilia*, *Phoma exigua*, *Trichotencium roseum*.

2. У різних регіонах нашої держави розповсюдження мікроскопічних грибів у кормах господарств суттєво різнилася за рахунок неідентичних кліматичних умов

3. Сучасними методами досліджень з'ясовано, що із 9 штамів фузарій здатних продукувати зеараленон, максимальну кількість токсину (15-381,2 мг/кг) синтезували види *F. moniliforme* та *F. graminearum* (11,7-240 мг/кг).

Перспектива подальших досліджень. Найбільш активні продуценти F-2 токсину будуть у подальшому використовуватися для напрацювання токсину для постановки дослідів на птиці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Левитин М.М. Микотоксины фитопатогенных грибов и микотоксикозы человека / М.М Левитин // Успехи медицинской микологии. – 2003. – Т.1. – С. 148-150.
2. Гогин А.Е. Микотоксикозы: значение и контроль / А.Е. Гогин // Ветеринария. – 2006. – №3. – С. 9-11.
3. Mycotoxins: their implication for human and animal health / J. Fink-Grem Mels // Veterinary Quarterly. – 1999. – V. 21. – P. 115-120.
4. Куцан О. Грибкове ураження зернових та кормів / О. Куцан, Г. Шевцова, М. Ярошенко // Тваринництво України. – 2009. – №3. – С. 24-27.
5. Тремасов, М.Я. Профилактика микотоксикозов животных в Республике Мари / М.Я. Тремасов // Ветеринария. — 2005. – №8. – С. 6-7.
6. Диаз Д. Микотоксины и микотоксикозы / Д. Диаз. – М.: Печатный город, 2006. – 382 с.
7. Smith E. The toxigenic aspergilli. In: Mycotoxins and Animal Foods / I.E. Smith, K Ross, R.S. Henderson // CRC Press, Boca Raton, FL. – 1991. – P. 101-139.
8. Монастырский О.А. Зараженность семян токсинообразующими грибами / О.А. Монастырский // Агро XXI. – 2000. – № 4. – С. 6 -7.

9. Билай В.И. Токсинообразующие микроскопические грибы / В.И. Билай, И.М. Пидопличко. – К.: Наукова думка, 1970. – 289 с.
10. Котик А.М. Методичні рекомендації щодо якісного та кількісного визначення Т-2 і НТ-2 токсинів у зерні та комбікормах / А.М. Котик, В.О.Труфанова, Ю.М. Новожицька. – Затверджено Державним департаментом ветеринарної медицини України 30.12.2005 за №125.
11. Рухляда В.В. Методичні рекомендації з експресного визначення здатності грибів роду *Fusarium* продукувати F-2 токсин / В.В. Рухляда, А.В. Андрійчук, А.В. Білан, Ю.М. Новожицька, С.А. Білик, Д.М. Островський, О.А. Розпутня. – Затверджено НМР Державного комітету ветеринарної медицини України (Прот. №1 від 23.12. 2010. – 14 с.
12. Ridascreen fast Zearalenon. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of DON. Darmstadt: R-Biopharm-AG. – 2010. – 24 p.
13. Вплив фузаріотоксинів на гематологічний статус корів із зниженим вмістом жиру в молоці / [В.В. Рухляда, В.В. Головаха, А.В.Андрійчук, О.В. Піддубняк, О.А. Розпутня] // Ветеринарна медицина України. – 2012. – №12. – С. 31-33.

УДК: 636.2: 546.23: 620.3

БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ КОРІВ, ЇХ ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ЯКІСТЬ МОЛОКА ЗА ЗГОДОВУВАННЯ РІЗНОЇ КІЛЬКОСТІ НАНОАКВАЦИТРАТУ СЕЛЕНУ

*Хомин М.М. - к. б. н., с. н. с.,
Інститут біології тварин НААН, м. Львів*

Постановка проблеми. Техногенне забруднення середовища, радіація, присутність токсичних речовин, вірусні та бактеріальні захворювання, а також порушення годівлі можуть викликати в організмі тварини оксидативний стрес, що характеризується утворенням надлишку вільних радикалів, які спричиняють пошкодження мембран клітин, а отже і тканин організму. Однак наявність природних і введення екзогенних антиоксидантів оптимізує метаболічні процеси в організмі [1-3].

Як відомо, селен є сильнопдіючим антиоксидантом. Він входить до складу антиоксидантного ферменту глутатіонпероксидази (GSH-Px), який запобігає утворенню вільних радикалів. Активність цього ензиму у тканинах організму залежить від кількості спожитого селену. Останній покращує антиоксидантний захист організму, функції імунної системи та бере участь в утворенні та підтриманні на відповідному рівні системи антиоксидантного захисту, формуванні біологічної цінності молока [3-5].

Стан вивчення проблеми. Ураховуючи широкий фізіологічний спектр впливу Se у якості добавки для сільськогосподарських тварин, використовувався неорганічний селен. Однак, застосування мінеральної форми селену має певні об-