

УДК 639:616.982.17

DOI: 10.31073/vet\_biotech42-05

ЗАХАРОВА О.М., канд. біол. наук, e-mail: olga\_zm@ukr.net,

ТАРАСОВ О.А., канд. вет. наук, e-mail: ast97@ukr.net,

ЯНГОЛЬ Ю.А., мол. наук. сп., e-mail: yangol@ukr.net,

Інститут ветеринарної медицини НААН

## ВИВЧЕННЯ ВИДОВОГО СКЛАДУ ГРИБІВ РОДУ *FUSARIUM* В ЗРАЗКАХ ЗЕРНА КУКУРУДЗИ В УКРАЇНІ

У статті представлені результати дослідження зерна кукурудзи на предмет контамінації мікроскопічними грибами роду *Fusarium*. В результаті досліджень зразків зерна кукурудзи з різних областей України (Київська, Вінницька, Одеська, Херсонська) нами встановлено видовий склад грибів роду *Fusarium* та виявлено 7 видів, серед яких переважали *F. graminearum* –  $33,25 \pm 3,1\%$ , *F. moniliforme* –  $24,25 \pm 2,46\%$ , *F. avenaceum* –  $15,00 \pm 3,16\%$  та *F. sporotrichioides* –  $15,00 \pm 1,58\%$ .

Встановлено, що кількість ДОН-продукуючих ізолятів була найбільшою та складала 52,94% від ідентифікованих токсин-продукуючих ізолятів, продуценти Т-2 токсину склали 23,53%, а продуценти зеараленону – 17,65% від загальної кількості всіх токсин-продукуючих ізолятів.

**Ключові слова:** *Fusarium*, фумонізін, токсигенність, зернова продукція, контамінація.

**Вступ.** Сьогодні забезпечення якості тваринницької продукції та кормів є надзвичайно важливою проблемою, оскільки накопичення мікроскопічних грибів та токсинів несе небезпеку для тварин та людей. Важливість проблеми обумовлюється невизначеністю ризиків в зв'язку із кліматичними змінами, що відбуваються протягом останнього десятиріччя [1, 2]. Одними з найпоширеніших чинників мікотоксикозів тварин є мікроскопічні гриби роду *Fusarium*, які є продуцентами ряду токсинів, здатних накопичуватись в зерні [3–5].

Згідно з літературою, наявність токсинів у зернових та кормах негативно впливає на здоров'я тварин, оскільки може призводити до втрати продуктивності та зниження резистентності до інфекцій [6].

Оцінка ризиків мікотоксикозів залежить не лише від біологічних властивостей збудників, але й від стійкості токсинів та періоду їх розкладу в навколишньому середовищі та зерновій продукції [7, 8].

Певні кліматичні зміни, які спостерігаються останні роки в зв'язку із глобальним потеплінням, сприяють розвитку мікроскопічних грибів різних таксономічних груп, в тому числі роду фузаріум [9].

Дослідження видового складу мікроскопічних грибів різних таксономічних груп є важливим для оцінки переважання токсинпродукуючих варіантів та загального розподілу небезпечних видів, оскільки в природі можлива антагоністична активність певних родів [10].

Для дослідження грибів, які виробляють мікотоксини, сьогодні використовують загальноприйняті методи мікотоксикології, молекулярної біології, хроматографії та серології [11, 12].

Оскільки питання профілактики мікотоксикозів є важливим для ветеринарної та гуманної медицини, дослідження видового складу грибів, що виробляють мікотоксини, є важливим заходом для оптимізації підходів до запобігання забрудненню кормів.

**Метою роботи** було дослідити видовий склад мікроскопічних грибів роду *Fusarium* в зерні кукурудзи, отриманої з різних областей України протягом 2020–2021 років.

**Матеріали та методи досліджень.** Для досліджень використовували 98 зразків зерна кукурудзи з різних областей України (Київська, Вінницька, Одеська, Херсонська), які надходили для визначення вмісту мікотоксинів в кормах впродовж 2020–2021 років.

Виділення мікроскопічних грибів проводили із використанням загальноприйнятих мікробіологічних методів із застосуванням поживних середовищ Чапека та Сабуро, які готували згідно рекомендацій виробника (HiMedia, Індія).

Видову ідентифікацію виділених ізолятів проводили за мікроскопічними, культуральними, біохімічними властивостями загальноприйнятими методами.

Наважки корму гомогенізували в блендері та суспендували в фізіологічному розчині і висівали на щільні середовища Чапека і Сабуро в чашках Петрі по 0,1 см<sup>3</sup> суспензії. Крім того, посіви проводили методом розкладки окремих зерен на поживні середовища в чашках Петрі. Посіви інкубували за температури 24,0±2,0°C протягом 14 діб, після чого проводили підрахунки колоній та ідентифікацію до виду.

Наявність та концентрацію мікотоксинів в зразках зерна визначали методом ІФА за допомогою тест-систем RIDASCREEN FAST Zearalenon (R1401), RIDASCREEN FAST T-2 Toxin (R5302) та RIDASCREEN®FAST DON SC (R5905) (R-Biopharm-AG, Germany) згідно інструкції виробника на рідері для імуноферментного аналізу BioRad ( $\lambda=450$  нм).

Отримані результати обробляли із застосуванням загальних методів описової статистики з використанням програмного пакету «R-studio» (<https://www.r-project.org/>).

**Результати досліджень та їх обговорення.** За результатами проведеного дослідження в досліджених зразках зерна кукурудзи було виявлено та ідентифіковано наступні види грибів роду *Fusarium*: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides*.

Серед встановлених видів найбільш розповсюдженим був *F. graminearum*. Цим видом було уражено від 25,0% до 39,0% зразків, отриманих з різних областей України, що відносяться до різних еколого кліматичних регіонів. Результати представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Розповсюдження ідентифікованих видів *Fusarium* у зразках зерна кукурудзи по регіонах України, %**

Назва мікроміцета продуцента	Київська область	Вінницька область	Харківська область	Одеська область	Середні значення
<i>Fusarium graminearum</i>	32	37	39	25	33,25 ± 3,1
<i>Fusarium moniliforme</i>	23	23	31	20	24,25 ± 2,46
<i>Fusarium avenaceum</i>	19	18	5	18	15,00 ± 3,16
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	15	10	20	15	15,00 ± 1,58
<i>Fusarium culmorum</i>	6	8	4	10	7,00 ± 1,29
<i>Fusarium langsethiae</i>	4	3	1	7	3,75 ± 1,10
<i>Fusarium tricinctum</i>	1	1	0	5	1,75 ± 0,85

В результаті досліджень зразків зерна кукурудзи із Київської області встановлено переважання штамів *F. graminearum* – 32,0%, *F. moniliforme* – 23,0%, *F. avenaceum* – 19,0% та *F. sporotrichioides* – 15% від всіх виділених ізолятів. У зразках проб із Вінницької області виявлено присутність *F. graminearum* у 37,0%, *F. moniliforme* – 23,0%, *F. avenaceum* – 20,0%. В зразках із Харківської області виявлено ізоляти *F. graminearum* у 39,0%, *F. moniliforme* – 31,0%, *F. sporotrichioides* – 20,0%. Досліджені зразки зерна з Одеської області були контаміновані *F. graminearum* – 25,0%, *F. moniliforme* – 20,0%, *F. avenaceum* – 18,0% та *F. sporotrichioides* – 15,0%.

Результати дисперсійного аналізу показують, що для всіх видів грибів р-значення є достовірним (р < 0,05), що свідчить про наявність статистично значущих різниць в їх кількісному вмісті між зразками із різних областей. Значення коефіцієнту дисперсії для кожного виду грибів були наступні: *F. graminearum* – 88,85%; *F. moniliforme* – 22,08%; *F. avenaceum* – 0,29%; *F. sporotrichioides* – 9,46%; *F. culmorum* – 2,82%; *F. langsethiae* – 3,54%; *F. tricinctum* – 0,55%.

У результаті проведених дослідів було виділено 17 ізолятів грибів роду *Fusarium* здатних продукувати мікотоксини: ДОН, зеараленон та Т-2 токсин. Результати наведені в таблиці 2

Таблиця 2

**Результати визначення вмісту токсин-продукуючих ізолятів мікроскопічних грибів роду *Fusarium***

Мікотоксини	Загальна кількість токсинпродукуючих ізолятів	Відношення токсинпродукуючих ізолятів до загальної кількості виділених ізолятів грибів роду <i>Fusarium</i> , %	Концентрація мікотоксинів мг/кг (мінімальна та максимальна визначена)
ДОН	9	52,94%	18,0–420,0
Зеараленон	3	17,65%	10,0–180,0
Т-2 токсин	4	23,53%	11,0–220,0

В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість дезоксиниваленол (ДОН) – продукуючих ізолятів була найбільшою та складала 28,12% від досліджуваних токсин-продукуючих ізолятів. Продукенти зеараленону складала 9,37% від всіх токсинпродукуючих ізолятів, а Т-2 токсину – 12,5%. При цьому слід зазначити, що серед всіх виділених ізолятів мікроскопічних грибів роду фузаріум доля токсин продукуючих не переважає 10%.

При вивченні інтенсивності накопичення фузаріотоксинів встановлено, що найбільш кількість токсину була зафіксована на рівні 420 мг/кг.

Основними причинами поширення токсинпродукуючих мікроскопічних грибів роду *Fusarium* ми вбачаємо в порушенні вимог до систем землеробства, а також недотриманні санітарних норм зберігання зерна.

Слід зазначити, що згідно діючого законодавства, кількість міцелярних грибів санітарною оцінкою зерна не регламентується, а регламентується лише допустимі концентрації мікотоксинів.

**Висновки та перспективи подальших досліджень:**

1. В результаті досліджень зразків зерна кукурудзи з різних областей України (Київська, Вінницька, Одеська, Херсонська) нами встановлено видовий склад грибів роду *Fusarium* та виявлено 7 видів, серед яких переважали *F. graminearum* – 33,25±3,1%, *F. moniliforme* – 24,25±2,46%, *F. avenaceum* – 15,00±3,16%, *F. sporotrichioides* – 15,00±1,58%.

2. Встановлено, що кількість ДОН-продукуючих ізолятів була найбільшою та складала 52,94% від ідентифікованих токсин-продукуючих ізолятів, продуценти Т-2 токсину складала 23,53%, а продуценти зеараленону – 17,65% від загальної кількості всіх токсин-продукуючих ізолятів.

Отримані дані будуть використані при створенні методичних рекомендацій щодо профілактики мікотоксикозів тварин.

**STUDY OF THE SPECIES COMPOSITION OF FUNGI OF THE GENUS FUSARIUM IN SAMPLES OF CORN GRAIN IN UKRAINE / Zakharova O., Tarasov O., Yangol Yu.A.**

**Introduction.** *The risk assessment of mycotoxicosis depends not only on the biological properties of pathogens, but also on the persistence of toxins and their decomposition period in the environment and grain products.*

*Certain climatic changes observed in recent years due to global warming contribute to the development of microscopic fungi of various taxonomic groups, including the genus Fusarium. Since the prevention of mycotoxicosis is important for veterinary and human medicine, the study of the species composition of mycotoxin-producing fungi is an important measure to optimize approaches preventing feed contamination.*

**The goal of the study** was to investigate the species composition of microscopic fungi of the genus *Fusarium* in corn grain obtained from different regions of Ukraine.

**Materials and methods.** For the research, 98 samples of corn grain from different regions of Ukraine (Kyiv, Vinnytsia, Odesa, Kherson) were used to determine mycotoxin content in feed.

The study of cultural properties was carried out using generally accepted microbiological methods with cultivation on *Chapek* and *Sabouraud* media, which were prepared according to the manufacturer's guidelines (*HiMedia, India*).

Species identification of selected isolates was carried out by microscopic, cultural, biochemical properties using generally accepted methods. Toxin production was detected by ELISA test using *RIDASCREEN FAST Zearalenon (R1401)* and *RIDASCREEN FAST T-2 Toxin (R5302)* and *RIDASCREEN®FAST DON SC (R5905)* test kits (*R-Biopharm-AG, Germany*) according to the manufacturer's guidelines using *BioRad* reader at  $\lambda=450$  nm.

The results of experimental studies are processed by conventional methods of statistics.

**Results of research and discussion.** According to the results of the study, the following species of fungi of the genus *Fusarium* were detected and identified in the examined samples of corn grain: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. sporotrichioides*.

Among the identified species, *F. graminearum* was the most common. This species affected from 25.0 to 39.0% of the samples obtained from different regions of Ukraine belonging to different ecological and climatic regions.

As a result of the study of corn grain samples from Kyiv region, the predominant amount of *F. graminearum* was 32.0%, *F. moniliforme* – 23.0%, *F. avenaceum* – 19.0% and *F. sporotrichioides* – 15% of all isolates. In the samples from Vinnytsia region, the presence of *F. graminearum* was 37.0%, *F. moniliforme* – 23.0%, *F. avenaceum* – 20.0%. In the samples from Kharkiv region, isolates of *F. graminearum* were detected in 39.0% of samples, *F. moniliforme* – 31.0%, *F. sporotrichioides* – 20.0%. The investigated grain samples from Odesa region were contaminated with *F. graminearum* – 25.0%, *F. moniliforme* – 20.0%, *F. avenaceum* – 18.0% and *F. sporotrichioides* – 15.0%.

As a result of the experiments, 17 isolates of *Fusarium* fungi capable of producing mycotoxins were isolated: DON, zearalenone and T-2 toxin.

**Conclusions and prospects for further research.** As a result of the study of corn grain samples we established the species composition of fungi of the genus *Fusarium* and identified 7

species, among which *F. graminearum* 33.25 ± 3.1%, *F. moniliforme* – 24.25 ± 2.46%, *F. avenaceum* –15.00 ± 3.16%, *F. sporotrichioides* –15.00 ± 1.58% prevailed.

It was found that the number of DON-producing isolates was the largest and accounted 52.94% of the identified toxin-producing isolates, T-2 toxin producers rate was 23.53%, and Zearalenone producers – 17.65% of the total number of all toxin-producing isolates.

The data obtained will be used to create guidelines for the prevention of mycotoxicosis in animals.

**Keywords:** *Fusarium*, microscopic fungi, toxigenicity, corn feed, contamination.

## REFERENCES

1. Vasjanovich, O.M., Korzunenko, O.F. & Obrazhej, A.F. (2003). Monitoringovi doslidzhennja mikrobioti kormiv z riznih regioniv Ukrainy [Monitoring researches of mycobiota feeds from different regions of Ukraine]. *Veterinarna biotekhnologija – Veterinary Biotechnology*, 4, 27-30 [in Ukrainian].
2. Andriychuk, A.V., Bilan, A.V., & Sydorchu, P.I. (2011). Toksyhenni vlastyvoli mikromitsetiv zerna pshenytsi ta yachmeniu [Toxicogenic properties of mycromicetes of cereal grain and barley]. *Vysnyk agraroi nauky – agrarian science bulletin*, 9, 22-24 [in Ukrainian].
3. Dvorskaya, U. (2016). Mycotoksini v kormsah vliianie na givotnih [Mycotoxins in feed: impact on animals]. *Efektivny kormy ta godivlia – Effective feeds and feeding*, 2, 34-38 [in Russian].
4. Trufanov, O.V. (2011). Monitoring zagriaznennosti mycotoksinamy zerna i kormov v Ukraine v 2005-2010 godah [Monitoring of cereals and feed with mycotoxines contamination in Ukraine in 2005-2010]. *Suchasni problemy toksikologii – Contemporary problems of toxicology*, 1-2, 55-59 [in Ukrainian].
5. Ji, F., He, D., Olaniran, A.O. et al. (2019). Occurrence, toxicity, production and detection of *Fusarium* mycotoxin: a review. *Food Prod Process and Nutr.*, 1, 6. <https://doi.org/10.1186/s43014-019-0007-2>.
6. Ahangarkani, F., Rouhi, S., & Azizi, I.G. (2014). A review on incidence and toxicity of fumonisins. *Toxin Reviews*, 33, 6. <https://doi.org/10.3109/15569543.2013.871563>.
7. Apatenko, V. (2011). Nebezpechni mikotoksini [Dangerous mycotoxins]. *Agrobiznes sгодni – Agribusiness today*, 1-2, 18-20 [in Ukrainian].
8. Chauhan, R., Singh, J., Sachdev, T., Basu, T., & Malhotra, B. D. (2016). Recent advances in mycotoxins detection. *Biosensors & Bioelectronics*, 81, 532-545. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.004>.
9. Chen, Y., Chen, Q., Han, M., Zhou, J., Gong, L., Niu, Y., Zhang, Y., He, L., & Zhang, L. (2016). Development and optimization of a multiplex lateral flow immunoassay for the simultaneous determination of three mycotoxins in corn, rice and peanut. *Food Chemistry*, 213, 478-484. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.116>.
10. Feng, Y.Z., Lu, X.H., Tao, B., Pang, M.H., Liu, Y.C., & Dong, J.G. (2011). Natural occurrence of fumonisins b1 and b2 in corn from three main production provinces in China. *Journal of Food Protection*, 74, 5. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-103>.
11. Escriva, L., Font, G., & Manyes, L. (2015). In vivo toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 185-206. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.005>.
12. Anfossi, L., Giovannoli, C., & Baggiani, C. (2016). Mycotoxin detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.11.005>.