



Рослинництво, кормовиробництво

УДК 631.56,633.11:
16:636.085.2

© 2023

НАСЛІДКИ НАЯВНОСТІ ТОКСИКОГЕННИХ ПЛІСНЯВИХ ГРИБІВ У ЗЕРНІ

Л.П. Чорнолата¹, Л.Г. Погоріла²

¹кандидат сільськогосподарських наук
Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН
просп. Юності, 16, м. Вінниця, 21100, Україна
e-mail: ¹l.chornolata@gmail.com, ²Pogorila@ukr.net
ORCID: ¹0000-0002-6970-2233, ²0000-0002-8480-4289

Надійшла 05.08.2022

Мета. Дослідити, як змінюється вміст фузаріозного зерна і продуктів життєдіяльності гриба роду *Fusarium* у пшениці під час її зберігання. Встановити, в яких межах варіює кількість мікотоксинів у зерні пшениці, вирощеної у Вінницькій обл. **Методи.** У наважках, виділених із середніх проб, за допомогою лупи (збільшення у 4,5 рази) та мікроскопа типу МБС (збільшення у 100–150 разів) за достатнього освітлення виділяли зерно з ознаками фузаріозу. Наявність мікотоксинів визначали імуноферментним методом, який передбачає використання тест-систем і аналізатора Sunrise. **Результати.** Серед зразків зерна пшениці, досліджених у 2019 р., 45,2% були вражені фузаріозним грибом, досліджених у 2020 р. — 71,4%, а серед досліджених у 2021 р. — 87,5%. Тобто спостерігається тенденція до збільшення кількості зерна, ураженого грибами роду *Fusarium*. Але якщо у 2019 р. траплялися зразки з часткою фузаріозного зерна до 11%, а у 2020 р. — до 18, то у 2021 р. максимальне ураження становило 8,1%. Тобто існують різні фактори впливу на поширення цих грибів, і їх необхідно вивчати. Встановлено, що під час зберігання пшениці, яка містить 0,7% фузаріозного зерна, її зараженість грибом зростає — це підтверджується підвищенням показника смітної домішки. В такому зерні зменшується масова частка білка і зростає кількість мікотоксинів. Так, вміст дезоксиніваленону може зрости до 2,92 мг/кг, тобто у 2,6 рази, що значно перевищує його допустимий рівень (1–2 мг/кг) у фуражному зерні. Проведені дослідження, під час яких установлено, що в зерні пшениці, яке закладається на зберігання і має у своєму складі 0,5% фузаріозного зерна, вміст дезоксиніваленону зростає у 3–4 рази, зеараленону — у 7,3, Т-2 токсину — у 30 разів. **Висновки.** Впродовж останніх трьох років спостерігається підвищення зараженості зерна злакових культур фузаріозом і, як наслідок, зростання вмісту мікотоксинів у ньому. Встановлено, що у зерні, ураженому на 0,5% фузаріозом, після 3 міс. зберігання може міститися до 3,51 мг/кг дезоксиніваленону, 3,51 зеараленону та до 0,6 мг/кг Т-2 токсину. Слід пам'ята-

ти, що зерно, яке закладається на зберігання і уже містить мікотоксини, буде накопичувати їх і надалі, тому контроль такого зерна на кількість продуктів життєдіяльності грибів є обов'язковим.

Ключові слова: зерно пшениці, зберігання, фузаріоз, мікотоксини, дезоксиніваленон, зеараленон, Т-2 токсин.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agroviznyk202304-03>

В останні роки спостерігається погіршення фітосанітарного стану посівів злакових культур. Зокрема, зросли кількість хвороб та масштаби нанесеної ними шкоди. Йдеться насамперед про гельмінтоспоріоз, септоріоз, пітім, борошнисту росу, офіобольоз, альтернаріоз, сажку і фузаріози. У мікологічному комплексі найбільш поширеними, шкодочинними та дослідженими є гриби роду *Fusarium*: *graminearum*, *culmorum*, *sambucinum*, *solani*, *heterosporum*, *gibbosum*, *sporotrichiella*, *avenaceum*, *verticillioides*, *moniliforme*. Тому, якщо мова йде про фузаріоз, слід розуміти, що це понад 20 видів подібних за будовою і розвитком мікроорганізмів, які крім спільних загальних характеристик мають і певні особливості — вони проявляються у сприятливих для цього умовах. Важливо, що далеко не кожний із цих забруднювачів залишає по собі видимий слід. А тому візуальна діагностика дає недостатньо повну інформацію. Існує думка [1], що на домінуючу позицію виходять види, які можуть розвиватися у посушливих погодних умовах. Вони шкодять насінневному матеріалу та є продуцентами трихотецинових мікотоксинів (дезоксиніваленону, зеараленону, фумінізину, Т-2 токсину та ін.), що становлять серйозну загрозу життю людей і тварин [2]. Доведено, що представники роду *Fusarium* здатні втричі швидше синтезувати і накопичувати мікотоксини за температури 26–28°C. Гриби цього роду розповсюджуються через недотримання технологій вирощування сільськогосподарських культур, порушення процесів заготівлі та умов зберігання. Розвиток і кількість тих чи інших мікроміцетів залежить від вологості, температури, аерації, цілісності та стану покривних тканин зерна, вмісту в ньому поживних речовин, тривалості зберігання. За даними багатьох дослідників, гриби не розвиваються за вологості зерна нижче 12% і температури нижче 10°C, але деякі

види, зокрема *Penicillium* і *Aspergillus*, здатні розвиватися навіть за мінусових температур [3]. Оптимальна температура для продукування грибами мікотоксинів — 27–30°C, хоча їх синтез можливий як за нижчих її значень (12–13°C), так і за більш високих (40–42°C). Причому низькі температури лише затримують ріст основної маси грибів у зерні, а за сприятливих умов (самозігрівання, поява будь-якої вільної вологи) їх розвиток стрімко активізується.

Важливо пам'ятати, що життєдіяльність пліснявих грибів у зерні та бобах супроводжується виділенням тепла, яке утворюється під час гідролізу й окиснення органічних речовин. Часто при цьому у вологому зерні виникають процеси самозігрівання, що прискорюють мікробіологічні процеси. Самозігрівання здебільшого супроводжується зміною кількісного і видового складу мікроміцетів. Джерелом зараження зерна грибами є ґрунт, в першу чергу ділянки навколо коріння — ризосфера. Часто гриби з ризосфери переходять на наземні органи рослини — стебла, листя, пізніше — на насіння і, як правило, у внутрішню частину рослинного організму, провокуючи різні захворювання. Вони є паразитами, а тому діляться на облигатні і факультативні. Перші розвиваються лише на вегетуючих рослинах, але впливають на зберігання зерна, адже воно менш стійке до дії різних мікроорганізмів: спорині, іржі, головневих грибів. Факультативні ж паразити розвиваються як сапрофіти — і після вегетації рослини. А тому мікотоксини, продукти їхньої життєдіяльності, накопичуються під час росту зерна, після його збирання та під час зберігання [4]. В Україні діють стандарти на допустимі рівні мікотоксинів у зерні. Так, згідно з ДСТУ 3768-98. Пшениця, допустимий рівень афлатоксину становить 0,005 мг/кг, дезоксиніваленолу — 0,5–1,0, зеараленону — 1,0, Т-2 токсину — 0,1 мг/кг.

Оскільки ці речовини мають загальнотоксичну, мутагенну, тератогенну, канцерогенну, епатотоксичну, нефротоксичну, нейротоксичну, імунодепресивну та репротоксичну дію, їх слід обов'язково контролювати і докладати максимум зусиль для зниження їх кількості у зерні та будь-якій рослинній сировині. Неможливо спрогнозувати, як певний мікотоксин вплине на той чи інший організм. Установлення зв'язку між симптомами хвороби та мікотоксинами ускладнюється тим, що деякі з них взаємодіють із рослинними сполуками, завдяки чому маскуються і стають непомітними. Небезпека полягає і в тому, що це контамінанти, які здатні поступово накопичуватися в організмі тварини чи людини, а згодом, досягнувши «критичної кількості», спричинити значну шкоду здоров'ю [5, 6].

Мета роботи — дослідити зв'язок між умістом мікотоксинів у зерні та зараженістю його грибами, вивчити, як змінюється зараженість зерна пшениці під час зберігання і яка кількість мікотоксинів накопичується при цьому.

Матеріали та методи досліджень. Дослідні роботи проводили у лабораторії моніторингу якості кормів та сировини Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН у відповідності до ДСТУ 3768:2019 та ДСТУ 3769-98 [7, 8]. Від партії фуражного зерна відбирали проби згідно з ДСТУ ISO 13690 [9]. З таких точкових проб формувалася середня проба масою не менш як 2 кг. Із середньої проби, звільненої від крупної смітної домішки, виділялася наважка масою $50 \pm 0,1$ г. Користуючись лупою зі збільшенням у 4,5 рази, за достатнього освітлення виділяли зерна з ознаками фузаріозу, альтернаріозу, бактеріозу, септоріозу. Користуючись мікроскопом типу МБС зі збільшенням у 100–150 разів знаходили спори грибів, у тому числі і сажки. Вміст мікотоксинів визначали у зразках зерна злакових культур (пшениці, ячменю, кукурудзи) урожаю трьох останніх років. Їх зберігали у належних умовах при відповідній температурі та вологості повітря. Уміст мікотоксинів визначали імуноферментним методом із застосуванням аналізатора Sunrise. Цей метод передбачає використання тест-систем (виробництва компанії Neogen), що дають змогу визначати шість основних

мікотоксинів: афлотоксин, дезоксиніваленон, зеараленон, фумонізін, охратоксин, Т-2 токсин. В його основу покладено принцип приєднання до антитіл ферментної мітки, що дає можливість враховувати результат реакції антиген–антитіло завдяки виявленню ферментативної активності або змін її рівня. Антитіло є специфічним для кожного виду мікотоксину.

Результати досліджень та їх обговорення. Мікотоксини належать до речовин біологічної природи, що продукуються грибами, зокрема роду *Fusarium*. Фузаріоз супроводжує культуру протягом усього періоду її вегетації, міститься в зібраному врожаї й обов'язково впливає на показники якості та безпеки зерна. Результати дослідження пшениці, вирощеної у Вінницькій обл. впродовж останніх трьох років, свідчать про тенденцію до збільшення кількості зерна, враженого фузаріозним грибом.

Згідно зі згадуваним стандартом, допустимий рівень зараженого фузаріозом зерна у пшениці першого і другого класу не повинен перевищувати 0,3%, третього — 0,5, а четвертого класу — 1,0%. Показник смітної домішки фузаріозного зерна свідчить про те, що у пшениці урожаю 2019 р. кількість фузаріозного зерна на 45,2% перевищує допустимі норми. Аналогічні дослідження, проведені на зразках пшениці урожаю 2020 р., показали, що кількість зерен, уражених фузаріозним грибом, була на рівні 71,4%, а на зразках урожаю 2021 р. — 87,5%. Тобто спостерігається тенденція до збільшення вмісту ураженого зерна. Але якщо у 2019 р. траплялися зразки з умістом фузаріозного зерна до 11,0%, а у 2020 р. — до 18,0%, то у 2021 р. максимальне ураження не перевищувало 8,1%. Тобто поширення грибів роду *Fusarium* у зерні пшениці в значній мірі залежить від різних факторів, у тому числі від погодних умов.

Не менш важливими факторами впливу на поширення фузаріозу є підготовка зерна до зберігання та самі умови зберігання. Найоптимальніший уміст вологи у зерні пшениці — не більше 14%; якщо ж волога на 2–3% вища, то зерно починає швидко втрачати свою якість. Для підтримання належної вологості зерна слід використовувати аерацію, вентиляцію, охолодження, хімічне

обеззаражування й консервування. Так, після 2 міс. зберігання зерна пшениці показник смітної домішки з 1,2%, а фузаріозних зерен — з 0,7% зріс до 1,92% і 1,83% відповідно. Фактично все зіпсоване зерно, яке, згідно зі стандартом, належить до смітної домішки, було уражене фузаріозом. Показник смітної домішки зріс у 1,6 раза, а кількість фузаріозного зерна — більш ніж у 2,5 раза. При цьому масова частка клейковини, показник її якості — ІДК, число падіння і натура зерна залишилися практично незмінними (таблиця). Але масова частка білка знизилася на 8,6%, а вміст мікотоксинів підвищився. Маючи дані, що вміст фузаріозного зерна становить 0,7%, визначили кількість дезоксиніваленону. Адже якщо зерно уражене фузаріозом, то в ньому обов'язково присутні мікотоксини. Слід враховувати, що гриби роду *Fusarium* продукують кілька мікотоксинів, один з яких — це дезоксиніваленон. Його вміст відповідав рівню 1,12 мг/кг, притому що його допустимий рівень у продовольчому зерні пшениці, згідно зі стандартом, має становити 0,5–1,0, а в кормовому — 1–2 мг/кг.

Повторне дослідження зазначених показників після 2-місячного зберігання засвідчило, що разом із зростанням кількості фузаріозного зерна, підвищився до 2,92 мг/кг, тобто в більш як 2,6 раза, вміст дезоксиніваленону, а це значно перевищує допустимий його рівень.

Науковцями доведено, що присутність цього токсину в кормі у такій кількості може призвести до інгібування в організмі тварин синтезу протеїну, ДНК, РНК, до порушення

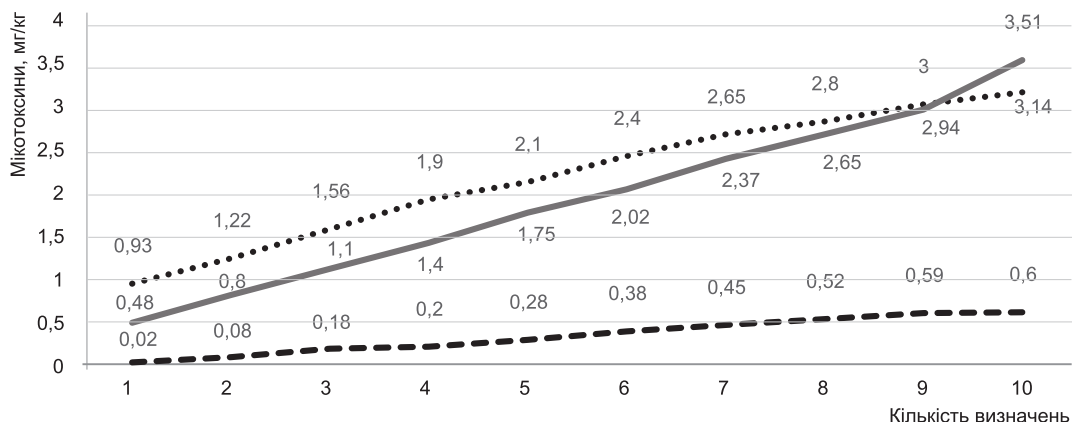
структури мембран та ініціювання перекисного окислення ліпідів, що проявляється у дисфункції імунної системи, зниженні продуктивності, розладах травної системи, діареї, порушенні процесу формування кісткової тканини, до підшкірних та внутрішніх крововиливів [10–12]. До того ж слід враховувати, що гриби здатні виробляти більше одного мікотоксину, а деякі мікотоксини можуть бути продуктами життєдіяльності більш ніж одного типу плісняви [13–15]. Забруднення мікотоксинами корму тварин та потенційний перехід їх у продукцію тваринного походження, що споживається людьми, як і раніше, залишається основною проблемою у багатьох розвинених країнах світу.

Моніторинг умісту різних мікотоксинів у зерні злакових культур, вирощених у Вінницькій обл., засвідчив, що кількість зеараленону перебуває в межах від 0,10 до 3,18 мг/кг, дезоксиніваленону — від 0,52 до 2,31 мг/кг, Т-2 токсину — від 0,02 до 0,22 мг/кг [14]. А згідно зі стандартом, їх допустимі рівні у зерні, вирощеному для кормових потреб, не повинні перевищувати 2,0–3,0, 1,0–2,0 і 0,2 мг/кг відповідно. Європейські ж та міжнародні норми ще нижчі. Слід пам'ятати, що зерно, яке вже містить мікотоксини, накопичуватиме їх і надалі, тому контроль їх кількості є обов'язковим. Проведені нами дослідження підтвердили тенденцію до підвищення вмісту мікотоксинів у зерні, яке зберігається (рисунок).

Зерно, яке закладалося на зберігання, характеризувалося вмістом смітної домішки

Продовольчі якості зерна пшениці до і після 2-місячного зберігання ($M \pm m$, $n=3$)

Масова частка вологи, %	Масова частка білка, % в абсолютно сухій речовині	Зернова домішка, %	Смітцева домішка, %	Масова частка сирової клейковини, %	Якість клейковини, одиниць приладу ІДК	Число падіння, с	Натура, г/л
<i>Початкові характеристики зерна пшениці</i>							
10,99±0,14	11,17±0,04	3,0±0,01, у т.ч. бите — 1,8±0,01	1,2±0,03, у т.ч. фузаріозне — 0,7±0,01	18,4±0,22	57,0±0,15	384±0,34	771,5±0,31
<i>Характеристики зерна пшениці після 2-місячного зберігання</i>							
10,06±0,11	10,28±0,01	3,5±0,02, у т.ч. бите — 1,98±0,01	1,92±0,03, у т.ч. фузаріозне — 1,83±0,02	18,2±0,18	56,6±0,20	385±0,22	780,1±0,29



Уміст мікотоксинів у фузаріозному зерні пшениці під час зберігання, що визначався кожні 10 діб протягом трьох місяців, мг/кг; ····· — дезоксиніваленон, — зеараленон, — T-2 токсин

на рівні 1,2%, зокрема фузаріозного зерна в ньому було 0,5%. Інтенсивність життєдіяльності грибів роду *Fusarium* є найвищою на початковому етапі зберігання. Частка мікотоксинів, які продукуються цими грибами, у першій половині терміну зберігання зерна зростала більш інтенсивно. Так, уміст дезоксиніваленону у зерні пшениці за 100 днів зберігання підвищився у 3,4 раза, зеараленону — у 7,3 раза, T-2 токсину — у 30 разів. Після двох місяців зберігання зростання кількості мікотоксинів дещо сповільнилось, але, на жаль, не припинилось.

Отже, пшениця, яка містить у своєму складі фузаріозне зерно в кількості, що перевищує нормоване значення, без сумніву, вже забруднена мікотоксинами, концентрація яких буде зростати. Три названі мікотоксини — це лише частина широкого спектру токсичних метаболітів, які продукуються грибами роду *Fusarium*. Тому, якщо обов'язковий токсикологічний аналіз не виявив мікотоксинів у зразку зерна, а мікологічний аналіз показав у ньому наявність лише фузаріозних грибів, бути впевненим у «чистоті» такого зерна неможливо.

Висновки

Аналіз результатів досліджень, проведених упродовж останніх трьох років, свідчить про підвищення зараженості зерна злакових культур фузаріозом. Так, якщо у 2019 р. серед обстежених зразків зерна пшениці, вирощеної у Вінницькій обл., заражених цим грибом було 45,2%, то у 2020 р. — 71,4, а у 2021 р. — 87,5%. Установлено, що партія пшениці, в якій

0,7% фузаріозного зерна, містить до 1,12 мг/кг дезоксиніваленону. У разі підвищення кількості такого зерна до 1,83% уміст зазначеного мікотоксину зростає у 2,6 раза. Після 3 місяців зберігання пшениці, вміст фузаріозного зерна в якій становив 0,5%, кількість дезоксиніваленону зростає до 3,14 мг/кг, зеараленону — до 3,51, а T-2 токсину — до 0,6 мг/кг.

Chornolata L.¹, Pohorila L.²

Institute of Feed Research and Agriculture of Podillia of NAAS, 16 Yunosti Prosp., Vinnytsia, 21100, Ukraine; e-mail: ¹l.chornolata@gmail.com, ²Pogorila@ukr.net; ORCID: ¹0000-0002-6970-2233, ²0000-0002-8480-4289

Consequences of the presence of toxicogenic mold fungi in grain

Goal. To study how the content of fusarium grains and the products of the vital activity of the *Fusarium* fungus in wheat changes during its storage. To establish within what limits the number of mycotoxins

in wheat grains grown in the Vinnytsia region varies. **Methods.** Grains with signs of fusarium were identified in samples isolated from average samples using a magnifying glass (magnification 4.5 times) and a microscope of the MBS type (magnification 100–150 times) under sufficient lighting. The presence of mycotoxins was determined by the immunoenzymatic method, which involved the use of test systems and the Sunrise analyzer. **Results.** Among wheat grain samples examined in 2019, 45.2% were affected by the fusarium fungus, 71.4% of those examined in 2020, and 87.5% of those examined in 2021. That is, there is a tendency to increase the amount of grain affected by fungi of the genus *Fusarium*. But if in 2019 there were samples with a share of fusarium grain up to 11%, and in 2020 — up to 18, then in 2021 the maximum damage was 8.1%. That is, there are various factors influencing the spread of these mushrooms, and they must be studied. It was established that during the storage of wheat, which contained 0.7% of fusarium grain, its infection with the fungus increased — that was confirmed by the increase in the index of waste admixture. In such a grain, the mass fraction of protein decreased and the

number of mycotoxins increased. Thus, the content of deoxynivalenone can increase to 2.92 mg/kg, i.e. 2.6 times, which significantly exceeds its permissible level (1–2 mg/kg) in fodder grain. The conducted studies, during which it was established that in wheat grain, which was put into storage and contained 0.5% of *Fusarium* grain, the content of deoxynivalenone increased by 3–4 times, zearalenone — by 7.3, and T2 toxin — by 30 times. **Conclusions.** Over the past three years, they observed an increase in the contamination of grain crops with *Fusarium* wilt and, as a result, an increase in the content of mycotoxins in it. It was established that in grain affected by 0.5% *Fusarium* wilt after 3 months, the storage may contain up to 3.51 mg/kg of deoxynivalenone, 3.51 of zearalenone, and up to 0.6 mg/kg of T2 toxin. It should be remembered that the grain that is put into storage and already contains mycotoxins will accumulate them in the future, therefore, control of such grain for the number of fungal by-products is mandatory.

Key words: wheat grain, storage, fusarium, mycotoxins, deoxynivalenone, zearalenone, T2 toxin.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agroviznyk202304-03>

Бібліографія

1. Bryden W.L. Mycotoxins: Natural food chain contaminants and human health. *Encyclopedia of Environmental Health*. Edited by Jerome O. Nriagu. Burlington, MA, U.S.A.: Elsevier, 2011, P. 898–905. doi: 10.1016/B978-0-444-52272-6.00701-7
2. Мельник О.В. Моніторингові дослідження кормів на наявність грибів роду *Aspergillus*. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2011. № 3. С. 174–177.
3. Zinedine A., Soriano J.M., Molto J.C., Manes J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*. 2007. 45. P. 1–18. doi: 10.1016/j.fct.2006.07.030
4. Швартау В.В., Зозуля О.Л., Михальська Л.М., Санін О.Ю. Фузаріози культурних рослин: монографія. Київ: Логос, 2016. 164 с.
5. Іваницький М.Є. Гістологічна характеристика мікотоксикозів свиней. *Вісник аграрної науки*. 2004. С. 33–35.
6. Nahm K.H., Karasawa Y. A study on the detoxification in the chick's body of aflatoxin found in feed. 1. Effects of feed additives (Se, meth, amylase) on body weight, feed conversion, and organ weight in five-week-old chicks. *Korean J. of Animal Sciences*. 1990. 32 (7). P. 393–399.
7. ДСТУ 3768:2019. Пшениця. Технічні умови. Київ: ДП «УкрНДНЦ». 2019. 15 с.
8. ДСТУ 3769:98. Ячмінь. Технічні умови. Київ: ДЕРЖСПОЖИВГОССТАНДАРТ України. 1998. 15 с.
9. ДСТУ ISO 13690:2009. Зернові, бобові та продукти їх помелу. Відбирання проб. Київ: ДП «УкрНДНЦ». 2018. 28 с.
10. Васянович О.М., Сапсай І.С., Янголь Ю.А. Моніторингові дослідження кормів на наявність в них грибно-мікрофлори. *Ветеринарна біотехнологія*. 2003. № 3. С. 82–87.
11. Mir S.A., Dar B.N., Shah M.A. et al. Application of new technologies in decontamination of mycotoxins in cereal grains: challenges, and perspectives. *Food and chemical toxicology*. 2021. 148. P. 111–976. doi: 10.1016/j.fct.2021.111976
12. Mishra G., Panda B.K., Ramirez W.A. et al. Research advancements in optical imaging and spectroscopic techniques for nondestructive detection of mold infection and mycotoxins in cereal grains and nuts. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021. 20(5). P. 4612–4651. doi: 10.1111/1541-4337.12801
13. Gupta R.C. Aflatoxins. Ochratoxins and Citrinins. *Reproductive and Developmental Toxicology*. MA, USA. 011. P. 753–763.
14. Чорнолата Л.П., Гуцол Н.В., Мисенко О.О. Мікотоксини у зерні злакових культур та необхідність їх контролю. International scientific and practical conference. (Lublin, July 2–3). 2021. P. 263–266. doi: 10.30525/978-9934-26-111-4-62
15. Фуртам І., Остапюк Н., Антонюк М. Біологічні особливості та екологія представників роду *Fusarium*, збудників захворювань злаків. *Наукові записки НаУКМА. Правничі науки*. 2017. Том 197. С.3–18. URL: <http://ekmair.ukma.edu.ua/handle/123456789/12373>