

МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:615.918:633.15:582.28

Результати мікотоксикологічних досліджень впливу санітарно-гігієнічних умов на синтез дезоксиніваленолу мікроміцетом *F. graminearum* на різних зернових субстратах

Островський Д.М. , Зоценко В.М. , Гришко В.А. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 Островський Д.М. E-mail: denostr@meta.ua



Островський Д.М., Зоценко В.М., Гришко В.А. Результати мікотоксикологічних досліджень впливу санітарно-гігієнічних умов на синтез дезоксиніваленолу мікроміцетом *F. graminearum* на різних зернових субстратах. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2023. № 1. С. 52–58.

Ostrovskiy D., Zotsenko V., Grishko V. Results of mycotoxicological studies of the influence of sanitary and hygienic conditions on the synthesis of deoxynivalenol by the micromycete *F. graminearum* on various grain substrates. *Nauk. visn. vet. med.*, 2023. № 1. PP. 52–58.

Рукопис отримано: 09.05.2023 р.

Прийнято: 23.05.2023 р.

Затверджено до друку: 25.05.2023 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2023-180-1-52-58

В останні роки все частіше увагу дослідників привертають мікотоксини, зокрема фузаріотоксини, які мають вирішальне значення у патології сільськогосподарських тварин. Серед них слід виділити дезоксиніваленол (ДОН) – один з найпоширеніших фузаріотоксинів. Він впливає на здоров'я тварин, що споживають забруднений корм, та може зумовлювати різноманітні порушення обмінних процесів, змінюючи властивості гомеостазу організму. Один з основних ефектів дезоксиніваленолу полягає в тому, що він стимулює продукцію прозапальних цитокінів, що спричиняє гостру фазу запалення у тварин. Крім того, дезоксиніваленол зумовлює зниження апетиту та може спричинити гіпофагію у тварин, що призводить до зниження добових приростів.

Напрям проведених досліджень спрямовано на виявлення оптимального субстрату для синтезу дезоксиніваленолу та максимального його накопичення грибом *F. graminearum*, також встановлено оптимальні параметри для синтезу мікотоксину (температура культивування, вологість субстрату, термін культивування). Як субстрати використовували зерно таких культур: пшениці, рису, кукурудзи, ячменю, вівса, жита, проса, пшона, гороху, сої, соняшнику, гірчиці, ріпаку, гречки та льону. Дезоксиніваленол у пробах визначали методом тонкошарової хроматографії. Продуктування дезоксиніваленолу вивчали за температур 4, 17, 24 та 28 °С; вологості субстрату в межах від 14–90 % і тривалості культивування від 1 до 4 тижнів. Мікотоксипродукуюча активність гриба *F. graminearum* ізоля 195/1 значною мірою визначалась досліджуваними параметрами. Максимальна кількість дезоксиніваленолу продукувалась за температури 24 °С, вологості субстрату 50 %, тривалістю культивування 24 доби. Із апробованих субстратів найкращим для продукції дезоксиніваленолу виявився рис. Отримані результати слугують основою для можливого прогнозування забруднення кормів дезоксиніваленолом і загалом дозволять оптимізувати заходи контролювання мікотоксикозів і в такий спосіб мінімізувати можливі ризики отруєння мікотоксинами людей і тварин.

Ключові слова: *F. graminearum*, зернові субстрати, дезоксиніваленол, температура культивування, вологість субстрату, тривалість культивування.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Нині у науковій літературі все більше з'являється матеріалів наукових досліджень стосовно випадків отруєнь мікотоксинами тварин і людини, за накопичення їх у зернових кормах та харчових продуктах. Зокрема, за повідомленнями департаменту харчування та

сільського господарства ООН ФАО, на початку XXI ст. 25 % зернових культур було забруднено мікотоксинами, на сьогодні наявні дані про забруднення навіть 80 % світового врожаю зерна [1, 2].

Щорічні збитки від ураження культурних зернових грибами, забруднення зерна

мікотоксинами, недоотримання продукції та загибелі тварин в США становлять понад 20 млрд доларів і мають тенденцію до збільшення. За економічними розрахунками це може призвести до втрати 40 % врожаю [3]. Лише десять років тому світові втрати врожаю зерна, пов'язані з контамінацією спорами грибів та їх токсинами становили 2 млрд доларів на рік.

Найбільше значення у патології сільськогосподарських тварин мають фузаріотоксини, серед яких слід виділити дезоксиніваленол – (DON) – один з найпоширеніших фузаріотоксинів. Він може впливати на здоров'я тварин, що споживають забруднений корм, та призводити до різноманітних порушень.

Один з основних ефектів дезоксиніваленолу полягає в тому, що він стимулює продукцію протизапальних цитокінів, це може спричинити гостру фазу запалення у тварин. Крім того, дезоксиніваленол може знижувати апетит та зумовлювати гіпофагію у тварин, що призводить до зниження добових приростів та ваги [4, 19].

За отруєння дезоксиніваленолом у тварин також може спостерігатися гіпертермія, блювання та інші порушення травлення. У промислового птахівництва за споживання забрудненого дезоксиніваленолом корму може знижуватися яйценосність.

Забруднення мікотоксинами може відбуватися на різних етапах вирощування, зберігання та обробки зернових культур і продуктів їх переробки. Чинниками, що впливають на накопичення дезоксиніваленолу є температура та вологість.

Мікотоксини можуть мати різні механізми впливу на здоров'я людини та тварин, зокрема алергічні реакції, токсичні ефекти на печінку, нирки й інші органи та є потужними канцерогенами. Водночас мікотоксини можуть знижувати якість продуктів та призводити до масштабних збитків для сільськогосподарських підприємств та переробної галузі [7, 20].

Недостатність досліджень щодо встановлення чітких умов для синтезу дезоксиніваленолу не дозволяє передбачати та прогнозувати майбутні забруднення злакових культур мікотоксином залежно від температурно-вологісних умов навколишнього середовища окремих кліматичних зон України. Тому проведені дослідження спрямовані на вирішення питання щодо вивчення чинників, які сприяють синтезу дезоксиніваленолу у зернових культурах та продуктах їх переробки, підбір субстрату, його вологості, температури та терміну культивування.

Мета дослідження – встановити оптимальні температурно-вологісні та часові режими для максимальної продукції мікроміцетами дезоксиніваленолу на різних зернових субстратах.

Матеріал і методи дослідження. Наукові дослідження були виконані в межах науково-ініціативної роботи, державний реєстраційний номер 0120U104974. Дослідження виконані на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського НАУ. Оскільки на різних зернових субстратах *F. graminearum* росте по-різному, то і кількість синтезованого ДОНу відповідно буде відрізнятися. Тому необхідно було вибрати субстрат для оптимального біосинтезу. Як інокулюм використовували *F. graminearum* ізолят 195/1, а як субстрати використовували зерна пшениці, рису, кукурудзи, ячменю, вівса, жита, проса, пшона, гороху, сої, соняшнику, гречки, ріпаку, гречки та льону. Наважки відповідних зерен масою 10,0 г вносили в 100 мл колби, зволожували до вологості 50 % і стерилізували автоклавуванням при 1 атм. за температури 121 °C протягом години. Після охолодження колб із субстратами в них у стерильних умовах вносили культуру гриба *F. graminearum* ізолят 195/1. Посіви культивували в термостаті за температури 28 °C протягом 24 діб. Потім зернові субстрати висушували, подрібнювали і екстракцію токсину проводили 15,0 мл суміші ацетонітрил:вода (3:1) дворазово по одній годині, після чого екстракти фільтрували через паперовий фільтр, а розчинники випарювали в потоці повітря. Після очистки за використання колонок, у які додавали 0,75 г порошку активованого вугілля та шар – 0,75 г окису алюмінію, у екстрактах визначали наявність токсину [5].

Після визначення субстратів на яких найбільше утворювався ДОН, було поставлено завдання щодо визначення оптимальної температури для синтезу токсину. Для цього використали три субстрати зерна: рис, кукурудза, пшениця. Після посіву гриба *F. graminearum* ізолят 195/1 на зволожені субстрати у колби їх утримували за різних температур + 4; 12; 17; 24; 37 °C тривалістю 24 доби. Після цього субстрати висушували, подрібнювали і екстрагували розчином ацетонітрил:вода (3:1), екстракти очищали за допомогою колонок і наносили на пластини для розподілу на ТШХ.

Наступним етапом досліджень було визначення оптимальної вологості зернових субстратів для синтезу ДОНу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1. Для досліджень використовували зерно: рису, кукурудзи та пшениці. Після посіву

гриба *F. graminearum* ізолят 195/1 на зазначені субстрати у колби з вологістю від 20 до 90 % їх витримували у термостаті за температури 24–26 °C тривалістю 24 доби.

Оскільки в літературі лише частково описані дані щодо оптимального терміну культивування для максимальної продукції ДОНу, ми вирішили дослідити ці чинники для гриба *F. graminearum* ізоляту 195/1. У досліді використали чотири субстрати: зерна пшениці, кукурудзи, рису та пшона. Гриб *F. graminearum* ізолят 195/1 інокулювали на попередньо зволожені до 50 % субстрати по чотири колби кожного зерна. Колби витримували в термостаті за температури 24–26 °C і через 7, 14, 21 та 28 діб культивування по 1 колбі піддавали дослідженню щодо вмісту ДОНу, це дозволило отримати дані щотижневої динаміки накопичення токсину.

Результати дослідження. Оскільки на зерні різних культур *F. graminearum* активність росту відмінна, то і синтез дезоксиніваленолу відповідно відрізняється.

У посівах *F. graminearum* ізолят 195/1 спостерігали активний ріст гриба на усіх зернових субстратах, проте інтенсивність токсиноутворення була різною. Найбільшу кількість дезоксиніваленолу виявили на зерновому рисовому субстраті – 3600±11,31 мг/кг. На субстраті пшона кількість токсину, що продукувалась, була в 1,8 рази, а кукурудзи – в 3 рази меншою ніж на рисовому субстраті (P≤0,001 відповідно). На зернових субстратах пшениці і ячменю токсину утворювалось у 28 разів менше, (P≤0,001) ніж на рисовому. Продукція дезоксиніваленолу на зернових субстратах сої та льону була відповідно у 229 і 257 разів (P≤0,001) меншою порівняно з рисовим субстратом. На інших субстратах на основі зернових (ріпаку, гірчиці, вівса, жита, соняшнику, гречки, гороху) його взагалі не було виявлено (табл. 1).

Необхідно зазначити, що субстрати з найбільшим накопиченням дезоксиніваленолу (рис, пшона та кукурудза) мають у своєму хімічному складі 70–78 % вуглеводів, від 8 до 15 % білка та до 6 % жирів. Крім цього, вони містять багато мікро-, макроелементів та вітамінів. Можливо, саме такий хімічний склад є оптимальним для максимального накопичення дезоксиніваленолу у субстраті грибом *F. graminearum* ізолят 195/1.

В результаті досліджень з визначення впливу температури на синтез мікотоксину ДОНу встановлено, що він був виявлений в усіх трьох субстратах: рисі, кукурудзі і пшениці за температур 17 та 24 °C, при цьому кількість утвореного дезоксиніваленолу була найбільшою за температури 24 °C (P≤0,001). За температури культивування субстрату 37 °C на зразках зерна згаданих вище культур ріст гриба *F. graminearum* ізолят 195/1 візуально не виявлено (табл. 2).

В результаті проведених досліджень можна стверджувати, що *F. graminearum* ізолят 195/1 продукує ДОН на згаданих вище зразках зернових поживних середовищ, за температур культивування субстратів у межах від 17 до 24 °C, а за температури понад 37 °C взагалі росту мікроміцета і відповідно токсиноутворення не спостерігали.

Наступним етапом досліджень було визначення оптимальної вологості зернових субстратів для синтезу ДОНу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1. Для цього використали зерна рису, кукурудзи та пшениці.

Мікотоксикологічними дослідженнями встановлено, що найоптимальніша вологість субстрату для синтезу дезоксиніваленолу становила від 40 до 80 %. Найбільше ДОНу утворювалось на зерні пшениці за вологості субстрату 50 %, на кукурудзі та рисі – за вологості 60 %, (P≤0,001). За вологості 20 і 30 % активного росту гриба *F. graminearum* ізолят 195/1 не спостерігали (табл. 3).

Таблиця 1 – Продукція дезоксиніваленолу ізолятом 195/1 *F. graminearum* залежно від виду зернового субстрату мг/кг, M±m, n=3

Субстрат	Вміст ДОНу	Субстрат	Вміст ДОНу
Рис	3600±11,31	Ріпак	нв
Пшона	2000±17,40***	Гірчиця	нв
Кукурудза	1200±10,34***	Овес	нв
Пшениця	130±4,12***	Жито	нв
Ячмінь	130±4,33***	Соняшник	нв
Соя	16±0,37***	Гречка	нв
Льон	14±0,63***	Горох	нв
Просо	нв		

Примітка: тут і надалі в таблицях “нв” – не виявлено.*** – P≤0,001 – відносно рисового субстрату.

Дослідженнями встановлено, що у зерні кукурудзи гриб *F. graminearum* ізолят 195/1 почав синтезувати дезоксиніваленол після другого тижня культивування, а після третього його токсиноутворювальна здатність була максимальною ($P \leq 0,001$). У зерновому субстраті на основі пшениці виявляли статистично вірогідне збільшення токсину ДОНу на 14-ту добу культивування ($P \leq 0,001$) порівняно до першого тижня з моменту його виявлення. Тенденцію,

щодо кількості накопичення ДОНу спостерігали до третього тижня, а потім відбувалося зменшення токсиноутворення ($P \leq 0,001$). Максимальну кількість накопичення токсину на кукурудзяному субстраті спостерігали на 21-шу добу культивування *F. graminearum* ізолят 195/1 порівняно з чотирнадцятою добою ($P \leq 0,001$). На пшоні і рисі накопичення дезоксиніваленолу було встановлено на 28 добу досліджень (табл. 4).

Таблиця 2 – Продукція дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 за різних температурних режимів ($M \pm m$; $n=15$)

Субстрат	Температура, °C	Кількість токсину мг/кг субстрату
Пшениця	4	Не виявлено
	12	Не виявлено
	17	50±1,47
	24	130±3,96***
	37	Не виявлено
Кукурудза	4	Не виявлено
	12	Сліди
	17	700±16,41
	24	1200±21,33***
	37	Не виявлено
Рис	4	Не виявлено
	12	Сліди
	17	2400±22,48
	24	3500±29,74***
	37	Не виявлено

***- $P \leq 0,001$ – відносно температури, 17 °C.

Таблиця 3 – Продукція дезоксиніваленолу *F. graminearum* ізолятом 195/1 залежно від вологості субстрату ($M \pm m$; $n=21$)

Субстрат	Кількість токсину, мг/кг субстрату	Вологість субстрату, %					
		20	30	40	50	60	70
Пшениця	нв	нв	110±2,12	140±2,24***	120±2,17***	80±1,34***	сліди
Кукурудза	нв	нв	980±18,12	1200±20,61***	1350±21,68***	1300±20,74***	540±14,31***
Рис	нв	нв	2300±20,33	3450±27,43***	3700±29,64***	3550±28,52***	3520±27,86***

Примітка:***- $P \leq 0,001$ – відносно вологості субстрату 40 %.

Таблиця 4 – Продукція дезоксиніваленолу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1 за різних термінів культивування ($M \pm m$; $n=16$)

Субстрат	Температура 24–26 °C	Термін культивування, діб			
		7	14	21	28
Пшениця	Кількість токсину, мг/кг субстрату	35±1,23	90±2,35***	135±3,72***	110±2,88***
Кукурудза		нв	1150±20,66	1250±21,83***	1180±20,45***
Рис		нв	нв	сліди	3650±27,62
Пшоно		нв	нв	сліди	2100±20,49

Примітка: “нв” – не виявлено.

Отже, було доведено, що на різних субстратах гриб *F. graminearum* ізолят 195/1 утворює дезоксиніваленол з різною інтенсивністю, що залежить від тривалості цього процесу.

Обговорення. В результаті мікотоксикологічних досліджень встановлено, що температурно-вологісні умови навколишнього середовища значною мірою впливають на синтез мікотоксинів, зокрема дезоксиніваленолу [12, 18]. Аналіз результатів досліджень з наукових публікацій різних дослідників не дозволив чітко встановити чинники, що впливають на синтез дезоксиніваленолу, оскільки одностайної думки у дослідників щодо впливу температури вологості та терміну культивування на продукцію дезоксиніваленолу немає. Деякі науковці стверджують, що максимальна продукція токсину ізолятом *F. graminearum* відбувається за температури 28–29 °C і залежить від регіону вирощування зернових культур [6, 7]. В інших наукових працях повідомляється, що культивування *F. graminearum* за температури 22–25 °C дозволяє отримати дезоксиніваленол в кількості 13000 мкг/кг субстрату [8].

Однак є протилежні дані, що за температури 19–20 °C дезоксиніваленолу синтезувалось більше ніж за температури 23–25 °C [15]. В наукових дослідженнях авторів показано, що за температур 22–26 °C і вологості від 40 до 90 % отримували дезоксиніваленол в кількості від 455–684 мкг/кг [9, 10].

За результатами досліджень Y. H. Yu (2018) встановлено, що оптимальні умови синтезу дезоксиніваленолу спостерігались за температури 20 °C і найбільша його кількість відмічена за культивування протягом 7 і 14 діб [11]. Натомість отримані дані V. Scala та ін. (2016) свідчать, що дезоксиніваленол синтезувався за температури 25 °C починаючи із сьомої доби експерименту [12]. Культивування токсигенних видів *F. graminearum* R. M. H. Sayed-ElAhl та ін. (2022) протягом 4 тижнів за 25–28 °C з подальшим переміщенням досліджуваного субстрату в холодильник за 8–10 °C на 2 тижні дозволили отримати максимальний рівень токсину [13]. В публікаціях M. Mirabolfathy та ін. (2013) описано, що зміна субстрату також має вплив на синтез дезоксиніваленолу. Вивчення синтезу дезоксиніваленолу на рисовому порошковому середовищі за температури 25 °C, виявило максимальний його вміст на 10 добу експерименту [14]. Ряд дослідників отримували дезоксиніваленол зі штаму *F. graminearum* I159 на пшениці за температури культивування 23 °C і терміну інкубування 4 тижні [16, 17].

Проведені нами дослідження щодо впливу санітарно-гігієнічних та часових чинників на синтез дезоксиніваленолу мікроміцетом *F. graminearum* ізолят 195/1 також показало відмінні результати на різних субстратах зернових культур. Зокрема, найкращим зерновим субстратом для синтезу мікроміцетом *F. graminearum* ізолят 195/1 дезоксиніваленолу є рис. Менш оптимальними для синтезу ДОНу є зернові субстрати на основі пшона, зерна кукурудзи та пшениці. Найбільш інтенсивно синтез ДОНу на пшеничному, кукурудзяному та рисовому субстратах відбувався за температури 24 °C. Кращою оптимальною вологістю для синтезу ДОНу для зернового субстрату на основі пшениці є 50 %, на основі кукурудзи та рису – 60 %. Найвища токсиносинтезувальна активність мікроміцету *F. graminearum* ізолят 195/1 на субстратах пшениці і кукурудзи була встановлена на 21 добу культивування, для рису та пшона – на 28 добу.

Розбіжності з результатами отриманими різними авторами за вивчення температурно-вологісних умов на токсинопродукуючу активність фузарій можна пояснити використанням різних штамів мікроміцетів.

Перспективи подальших досліджень. В подальших експериментах буде вивчено токсинопродукуючу здатність різних штамів в описаних нами температурно-вологісних та часових термінах.

Висновок. Можна зробити висновок, що оптимальними параметрами для утворення ДОНу грибом *F. graminearum* ізолят 195/1 є температура 24 °C, вологість субстрату 50 % та термін культивування 24 доби. Найбільше токсину синтезувалось на рисовому субстраті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Pohland A.E. Overview of international mycotoxin and phycotoxin programs / M. Miraglia, H.P. van Egmond, C. Brera, J. Gilbert, eds. *Mycotoxins and Phycotoxins—Development in Chemistry, Toxicology and Food Safety*. Fort Collins, CO: Alaken, 1998. P. 17–24.
2. Камінська О.В. Токсигенні мікроміцети роду *Fusarium*, біологічне обґрунтування заходів щодо обмеження накопичення їх вторинних метаболітів в озимій пшениці та кукурудзі в умовах Правобережного Лісостепу України: дис... канд. с.-г. наук: 06.01.11. Київ, 2020. 145 с.
3. Food Losses and Wastage along the Wheat Value Chain in Egypt and Their Implications on Food and Energy Security, Natural Resources, and the Environment / Y.A. Yigezu et al. *Sustainability*, 2021. 13(18). 10011 p. DOI:10.3390/su131810011
4. Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop protection*. 2008. Vol. 27. P. 891–905. DOI: 10.1016/j.cropro.2007.12.011

5. Методичні вказівки по санітарно-мікологічній оцінці та поліпшенню якості кормів / А.Ф. Ображей та ін. Київ, 1998. 107 с.

6. Integrated control of fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat / L. Shah et al. *Plant pathology*, 2018. 67. P. 532–548. DOI:10.1111/ppa.12785

7. Abbas A., Yli-Mattila T. Biocontrol of *Fusarium graminearum*, a Causal Agent of Fusarium Head Blight of Wheat, and Deoxynivalenol Accumulation: From In Vitro to In Planta. *Toxins*, 2022. 14(5). 299 p. DOI:10.3390/toxins14050299

8. Effect of wheat infection timing on *Fusarium* head blight causal agents and secondary metabolites in grain / G. Beccari et al. *International journal of food microbiology*, 2019. 290. P. 214–225. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.014

9. Performance of fungicides on the control of fusarium head blight (*Triticum aestivum* L.) and deoxynivalenol contamination in wheat grains / E.B. Bonfada et al. *Summa Phytopathologica*, 2019. 45 (4). P. 374–380. DOI:10.1590/0100-5405/191941

10. A survey of the cereal contamination with deoxynivalenol in Romania, for 2011–2013 period / V. Gagiú et al. *Romanian Biotechnological Letters*, 2017. 22(1). P. 12240–12249. URL: www.researchgate.net/publication/312026550

11. An impact of Deoxynivalenol produced by *Fusarium graminearum* on broiler chickens / Y.H. Yu et al. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 2018. 102(4). P. 1012–1019. DOI:10.1111/jpn.12883

12. Climate, Soil Management, and Cultivar Affect *Fusarium* Head Blight Incidence and Deoxynivalenol Accumulation in Durum Wheat of Southern Italy / V. Scala et al. *Frontiers in microbiology*, 2016. 7. 1014 p. DOI:10.3389/fmicb.2016.01014

13. Controlling Immunomodulation Effects of Deoxynivalenol Mycotoxins by Nano Zinc Oxide and Probiotic in Broiler Chickens / R.M.H. Sayed-ElAhl et al. *Journal of World's Poultry Research*. DOI: 10.36380/JWPR.2022.15

14. Mirabolfathy M., Karami-Osboo R. Deoxynivalenol and DON – producing *Fusarium graminearum* isolates in wheat and barley CROPs in North and North-west areas of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 2012. 48(4). P. 197–210. URL: <https://www.researchgate.net/publication/322909648>

15. Hay W.T., McCormick S.P., Vaughan M.M. Effects of Atmospheric CO₂ and Temperature on Wheat and Corn Susceptibility to *Fusarium graminearum* and Deoxynivalenol Contamination. *Plants*, 2012. 10 (12). 2582 p. DOI:10.3390/plants10122582

16. Effects of Deoxynivalenol-Contaminated Diets on Productive, Morphological, and Physiological Indicators in Broiler Chickens / I. Riahi et al. *Animals*, 2020. 10 (10). 1795 p. DOI:10.3390/ani10101795

17. Lack of Toxic Interaction Between Fusariotoxins in Broiler Chickens Fed throughout Their Life at the Highest Level Tolerated in the European Union / J.P. Metayer et al. *Toxins*, 2019. 11 (8). 455 p. DOI: 10.3390/toxins11080455

18. Screening of wheat germplasm for seed-associated fungi in geographical areas of Pakistan / R.T. Attiqur-Rahman et al. *African Journal of Agricultural Research*, 2018. 13. P. 258–271. DOI: 10.5897/AJAR2015.9825

19. Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria / M. Schmidt et al. *Journal of Cereal Science*, 2016. 69. P. 95–103. DOI:10.1016/j.jcs.2016.02.010

20. Spatial Distribution of Root and Crown Rot Fungi Associated With Winter Wheat in the North China Plain and Its Relationship With Climate Variables / F. Xu et al. *Frontiers in microbiology*, 2018. 9. 1054 p. DOI:10.3389/fmicb.2018.01054

REFERENCES

1. Pohland, A.E. (1998). Overview of international mycotoxin and phycotoxin programs. M. Miraglia, H.P. van Egmond, C. Brera, J. Gilbert, eds. *Mycotoxins and Phycotoxins—Development in Chemistry, Toxicology and Food Safety*. Fort Collins, CO: Alaken, pp. 17–24.

2. Kaminska, O.V. (2020). Toksynogeni mikromycety rodu *Fusarium*, biologichne obgruntuvannya zahodiv shhodo obmezhenja nakopychennja i'h vtorynyh metabolitiv v ozymij pshenyci ta kukurudzi v umovah pravoberezhnogo Lisostepu Ukraïny: dys... kand. s.-g. nauk: 06.01.11. [Toxinogenic micromycetes of the genus *Fusarium*, biological substantiation of measures to limit the accumulation of their secondary metabolites in winter wheat and corn in the conditions of the Right Bank Forest Steppe of Ukraine: diss candidate. s.-g. Sciences 06.01.11]. Kyiv, 145 p. (in Ukrainian).

3. Yigezu, Y.A., Moustafa, M.A., Mohiy, M.M., Ibrahim, S.E., Ghanem, W.M., Niane, A.-A., Abbas, E., Sabry, S.R.S., Halila, H. (2021). Food Losses and Waste along the Wheat Value Chain in Egypt and Their Implications on Food and Energy Security, Natural Resources, and the Environment. *Sustainability*, 13(18), 10011 p. DOI:10.3390/su131810011

4. Kumar, V., Basu, M.S., Rajendran, T.P. (2008). Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop protection*. Vol. 27, pp. 891–905. DOI:10.1016/j.cropro.2007.12.011

5. Obrazhej, A.F. (1998). Metodichni vказivky po sanitarно-mikologichnij ocinci ta polipshennju jakosti kormiv [Methodological guidelines for sanitary and mycological evaluation and improvement of feed quality]. Kyiv, 107 p. (in Ukrainian).

6. Shah, L., Ali, A., Yahya M., Zhu, Y., Wang, S., Si, H., Rahman, H., Ma, C. (2018). Integrated control of fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat. *Plant pathology*, 67, pp. 532–548. DOI:10.1111/ppa.12785

7. Abbas, A., Yli-Mattila, T. (2022). Biocontrol of *Fusarium graminearum*, a Causal Agent of Fusarium Head Blight of Wheat, and Deoxynivalenol Accumulation: From In Vitro to In Planta. *Toxins*, 14(5), 299 p. DOI:10.3390/toxins14050299

8. Beccari, G., Arellano, C., Covarelli, L., Tini, F., Sulyok, M., Cowger, C. (2019). Effect of wheat infection timing on *Fusarium* head blight causal agents and secondary metabolites in grain. *International journal of food microbiology*, 290, pp. 214–225. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.014

9. Bonfada, E.B., Honnef, D., Friedrich, M.T., Boller, W., Deuner, C.C. (2019). Performance of fungicides on the control of fusarium head blight (*Triticum aestivum* L.) and deoxynivalenol contamination in wheat grains. *Summa Phytopathologica*, 45(4), pp. 374–380. DOI:10.1590/0100-5405/191941

10. Gagiú, V., Mateescu, E., Smeu, I., Dobre, A.A., Cucu, M.E., Oprea, O.A., Belc, N. (2017). A survey of the cereal contamination with deoxynivalenol in Roma-

nia, for 2011-2013 period. Romanian Biotechnological Letters, 22(1), pp. 12240–12249. Available at: www.researchgate.net/publication/312026550

11. Yu, Y.H., Hsiao, F.S., Proskura, W.S., Dybus, A., Siao, Y.H., Cheng, Y.H. (2018). An impact of Deoxynivalenol produced by *Fusarium graminearum* on broiler chickens. Journal of animal physiology and animal nutrition, 102(4), pp. 1012–1019. DOI:10.1111/jpn.12883

12. Scala, V., Aureli, G., Cesarano, G., Incerti, G., Fanelli, C., Scala, F., Reverberi, M., Bonanomi, G. (2016). Climate, Soil Management, and Cultivar Affect *Fusarium* Head Blight Incidence and Deoxynivalenol Accumulation in Durum Wheat of Southern Italy. Frontiers in microbiology, 7, 1014 p. DOI:10.3389/fmicb.2016.01014

13. Sayed-ElAhl, R.M.H., Hassan, A.A., Mansour, M.K., Abdelmoteleb, A.M.M., El-Hamaky, A.M.A. Controlling Immunomodulation Effects of Deoxynivalenol Mycotoxins by NanoZinc Oxide and Probiotic in Broiler Chickens. Journal of Worlds Poultry Research. DOI:10.36380/JWPR.2022.15

14. Mirabolfathy, M., Karami-Osboo, R. (2012). Deoxynivalenol and DON – producing *Fusarium graminearum* isolates in wheat and barley CROPs in North and Northwest areas of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 48(4), pp. 197–210. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/322909648>

15. Hay, W.T., McCormick, S.P., Vaughan, M.M. (2021). Effects of Atmospheric CO₂ and Temperature on Wheat and Corn Susceptibility to *Fusarium graminearum* and Deoxynivalenol Contamination. Plants, 10(12), 2582 p. DOI:10.3390/plants10122582

16. Riahi, I., Marquis, V., Ramos, A.J., Brufau, J., Esteve-Garcia, E., Pérez-Vendrell, A.M. (2020). Effects of Deoxynivalenol-Contaminated Diets on Productive, Morphological, and Physiological Indicators in Broiler Chickens. Animals, 10(10), 1795 p. DOI:10.3390/ani10101795

17. Metayer, J.P., Travel, A., Mika, A., Bailly, J.D., Cleva, D., Boissieu, C., Guennec, J.L., Froment, P., Albaric, O., Labrut, S., Lepivert, G., Marengue, E., Tardieu, D., Guerre, P. (2019). Lack of Toxic Interaction Between Fusariotoxins in Broiler Chickens Fed throughout Their Life at the Highest Level Tolerated in the European Union. Toxins, 11(8), 455 p. DOI:10.3390/toxins11080455

18. Attiq-ur-Rahman, R.T., Aqleem, A., Shahid, I., Israr, A., Waseem, A. (2018). Screening of wheat germplasm for seed associated fungi in geographical areas of Pakistan. African Journal of Agricultural Research, 13, pp. 258–271. DOI:10.5897/AJAR2015.9825

19. Schmidt, M., Horstmann, S., De Colli, L., Danaher, M., Speer, K., Zannini, E., Arendt, E.K. (2016). Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria. Journal of Cereal Science, 69, pp. 95–103.

DOI:10.1016/j.jcs.2016.02.010

20. Xu, F., Yang, G., Wang, J., Song, Y., Liu, L., Zhao, K., Li, Y., Han, Z. (2018). Spatial Distribution of Root and Crown Rot Fungi Associated With Winter Wheat in the North China Plain and Its Relationship With Climate Variables. Frontiers in microbiology, 9, 1054 p. DOI:10.3389/fmicb.2018.01054

Results of mycotoxicological studies of the influence of sanitary and hygienic conditions on the synthesis of deoxynivalenol by the micromycete *F. graminearum* on various grain substrates

Ostrovskiy D., Zotsenko V., Grishko V.

Today, fusariotoxins play an increasing important role in the pathology of farm animals, among which deoxynivalenol plays an important role. Deoxynivalenol (DON) is one of the most common fusariotoxins. It affects the health of animals that consume contaminated feed, and can lead to various metabolic disorders, disrupting the body's homeostasis. One of the main effects of deoxynivalenol is that it stimulates the production of anti-inflammatory cytokines, which in turn causes the acute phase of inflammation in animals. In addition, deoxynivalenol leads to a decrease in appetite and can cause hypophagia in animals, which in turn leads to a decrease in daily gains.

The direction of the conducted research is aimed at identifying the optimal substrate for the synthesis of deoxynivalenol and its maximum accumulation by the fungus *F. graminearum*, and also established the optimal parameters for the synthesis of mycotoxin (cultivation temperature, substrate humidity, cultivation period). Grains of the following crops were used as substrates: wheat, rice, corn, barley, oats, rye, millet, peas, soybeans, sunflower, mustard, rapeseed, buckwheat, and flax. Deoxynivalenol in samples was determined by thin-layer chromatography. The production of deoxynivalenol was studied in the temperature ranges of 4, 17, 24, and 28 °C; humidity of the substrate in the range from 14–90% and the duration of cultivation from 1 to 4 weeks. The mycotoxin-producing activity of the fungus *F. graminearum* isolate 195/1 was largely determined by the studied parameters. The maximum amount of deoxynivalenol was produced at a temperature of 24 °C, a substrate humidity of 50%, and a duration of cultivation of 24 days. Of the tested substrates, rice was the best for deoxynivalenol production. The obtained results serve as a basis for possible prediction of feed contamination with deoxynivalenol and, in general, will allow to optimize measures to combat mycotoxicosis and thus minimize the possible risks of mycotoxin poisoning of people and animals.

Key words: *F. graminearum*, grain substrates, deoxynivalenol, cultivation temperature, substrate humidity, duration of cultivation.



Copyright: Островський Д.М., Зоценко В.М., Гришко В.А. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Островський Д.М.

Зоценко В.М.

Гришко В.А.

<https://orcid.org/0000-0002-3901-4667>

<https://orcid.org/0000-0001-8908-6688>

<https://orcid.org/0000-0002-0340-513X>