



УДК 619:616.15 – 074:612.11:576.8.097.29:636.2

В.В. РУХЛЯДА, В.І. ГОЛОВАХА, доктори вет. наук
 А.В. АНДРІЙЧУК, О.В. ПІДДУБНЯК, кандидати вет. наук
 О.А. РОЗПУТНЯ, О.В. ПРИЩЕНКО, С.В. СЛЮСАРЕНКО, аспіранти

О.П. ДАЦЕНКО, лікар вет. медицини
 Білоцерківський національний
 аграрний університет

ВПЛИВ ФУЗАРІОТОКСИНІВ НА ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ СТАТУС КОРІВ ЗІ ЗНИЖЕНИМ ВМІСТОМ ЖИРУ В МОЛОЦІ

У дослідженні встановлено, що причиною зниження жирності молока корів на тлі стабільних раціонів годівлі було поїдання кормів, уражених фузаріотоксинами у субтоксичних концентраціях, які чинили ушкоджувальну дію на організм тварин.

Останнім часом у науковій літературі з'явилися повідомлення про випадки зниження жирності молока або надоїв у корів на тлі стабільних раціонів годівлі [4, 5]. Однією з причин порушень молочної продуктивності може бути вплив мікотоксинів – вторинних метаболітів токсигенних мікроскопічних грибів, хоча жуйних тварин вважають менш чутливими до їх дії порівняно із моногастричними. Це пов'язано з високою активністю мікрофлори рубця, яка бере участь у метаболізмі токсинів міцеліального та рослинного походження. Однак метаболіти мікотоксинів, що утворюються у рубці, можуть мати різний ступінь токсичності, а подальше їх всмоктування призводить до розвитку мікотоксикозу.

Уперше негативний вплив мікотоксинів на молочну продуктивність у корів встановили при захворюванні великої рогатої худоби на стахіботріотоксикоз [2]. Окрім того, негативний вплив мікотоксинів на стан здоров'я великої рогатої худоби спостерігали за поїдання кормів, контамінованих Т-2 токсином, зеараленоном, афлатоксином В₁ та стеригматоцистином у концентрації від 0,05 до 5 мг/кг корму, впродовж 10–90 діб. При цьому в корів змін клінічного стану не спостерігали, однак траплялися випадки мертвородження, аборти та підвищувалася захворюваність на ендометрит. І нарешті, у деяких публікаціях повідомляється про причетність дезоксиніваленулу (ДОНу) та фумонізи-

нів до зниження надоїв або жирності молока у корів [4, 5].

У квітні 2010 р. було виявлено зниження вмісту жиру в молоці корів із 3,8 до 3,2% в одному з господарств Черкаської області, хоча склад раціону був повноцінним і збалансованим за основними поживними речовинами.

Мета роботи – з'ясувати причини зниження жирності молока корів шляхом проведення токсикомікологічного дослідження кормів і вивчити зміни гематологічного статусу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Об'єктом токсикомікологічного дослідження була проба суміші зерна пшениці та ячменю, що входила до складу раціону корів. Токсичність зерна встановлювали за мікробіологічним методом, види фузаріотоксинів та афлатоксинів – за методом тонкошарової хроматографії (ТШХ), а їх кількість – за методом ELISA. Для мікологічного дослідження зерна висівали на агар Чапека у чашки Петрі і культивували посіви за температури 24 та 37°C упродовж 7 діб. Ідентифікацію мікроміцетів проводили на підставі культурально-морфологічних ознак із застосуванням визначників грибів.

Ізольовані культури фузаріїв досліджували на здатність продукувати Т-2 і F-2 токсини, ДОН і фумонізін В₁. Для цього їх культивували у колбах об'ємом 100 мл на стерильній зволоженої суміші зерна ячменю та пшениці. Як інкулюм використовували водні суспензії конідій і міцелію десятиден-

них культур фузаріїв, вирощених на агарі Чапека. Посіви культивували впродовж 2 тижнів за температури 24°C, а для стимуляції утворення Т-2 токсину та зеараленону їх витримували стільки ж за t 4°C. У екстрактах виявляли мікотоксини за методом ТШХ, а їх кількість визначали за методом ELISA.

Для гематологічних і біохімічних досліджень було відібрано 11 проб крові від корів із зниженим вмістом жиру в молоці (ЗВЖМ) і 10 – від корів із незміненим вмістом жиру в молоці (НВЖМ). У стабілізованій крові досліджували рівні гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів та їх видовий склад, гематокритну величину, математично підраховували вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH) і середній об'єм еритроцита (MCV). У сироватці крові визначали вміст загального білка (за методом рефрактометрії), його фракційний склад (за нефелометричним методом), вміст сечовини (за діацетилмонооксимним методом), креатиніну (за реакцією Яффе). Для дослідження активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінаміно-трансферази (АлАТ) використовували метод Райтмана–Френкеля, гаммаглутамінотрансферази (ГГТП) – метод Srsz. Окрім того, вивчали колоїдну стійкість білків сироватки крові за допомогою сулемової та формолової коагуляційних реакцій.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведене органолептичне дослідження не виявило ураження зерна ячменю і пшениці мікроскопічними грибами. За даними токсикомікологічного дослідження з використанням

УВАГА! ТРИВАЄ ПЕРЕДПЛАТА ЖУРНАЛУ НА 2012 РІКІ



Колонія гриба *Fusarium moniliforme* var. *majus* на агарі Чапека

методів ТШХ та імуноферментного аналізу зерна, рівень Т-2 токсину становив 67,16 мкг/кг, зеараленону – 287, ДОНу – 148,96, фумонізину В₁ – близько 50 мкг/кг. У результаті мікологічного дослідження зерна пшениці та ячменю виявлено мікроміцети *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Absidia corymbifera* і зареєстровано інтенсивну контамінацію *Fusarium moniliforme* var. *majus* (рисунок). За допомогою токсикомікологічного дослідження встановлено, що *Fusarium moniliforme* var. *majus* продукував значно більше фузаріотоксинів, ніж зафіксовано у досліджуваному зразку зерна: концентрація Т-2 токсину – 1400 мкг/кг, зеараленону – 73,23 мг/кг, ДОНу – 459 мкг/кг, фумонізину В₁ – 2,84 мг/кг. Отже, цілком ймовірно, що зерно суміш у деяких ділянках зерносовищ могла містити і вищий рівень мікотоксинів. Це пов'язано з тим, що токсиноутворення у зерні під час його зберігання відбувається нерівномірно і краще проходить у більш вологих ділянках та інтенсивніше контамінованих мікроміцетами.

Дослідження крові (таблиця) показало, що в корів із ЗВЖМ рівень гемоглобіну в крові був на нижній межі норми, а у 33,3% тварин спостерігали олігохромемію. Нижчими були і значення гематокритної величини (P < 0,01). Кількість еритроцитів у корів обох груп достовірно не відрізнялася, проте у 18,2% тварин із ЗВЖМ виявили олігоцитемію (4,89–4,97 Т/л).

Загальна кількість лейкоцитів у корів із ЗВЖМ була на нижній межі норми (6,0 Г/л) і на 17,5% меншою порівняно з такою у корів із НВЖМ. У

36,4% тварин встановили лейкопенію (4,95–5,9 Г/л).

Зареєстровано зміни й у видовому складі лейкоцитів, зокрема гранулоцитарному, свідченням чого є паличкоядерна і сегментоядерна нейтрофілія, яка виявлялася в 45,5% тварин токсичною зернистістю цитоплазми та гіпосегментацією ядра гетерофілів. У лейкограмі 54,5% тварин встановили еозінопенію і моноцитопенію, у решти – анеозінофілію та відсутність моноцитів.

У 72,7% корів зареєстровано лімфобласти (2–7%), поява яких у крові, вочевидь, свідчить про антигенну стимуляцію імунної системи організму, як гуморальних, так і клітинних факторів, і про можливу трансформацію зрілих лімфоцитів у бластні клітини.

При біохімічному дослідженні сироватки крові у 72,7% корів виявили гіперпротеїнемію, зумовлену, ймовірно, порушенням імунокомпетентних клітин мононуклеарної системи. У корів із ЗВЖМ є зниженою колоїдна стійкість білків крові, що підвищують колоїдно-осадові проби, а формолова і сулемова реакції були позитивними у

81,8%. Тобто, у значної частини тварин спостерігали диспротейнемію.

Вміст альбумінів у 54,5% корів із ЗВЖМ був нижчим за мінімальну норму. Аналіз глобулінового спектра показав, що відносна кількість α-глобулінів була у межах фізіологічних величин, а β-глобулінів – підвищеною до (23,9±2,88)%. Гіпербетаглобулінемію виявили у 81,8% корів, що є ознакою ураження печінки внаслідок дії фузаріотоксинів. Це свідчить про посилений транспорт ліпідів, необхідних для побудови мембранних структур клітини. Його забезпечує найбільша фракція серед β-глобулінів – β-ліпопротеїни, яка регулює транспорт триацилгліцеролів і холестеролу в органи і тканини. В результаті гальмування фузаріотоксинами активності гуморальних факторів у 81,8% корів розвивалася гіпогаммаглобулінемія.

За хронічної інтоксикації мікотоксинами у тварин порушувалася сечовинотворювальна функція печінки. Рівень сечовини в сироватці крові був вірогідно (P < 0,01) меншим, ніж у клінічно здорових. Знижені величини цього компонента залишкового азоту встановили у

Таблиця – Результати проведеного лабораторного дослідження крові в обстежених тварин

Показник	Корови з незмінним вмістом жиру (n=10)		Корови із зниженим вмістом жиру (n=11)	
	Lim	M±m	Lim	M±m
Гемоглобін, г/л	96,0–124,0	111,70±2,52	84,0–107,0	97,50±3,03*
Еритроцити, Т/л	5,1–7,4	6,40±0,25	4,89–6,45	5,80±0,24
Гематокритна величина, %	36,0–42,0	38,4±0,7	30,0–38,0	33,8±1,4*
МСН, пг	16,2–18,9	17,50±0,34	14,6–18,6	16,90±0,32
МСV, мкм ³	51,4–70,6	60,7±2,2	16,9±0,32	58,70±2,18
Лейкоцити, Г/л	6,3–10,4	8,00±0,41	4,95–8,60	6,60±0,48°
Загальний білок, г/л	74,8–86,8	79,70±1,53	80,4–90,8	87,10±1,44*
Альбуміни, %	39,6–49,2	43,9±1,0	28,0–46,0	40,50±3,13
α-глобуліни, %	12,2–19,4	15,70±0,69	5,7–21,9	15,10±1,05
β-глобуліни, %	9,3–16,9	13,70±0,93	8,0–33,8	23,90±2,16
γ-глобуліни, %	22,0–34,8	26,7±1,4	12,2–42,5	20,50±3,13
Сечовина, ммоль/л	3,6–7,0	5,30±0,43	1,75–6,34	3,5±0,4*
Креатинін, мкмоль/л	78,4–124,6	104,50±4,24	86,1–123,7	102,40±5,17
Сулемова проба	1,62–1,92	1,75±0,04	0,94–1,68	1,26±0,09*
АсАТ, ммоль/л	1,09–1,45	1,28±0,03	1,14–2,01	1,80±0,07**
АлАТ, ммоль/л	0,46–0,72	0,62±0,03	0,45–1,92	1,32±0,10**
ГГТП, мккат/л	0,38–0,74	0,56±0,04	0,38–1,07	0,60±0,07

*P < 0,01, **P < 0,001, °P < 0,05 порівняно з групою корів з незмінним вмістом жиру



54,5% корів. Такий низький рівень сечовини суперечить загальноприйнятій думці, що цей показник знижується лише за тяжкої патології. Ймовірно, аміак не повністю знешкоджується, а навпаки, використовується мікроорганізмами для відповідного амінування кетокислот, утворення аспарагіну та глутатіону, які є незамінним джерелом азоту в біосинтезі ДНК і РНК.

Вміст іншого показника залишкового азоту – креатиніну – не відрізнявся від величин у клінічно здорових, що свідчить про стійку стабільність цього компонента крові.

Фузаріотоксини спричиняли клітинну деструкцію гепатоцитів, зокрема їх цитозольних і мітохондріальних структур, що супроводжувалося посиленою елімінацією ферментів АсАТ і АлАТ, активність яких у корів із ЗВЖМ була значно вищою порівняно зі здоровими ($P < 0,001$). Гіперферментемію АсАТ і АлАТ виявили відповідно у 72,7 і 90,9% корів. ?

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановили, що причиною зниження жирності молока у господарстві було поїдання кормів, контамінованих чотирма фузаріотоксинами у субтоксичних концентраціях. При цьому зерно пшениці та ячменю було інтенсивно уражене грибом *Fusarium moniliforme var. majus* і виявлена його здатність продукувати Т-2 токсин, зеараленон, ДОН та фумонізін В₁, тобто ті ж фузаріотоксини, що були ідентифіковані у зерні.

Зареєстровані порушення гематологічних показників (олігоцитемія, олігохромемія та лейкопенія), на нашу думку, є наслідком дії трихотеценових мікотоксинів, зокрема Т-2 токсину, які негативно впливають не тільки на еритроїдний росток кровотворних органів, а й на лейкопоетичну ланку. Адже доведено, що Т-2 токсин здатний викликати у тварин розвиток лейкопенії внаслідок гіпоплазії та апоптозу в кістковому мозку, лімфоїдній тканині, селезінці, вилочковій залозі та пейєрових бляшках [4]. Розвиток гіперпротейнемії та диспротейнемії є ознакою порушення імунокомпетентних

клітин мононуклеарної системи й ураження печінки. Зниження ж рівня сечовини в сироватці крові корів із ЗВЖМ і значне підвищення активності АсАТ і АлАТ свідчать про порушення структури та функції гепатоцитів.

Основним механізмом токсичності фумонізинів у тварин є їх здатність порушувати метаболізм ліпідів [1]. Цілком ймовірно, що жирність молока корів знижувалася внаслідок впливу фумонізину безпосередньо на обмін ліпідів, а також сумарної токсичної дії на організм корів усіх фузаріотоксинів, що містилися у кормі.

Також наголосимо, що в Жашківському районі Черкаської області поширені токсигенні фузарії. Так, ще у 1990 р. в одному з господарств цього регіону спостерігали хронічний фузаріотоксикоз великої рогатої худоби та коней, що призводив до загибелі тварин. Причиною захворювання стало поїдання слаботоксичної зерносуміші, з якої були виділені *Fusarium sporotrichiella var. poae*, *F. graminearum* – продуценти трихотеценових мікотоксинів (Т-2 токсину, ДОНу) і зеараленону [3].

Керівництву господарства надано рекомендації щодо заміни уражених фузаріотоксинами кормів та застосування сорбентів, після чого жирність молока повернулася до попередніх показників.

ВИСНОВКИ

1. Для профілактики негативного впливу мікотоксинів на організм сільськогосподарських тварин потрібно проводити токсикомікологічні дослідження кормів. У випадку виявлення забруднення цінних концентрованих кормів певними мікотоксинами їх можна згодовувати великій рогатій худобі на відгодівлі у кількостях, що не перевищують максимально дозволеного рівня.

2. За два місяці до забою таких тварин необхідно переводити на годівлю тільки доброякісними кормами для виведення залишків мікотоксинів і їх метаболітів з організму. Ефективним також є застосування сорбентів мікотоксинів, що зв'язують токсичні сполуки та виводять їх із організму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Диаз Д.** Микотоксины и микотоксикозы / Д. Диаз. – М.: Печатный город, 2006. – 382 с.
2. **Нагорный И.С.** Стахиботриотоксикоз крупного рогатого скота / И.С. Нагорный; под ред. И.Е. Поваженко. – К.: Урожай, 1964. – 148 с.
3. **Рухляда В.В.** Хронічний фузаріотоксикоз великої рогатої худоби та коней / В.В. Рухляда, В.І. Левченко, І.С. Панько [та ін.] // Матеріали наук.-прак. конф. «Неінфекційна патологія тварин» (7–8 червня; м. Біла Церква). – 1995. – Ч. 1. – С. 223–225.
4. **Charmley E.** Influence of level of deoxyvalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production and its composition / E. Charmley, H. Trenholm, B. Thompson [et al.] // J. Dairy Sci. – 1993. – Vol. 76 (11). – P. 3580–3587.
5. **Diaz D.** Effect of fumonisin on lactating dairy cattle / D. Diaz, B. Hopkins, L. Leonard [et al.] // J. Dairy Sci. – 2000. – Vol. 83. – P. 1171.

Одержано 18.07.2011

Влияние фузаріотоксинов на гематологический статус коров с пониженным содержанием жира в молоке. В.В. Рухляда, В.И. Головаха, А.В. Андрийчук, О.В. Пиддубняк, О.А. Распутняя, А.В. Прищенко, С.В. Слюсаренко, О.П. Даценко

В результате проведенных исследований установлено, что причиной снижения жирности молока в хозяйстве было поедание животными кормов, контаминированных четырьмя фузаріотоксинами в субтоксических концентрациях. При этом зерно пшеницы и ячменя было интенсивно поражено грибом *Fusarium moniliforme var. majus*, выявлена его способность продуцировать Т-2 токсин, зеараленон, ДОН и фумонизин В₁, то есть те же фузаріотоксины, которые были идентифицированы в зерне.

Influence of fusariumtoxins on hematological status of cows with reducing fat content of milk. V.V. Rukhliada, V.I. Golovakha, A.V. Andriyчук, O.V. Piddubniak, O.A. Rozputnia, O.V. Prishchenko, S.V. Sliusarenko, O.P. Datsenko

It was detected by research that the cause of on the farm was eating feed contaminated with four toxins of fusarium in subtoxic concentrations. The grain of wheat and barley was heavily contaminated by the fungus *Fusarium moniliforme var. majus* and revealed his ability to produce Т-2 toxin, zearelenone, DON and fumonisin В₁, the same toxins that have been identified in the grain. ◉