

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ГИДРОЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ АЗЕРБАЙДЖАНА

SPECIES COMPOSITION AND HYDROLASE ACTIVITY OF FUNGI ISOLATED FROM MEDICINAL PLANTS UNDER THE CONDITIONS OF AZERBAIJAN

*K. Bakshaliev
G. Ismayilova
M. Mammadova
G. Aliyeva*

Summary. In the presented work, medicinal plants included in the flora of Azerbaijan were studied in terms of the species composition of mycobiota and the activity of hydrolytic enzymes and the phytotoxicity of some fungi found on these plants. It has been established that the studied plants are the habitat of fungi, among which there are those capable of synthesizing hydrolytic enzymes balanced in activity, degrading host cell walls. It has been shown that the level of activity of proteolytic enzymes can be used as a factor limiting the process of pathogenesis in phytopathogenic fungi, which, for pathogens of secondary mycoses, on the contrary, as a factor contributing to opportunistic actions.

Keywords: medicinal plants, mycobiota, hydrolytic enzymes, phytotoxicity, limiting and contributing factors

Бахшалиева Конул Фарух

*Доктор биологических наук, доцент, Институт
Микробиологии Министерства науки и образования
Азербайджанской Республики, г. Баку
konul.baxsh@mail.ru*

Исмайлова Гунай Элман

*К.б.н., Институт нефтехимических процессов
имени Ю. Мамедалиева Министерства науки
и образования Азербайджанской Республики
azmbi@mail.ru*

Мамедова Мехрибан Юсиф

*Диссертант, Институт Микробиологии
Министерства науки и образования Азербайджанской
Республики, г. Баку mehribanmetmedova1984@gmail.
com*

Алиева Гулнар Рагим

*К.б.н., Сумгаитский Государственный Университет,
Азербайджанская Республика, г. Сумгаит
article_1@mail.ru*

Аннотация. В представленной работе исследованы лекарственные растения, входящие во флору Азербайджана, по видовому составу микобиоты и активности гидролитических ферментов и фитотоксичности некоторых грибов, обнаруженных на этих растениях. Установлено, что исследованные растения являются местом обитания грибов, среди которых имеются способные синтезировать сбалансированные по активности гидролитических ферментов, деградирующие клеточные стенки хозяина. Показано, что уровень активности протеолитических ферментов, может использоваться как фактор, лимитирующий процесс патогенеза у фитопатогенных грибов, что для возбудителей вторичных микозов, наоборот, как фактор, способствующий к оппортунистическим действиям.

Ключевые слова: лекарственные растения, микобиота, гидролитические ферменты, фитотоксичность, лимитирующий и способствующий фактор

Как известно во флоре Азербайджана насчитывается более 4700 видов растений, из которых приблизительно 1/3 часть является лекарственными. Кроме того, некоторые из этих растений являются не только лекарственными, но и представляют интерес как кормовые, эфиромасличные и пищевые [6]. Однако, небольшая часть этих растений прошла скрининг на выявление лекарственных свойств, хотя большинство населения мира принимают препараты раститель-

ного происхождения [9], которые предотвращают в той или иной степени развития болезни, вызываемой различными микроорганизмами. В этой связи, с каждым годом увеличивается спрос на такие растения. Если учесть, что обеднение состава биоразнообразия является одним из глобальных экологических проблем, то в будущем это может привести к существенному ограничению использования лекарственных растений. Кроме того, их интенсивная, нерациональная, недо-

Таблица 1. Численная характеристика видов, входящих в микобиоту лекарственных растений

№	Виды растений	Mucormycota	Ascomycota	Bazidiomycota	Всего
1	<i>Achillea millefolium</i>	-	9	1	10
2	<i>Apium graveolens</i>	-	12	1	13
3	<i>Crocus sativus</i>	-	7	1	8
4	<i>Foeniculum vulgare</i>	1	10	1	12
5	<i>Helichrysum arenarium</i>	-	15	1	16
6	<i>Hypericum perforatum</i>	-	13	1	14
7	<i>Malva sylvestris</i>	-	12	1	13
8	<i>Matricaria chamomilla</i>	-	9	1	10
9	<i>Mentha piperita</i>	-	8	1	9
10	<i>Ocimum basilicum</i>	-	12	-	12
11	<i>Olea europaea</i>	1	16	3	20
12	<i>Rosa majalis</i>	1	14	1	16
13	<i>Rosmarinus officinalis</i>	-	10	1	11
14	<i>Salvia officinalis</i>	-	9	1	10
15	<i>Thymus vulgaris</i>	-	8	1	9
16	<i>Trifolium pratense</i>	-	17	2	19
17	<i>Tussilago farfara</i>	-	11	2	13
18	<i>Urtica urens</i>	-	8	-	8
19	<i>Zéa máys</i>	1	15	2	18
20	Другие	2	10	3	17
Всего		4	49	20	73

статочны контролируемая заготовка в качестве сырья также способствует этому, так как они являются особо уязвимой группой живых организмов.

Следует также отметить, что многие лекарственные растения обладают антифунгальной активностью [1], но несмотря на это, они также подвергаются патологиям, вызываемых теми же грибами [3], в результате чего их биологическая продуктивность уменьшается и даже полностью утрачивается [8, 13], что тоже в свою очередь отрицательно отражается на ресурсах лекарственных растений.

Все вышесказанное, вызывает важность всестороннего изучения лекарственных растений, особенно тех, которые широко используются в практических целях в микологическом аспекте. Но многие из этих растений используются без термообработки. Это обстоятельство вызывает серьезные опасения, так как материалы могут являться одновременно как местом обитания, так и источником обогащения различными метаболитами (в том числе микотоксинами) опасных грибов, что нашло своё подтверждение в различных исследованиях [2, 14]. Накопление этих грибов или их метаболитов на таких растительных материалах, которые используются людьми для лечебных целей может повышать риск заболеваний вторичными микозами и аллергиями. Поэтому оценка их в лекарственных растениях особенно важна в местах, где они больше

используются, что и явилось целью представленной работы.

Материалы и методы

В ходе исследований, проведенных в 2016–2022 годах из различных органов (вегетативных и генеративных) лекарственных растений (*Achillea millefolium* L., *Apium graveolens* L., *Crocus sativus* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Helichrysum arenarium* (L.) Moench., *Hypericum perforatum* L., *Malva sylvestris* L., *Matricaria chamomilla* L., *Mentha piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Olea europaea* L., *Rosa majalis* Herrm., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Trifolium pratense* L., *Tussilago farfara* L., *Urtica urens* L., *Zéa máys* L. и др.), широко используемых в Азербайджане в народной медицине, были взяты и проанализированы около 700 образцов, из которых выделены в чистую культуры около 100 штаммов. Взятие, анализ образцов и выделение в чистую культуры проводилось согласно методам [5], которые широко используются в микологических исследованиях.

Идентификацию грибов проводили на стандартных средах, рекомендованных в руководствах по конкретным группам грибов, и процесс осуществляли по известным определителям [7, 12, 13], составленных по культурально-морфологическим и физиологическим свойствам грибов.

Таблица 2. Активность (Е/мл) ферментов грибов, обнаруженных на исследованных растениях

Виды (число штаммов)	Целлюлаза	Ксиланаза	Амилаза	Пектиназа	Протеаза
<i>Aspergillus flavus</i> (5)	1,11–2,02	20,10–28,69	1,68–2,59	5,60–7,31	3,62–7,11
<i>A. fumigatus</i> (5)	1,01–1,67	17,78–24,33	2,31–3,78	4,49–7,51	2,70–6,49
<i>A. niger</i> (5)	1,99–4,31	35,28–42,52	3,81–5,28	9,60–11,49	4,62–7,22
<i>A.ochraceus</i> (4)	0,37–0,67	13,22–17,61	1,21–2,30	7,11–8,88	3,18–4,49
<i>Alternaria alternata</i> (4)	0,89–1,79	12,69–23,49	0,67–1,28	3,08–5,09	2,21–4,71
<i>A. solani</i> (4)	0,51–1,21	17,81–30,09	0,51–0,78	2,77–4,31	1,90–5,69
<i>Botrytis cinerea</i> (4)	0,49–0,68	21,22–24,61	следы	1,21–2,49	0,69–1,20
<i>Favenaceum</i> (8)	1,11–1,58	16,41–21,92	1,40–2,21	1,52–3,53	следы
<i>F.gibbosum</i> (5)	0,80–1,31	15,59–25,29	1,78–2,99	2,61–4,80	0,31–0,79
<i>F.moniliforme</i> (5)	0,89–1,30	25,28–35,38	2,69–4,18	3,10–5,38	0,20–0,89
<i>F.oxysporum</i> (5)	0,71–1,20	20,19–31,39	2,31–3,49	2,30–4,59	следы
<i>F.semitectum</i> (4)	1,01–1,29	16,71–25,41	1,82–2,63	2,29–3,89	0,11–0,21
<i>V.dahlia</i> (5)	0,31–0,50	18,89–23,45	1,11–1,49	3,51–6,68	0,81–1,09
<i>V. albo-atrum</i> (4)	0,22–0,41	15,39–20,28	0,89–1,38	3,01–5,22	0,61–1,12
<i>P.martensii</i> (4)	0,20–0,49	23,42–31,28	следы	2,91–6,09	2,28–4,48
<i>P.cusclonium</i> (5)	0,28–0,67	26,45–34,50	1,18–2,40	3,39–7,41	1,11–2,21
<i>P. chrysogenum</i> (5)	0,81–1,28	18,89–23,41	0,62–1,42	2,11–4,32	2,89–4,56
<i>C.herbarum</i> (4)	1,10–1,50	19,32–28,27	0,31–0,78	2,56–4,23	1,41–1,89
<i>Septoria menthae</i> (5)	0,72–1,11	14,45–20,23	0,47–1,09	3,10–3,89	1,31–2,20
<i>Asc.foeniculina</i> (4)	0,91–1,42	17,21–23,23	0,71–1,42	2,59–4,18	1,30–1,71
<i>Asc.imperfecta</i> (3)	0,49–1,01	14,18–19,41	0,29–0,79	1,81–3,69	1,18–1,89
<i>Rh. stolonifer</i> (4)	1,28–1,61	18,1–21,4	1,12–1,51	2,12–4,12	4,43–5,72
<i>M. mucedo</i> (5)	1,11–1,52	19,6–328,22	0,94–1,33	2,43–3,31	6,42–7,64
<i>M.racemosus</i> (3)	0,91–1,72	17,17–24,27	0,71–1,52	1,61–3,88	3,61–5,92
<i>T.hamatum</i> (5)	2,32–4,12	29,10–36,72	0,11–0,49	1,21–1,89	4,11–5,67
<i>T.viridii</i> (4)	2,03–3,41	25,64–34,51	0,18–0,39	1,11–1,56	3,21–5,42

Культуры поддерживали на сусло-агаре, а для опытов выращивали в колбах Эрленмейера емкостью 500 мл, содержащих 100 мл среды, которая имела следующий состав(г/л): Глюкоза — 20; NaNO₃–2,0; K₂HPO₄–1,0; MgSO₄–0,5; KCl– 0,5; Fe₂O₃–0,01 и вода дистиллированная — 1 л [5]. Грибы культивировались на качалке (120 об/мин) в течение 7 суток при температуре 25–27°C. Состав сред менялся в зависимости от цели опыта.

Для изучения активности целлюлолитических и пектолитической активности использовали вискозиметрический метод, амилитической активности калориметрический, протеолитической активности метода Ансона [4]. Активность целлюлазы, ксиланазы, амилазы и протеазы выражали мкмоль/мин⁻¹·мл⁻¹(ед.мл⁻¹), а пектиназы —%.мл⁻¹ (ед.мл⁻¹).

Фитотоксичности грибов (т.е. фитотоксическую активность) определяли по степени всхожести семян некоторых растений, согласно методу использованной в работе К. Бахшалиевой [2] и выражали в процентах.

Полученные результаты и их обсуждения

Результаты показали, что в микобиоту исследуемых растений, часто используемых в медицинских целях, входят десятки видов микромицетов (табл. 1) и согласно систематике, используемой на официальном сайте Международной Микологической Ассоциации [11] они относятся к отделам Ascomycota, Bazidiomycota и Mucormycota. При формировании микобиоты исследованных растений преобладающая роль принадлежит грибам: *Aecidium foeniculi*, *Alternaria alternata*, *A.solani*, *Ascochyta foeniculina*, *Asc.imperfecta*, *Ascophora disciflora*, *Aspergillus flavus*, *A.fumigatus*, *A.niger*, *A.ochraceus*, *A. terreus*, *A.austus*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *C.herbarium*, *Colletotrichum panacicola*, *Erisiphe communis*, *E.trifolii*, *Fusarium gibbosum*, *F.graminearum*, *F.moniliforme*, *F.oxysporum*, *F.semitectum*, *F. solani*, *Mucor mucedo*, *M.racemosus*, *Nigrospora maydis*, *Penicillium chrysogenum*, *P.cusclonium*, *P.martensii*,

Таблица 3. Активность (Е/мл) ферментов грибов, обнаруженных на исследованных растениях

Самые активные штаммы	пшеница	фасоль	огурец
<i>Aspergillus flavus</i> AF-09	79	82	74
<i>A. fumigatus</i> AF-11	70	73	65
<i>A. niger</i> AN-24	80	78	76
<i>A. ochraceus</i> AO-33	78	72	75
<i>Alternaria alternata</i> AA-07	65	69	63
<i>A. solani</i> AS-14	61	55	51
<i>Botrytis cinerea</i> BC-03	49	52	43
<i>Fusarium avenaceum</i> FA-07	30	40	34
<i>F. gibbosum</i> FG-14A	39	44	40
<i>F. moniliforme</i> FM-24	38	40	37
<i>F. oxysporum</i> FO-32	35	34	29
<i>F. semitectum</i> FS-42	37	39	33
<i>Vertisillium albo-atrum</i> VA-07	50	52	49
<i>V. dahlia</i> VD-16	45	49	47
<i>P. martensii</i> PM-32	67	70	64
<i>P. cuslopium</i> PC-18	59	63	56
<i>P. chrysogenum</i> PC-02	72	74	68
<i>C. herbarum</i> CH-02	65	68	62
<i>S. alliorum</i> SA-06	62	65	61
<i>Asc. foeniculina</i> AF-09	65	63	60
<i>Asc. imperfecta</i> AI-17	61	64	59
<i>Rh. stolonifer</i> RS-04	76	80	79
<i>M.ucedo</i> MM-07	85	90	86
<i>M. ramosus</i> MR-14	79	78	80
<i>T. hamatum</i> TH-05	99	97	97
<i>T. viridii</i> TV-12	94	92	95

Phoma medicaginis, *Phyllosticta thymi*, *Ph. trifolii*, *Puccinia anethi*, *P. artemisiae*, *P. menthae*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sc. libertiana*, *Sphaerotheca pannosa*, *Septoria menthae*, *Trichoderma hamatum*, *T. viride*, *Trichotecum roseum*, *Typhula trifoli*, *Uromyces appendiculatus*, *Ustilago zaeae*, *Vertisillium albo-atrum*, *V. dahliae* и др.

В некоторых случаях на этих материалах был обнаружен и гриб *Candida albicans*, который имеет склонность к инвазии и, в случаях дисбаланса в экологической нише, он может вызывать заболевание.

Представленные в табл. 1 данные показывают, что исследованные растения отличались между собой по численности видов, которые принимают участие в формировании их микобиоты. Например, в ходе исследований в формировании микобиоты *Trifolium pratense* участвуют 19 видов, у *Urtica urens* всего 8 видов, что видимо связано с фитокомпонентным составом этих растений.

Надо отметить, что в процессе патогенеза большое значение имеет способность грибов выделять различ-

ные ферменты [10], при помощи которых грибы расщепляют клеточную стенку хозяина и переходят внутрь ткани. При этом ферментативная система гриба играет важнейшую роль в проникновении и развитии гриба в ткани хозяина. Учитывая это, в ходе исследований выделенные грибы, являющиеся либо возбудителями вторичных микозов [16], либо продуцентами опасных для здоровья людей микотоксинов [2], были охарактеризованы по активности гидролитических ферментов. Выбор гидролитических ферментов обусловлен тем, что полимеры, входящие в клеточные стенки хозяина-растения (целлюлоза, гемицеллюлоза, пектин, белки и др.) расщепляются гидролитическим путем. Проведенные результаты показали, что исследованные штаммы грибов в той или иной степени проявляют активность ферментов гидролитического типа действия таких как, целлюлаза, амилаза, протеаза, ксиланаза и пектиназа (табл. 2). Кроме этого, из полученных данных выявлено, что некоторые штаммы обладали высокой активностью конкретного фермента, а некоторые — всех ферментов, т.е. одни штаммы являлись продуцентами конкретного фермента, а другие продуцентами сбалансированной гидролитической ферментной системы. По этим показателям они даже не уступали известным продуцентам,

хотя полученные данные не позволяют однозначно оценить роль ферментов в патогенезе грибов, так как зависимость между опасностью грибов и гидролазной активностью на первый взгляд не обнаруживается. Например, все штаммы гриба рода *Fusarium* по активности всех ферментов, особенно протеолитических уступают штаммам гриба *A.niger*.

Однако, изучение фитотоксичности грибов (по отношению к всхожести семян пшеницы, фасоли и огурца, обработанных культуральными жидкостями исследованных грибов) показали, что для грибов, имеющих высокую активность протеолитических ферментов, не характерна высокая фитотоксичная активность (табл. 3). Например, активность протеолитических ферментов фитопатогенного гриба *Vertisillium dahlia* была почти в 5 раза ниже, чем у гриба *Aspergillus flavus*, хотя фи-

тотоксическая активность *V.dahlia* на примера пшеницы было 1,8 раза больше, чем у *A.flavus*. Аналогичная картина обнаруживается при сравнении других грибов. Следовательно, уровень активности протеолитических ферментов, может использоваться как фактор, лимитирующий процесс патогенеза у фитопатогенных грибов, что для возбудителей вторичных микозов таких как *A.niger*, наоборот, является фактором, способствующим другим (например, патологическим или оппортунистическим) действиям.

Таким образом, полученные данные показали, что растительные материалы, используемые в народной медицине, являются местом обитания грибов, среди которых присутствуют способные синтезировать сбалансированные по активности гидролаз ферменты, деградирующие клеточные стенки хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахшалиева, К.Ф., Исмаилова, Г.Э., Сафарова, А.Ш. и др. Влияние материалов, полученных из некоторых эфиромасличных растений на рост токсигенных грибов // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки, 2020, № 2, с. 19–23
2. Бахшалиева, К.Ф. Экобиологические особенности токсигенных грибов, распространенных в Азербайджане. Автореферат диссертации на д.б.н. -Баку, 2017, 45с.
3. Гасимова, М.И., Гаджиева, Н.Ш., Байрамова, Ф.В. Оценка видового состава микобиоты растений различного назначения, распространенных в западном регионе Азербайджана // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки, 2020, № 11, с. 17–20
4. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982, 240 с.
5. Методы экспериментальной микологии./ Под. ред. Билай В.И. -Киев: Наукова думка, 1982, 500с.
6. Мехтиева, Н.П. Биоразнообразие лекарственная флора Азербайджана. Баку: «Леттерпрес», 2011, 186с.
7. Саттон, Д. Фотергилл А., Риналди М., Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М.: Мир, 2001, 486с.
8. Casadevall, A. Fungal diseases in the 21st century: the near and far horizons.// Pathog. Immun., 2018, v.3, p.183–196.
9. Ekor, M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety//Front Pharmacol., 2014, 10;4:177. doi: 10.3389/fphar.2013.00177
10. Guerriero, G., Hausman, J.F., Strauss, J. et al. Deconstructing plant biomass: focus on fungal and extremophilic cell wall hydrolases. Plant Sci., 2015, v. 234, — p.180–193.
11. Basic searching on MycoBank [электронный ресурс] <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx> (дата обращения 10.01.2023)
12. Kirk, P.M. Cannon, P.F., Minter, D.W. et al. Dictionary of the fungi. UK, 2008, 747 p.
13. Muradov, P.Z. Shirinova, G.F., Asgerli, L. Gh. et al. Species composition of fungi causing diseases in agricultural plants in agrarian sector of Azerbaijan// Journal of Applied and Natural Science, 2019, v.11 (4), p.785–790
14. Omotayo O.P., Omotayo A.O., Mwanza M., Babalola O.O. Prevalence of Mycotoxins and Their Consequences on Human Health.// Toxicol Res., 2019, v.35(1), p.1–7.
15. Seifert, K.A. The genera of Hyphomycetes. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011. 997 p.
16. Verissimo, C., Toscano, C., Ferreira, T. et al. Invasive and Subcutaneous Infections Caused by Filamentous Fungi: Report from a Portuguese Multicentric Surveillance Program.//Microorganisms, 2022, 10, 1010. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051010>

© Бахшалиева Конул Фарух (konul.baxsh@mail.ru), Исмаилова Гунай Элман (azmbi@mail.ru),

Мамедова Мехрибан Юсиф (mehribanmemmedova1984@gmail.com), Алиева Гулнар Рагим (article_1@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»