

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОБИОТЫ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ АЗЕРБАЙДЖАНА В ПИЩЕВЫХ ЦЕЛЯХ

GENERAL CHARACTERISTICS OF THE MYCOBIOTA OF SOME PLANTS USED FOR FOOD PURPOSES UNDER THE CONDITIONS OF AZERBAIJAN

M. Yusifova
M. Mammedaliyeva
N. Akhundova
A. Babashly
S. Huseynli

Summary. A study was made of the species composition, ecotrophic relationships, and activity of fungal hydrolytic enzymes involved in the formation of the mycobiota of cultivated plants for food purposes. It was revealed that 51 species of true fungi are involved in the formation of the mycobiota of about 10 plant species, and their distribution on individual plants is characterized by different quantitative indicators (from 11 to 19 species). 47.1–63.2% of the fungi involved in the formation of the mycobiota of the studied plants belong to species with varying degrees of toxic activity. The synthesis of enzymes with hydrolytic activity to one degree or another in almost all found fungi makes it possible to note their great pathogenic potential.

Keywords: food products, plants, mycobiota, species composition, ecotrophic relationships, toxigenicity, hydrolytic activity, pathogenicity factor.

Юсифова Мехрибан Рауф кызы

Доктор биологии по философии, заочный докторант (ДН), Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, г. Баку
mqezalova@mail.ru

Мамедалиева Марям Халыг кызы

Доктор биологии по философии, диссертант (ДН), Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, г. Баку
teryam77@mail.ru

Ахундова Назиля Абдул кызы

Доктор биологии по философии, заочный докторант (ДН), Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, г. Баку
nazilya.akhundova@mail.ru

Бабашилы Айнур Амирхан кызы

Доктор биологии по философии, заочный докторант (ДН), Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, г. Баку
aynurb@list.ru

Гусейнли Севиндж Маариф кызы

Магистр, Институт Микробиологии Министерства Науки и Образования Азербайджанской Республики, г. Баку
azmbi@mail.ru

Аннотация. Проведено исследование видового состава, экотрофических связей и активности гидролитических ферментов грибов, участвующих в формировании микобиоты культурных растений пищевого назначения. Выявлено, что в формировании микобиоты около 10 видов растений участвует 51 вид настоящих грибов, а их распространение на отдельных растениях характеризуется разными количественными показателями (от 11 до 19 видов). 47,1–63,2% грибов, участвующих в формировании микобиоты исследованных растений, относятся к видам с той или иной степенью токсической активности. Синтез у практически всех обнаруженных грибов ферментов, обладающих в той или иной степени гидролитической активностью, позволяет отметить их большой патогенный потенциал.

Ключевые слова: пищевые продукты, растения, микобиота, видовой состав, экотрофические связи, токсигенность, гидролитическая активность, фактор патогенности.

О общеизвестно, что продукты растительного и животного происхождения составляют основу питания людей [6]. Хотя в последнее время в рационе людей наметилась тенденция увеличения удельного веса пищевых продуктов и пищевых добавок, полученных из бактерий и грибов, но продукты растительной и животной пищи по-прежнему составляют большую часть рациона людей, и эта ситуация также характерна для Азербайджана. Тем не менее, нутриенты, содержащиеся во всех продуктах, независимо от источника получения, благоприятны для других живых существ, в первую очередь микроорганизмов, и практически все производимые пищевые продукты в том или ином количестве содержат либо сами микроорганизмы, либо их метаболиты [16]. Появление этих веществ в пищевых продуктах в ряде случаев приводит к возникновению различных неприятных ситуаций (пищевые отравления, аллергические реакции, различные патологии и др.) [3, 7]. Предупреждение такого рода явлений, то есть обеспечение микробиологической безопасности сырья или полуфабрикатов, используемых при приготовлении пищевых продуктов, актуально всегда, но сегодня особенно.

Сырье, используемое для производства продуктов питания, отличается друг от друга по своему химическому составу [17]. С этой точки зрения продукты растительного происхождения характеризуются большим содержанием углеводов [1], чем другие, а их пищевая значимость определяется тем, что они играют роль источника энергии в организме, регулируют стабильность сахара в крови и т.д.

Основу продуктов растительного происхождения, включаемых в рацион человека, составляют зерновые, фруктовые, овощные, бахчевые и др. растения или полученное из них сырье. Оценка этих продуктов с санитарно-гигиенической точки зрения предполагает использование сырья, которое устарело, потеряло свою пищевую ценность и вкусовые качества, подверглось поражению вредителями и болезнями, а также обладает токсичностью, представляющее угрозу для здоровья человека.

Выращивание сырьевых источников, используемых для производства продуктов растительного происхождения, сбор готовой продукции, транспортировка, хранение на складах, переработка, хранение готовой продукции и др. процессы как правило проводят в микробиологически нестерильных условиях [9]. Это делает неизбежным их контакт с микроорганизмами на любой стадии указанных процессов. Проведенные исследования показывают, что микробиота растений многочисленна и разнообразна, а в её формировании активно участвуют патогенные, токсигенные и ал-

лергенные виды. Поэтому не вызывает сомнений, что обеспечение микробиологической безопасности растений, возделываемых для пищевых целей, является предметом постоянного внимания.

Известно, что первым шагом в решении любой проблемы является точное определение ее «участников», и в данном случае подлежащим уточнению основным участником является микробиота зерна, используемого в пищевых целях, и одной из первоначальных задач является оценка численного и видового состава микробиоты, а затем изучение других её свойств (физиологических, биохимических, экологических и др.), прежде всего ферментативной активности. Так, большое значение в процессах патогенеза и заселения микроорганизмов в субстрате имеют ферменты, катализирующие деградацию соединений клеточной стенки и субстрата. Так, в состав растений входят целлюлоза, лигнин, гемицеллюлоза, пектин, белок и др. полимеры, а эти полимеры в том или ином растении характеризуются разным количеством, механизмом биологического разложения и др. С этой точки зрения особый интерес представляют также ферменты, катализирующие деградацию этих полимеров [12]. Несомненно, что патогены, обладающие слабой ферментной системой или не способные синтезировать ферменты, катализирующие деградацию соединений, входящих в состав клеточной стенки растения-хозяина, реже имеют широкий ареал распространения и занимают слабую позицию в борьбе за выживание. Поэтому изучение в этом аспекте микроорганизмов, вызывающих различную патологию у растений, может открыть более широкие возможности в эффективном управлении активностью патогенов и иметь важное значение при разработке мероприятий по борьбе с ними.

По этой причине целью представленной работы явилось характеристика видового состава, а также активности гидролитических ферментов микробиоты ряда растений, используемых в пищевых целях в Азербайджане.

Материал и методы исследования

Исследования проводились в 2016–2022 гг. и для этого использовались образцы, отобранные из растительного сырья (пшеница, ячмень, кукуруза, томаты, фасоль, горох, сахарная свекла, подсолнечник и др.), предназначенного для пищевых целей, образцы были отобраны по сезонам, и их микробиота, точнее грибная биота анализировалась по численному и видовому составу, а также активности гидролитических ферментов.

Отбор образцов, подготовка их к посеву, посев на питательную среду, культивирование, выведение

Таблица 1. Таксономическая структура грибов, зафиксированных на исследованных растениях.

Отдел	Класс	Порядок	Семейство	Род (вид)
Zygo-mycota	Mucoro-mycotina	Mucorales	Mucoraceae	Mucor (5) Rhizopus (1)
Asco-mycota icillium	Leotiomycetes	Helotiales	Sclerotiniaceae	Monilia (1), Botrytis (1)
		Erysiphales	Erysiphaceae	Sphaerotheca (1)
	Eurotium-mycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	Aspergillus (5), Penicillium (9)
	Sordario-mycetes	Hypocreales	Nectriaceae	Fusarium (6)
			Hypocreaceae	Trichoderma (4) Trichothecium (1)
		Sordariomycetidae	Glomerellaceae	Colletotrichum (3)
			Plectosphaerellaceae	Verticillium (2)
	Dothideo-mycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	Cladosporium (3)
			Mycosphaerellaceae	Septoria (3)
		Pleosporales	Pleosporaceae	Alternaria (3), Bipolaris (1), Ascochyta (1)
				Phoma (2)
		Botryosphaeriales	Botryosphaeriaceae	Phyllosticta (1)
		Bcero	19 (51)	

в чистую культуру осуществлялись согласно методам и подходам, принятым в микробиологии и микологии, а также использованным в работах различных авторов [8–10].

При выделении грибов в чистую культуру в качестве питательной среды использовали сусло-агар, агар Сабуро и другие стандартные питательные среды, а при изучении ферментативной активности грибы культивировали на жидкой среде Чапека при 28°C в течение 5 суток. Для оценки ферментативной активности использовали только культуральную жидкость (по активности экзоформ).

Идентификацию грибных культур проводили с помощью определителей [2, 11, 13, 16], основанных на культурально-морфологических и физиологических признаках, а систематизацию и номенклатуру грибов — по материалам Международной Микологической Ассоциации [14].

При изучении гидролитической (целлюлазной, амилазной, протеазной, пектиназной и др.) активности грибов, участвующих в формировании микробиоты изучаемых растений, использовали применяемые для этой цели известные методы и подходы [5].

В ходе исследования все эксперименты проводились в 4–6-ти повторностях, полученные результаты обрабатывались статистически [4], и как достоверные учитывались только, которые отвечали формуле $m/M = P \leq 0,05$.

Полученные результаты и их обсуждение

Грибы, вызывая те или иные заболевания, влияют не только на продуктивность растений, но также в результате своей жизнедеятельности обогащают метаболитами получаемые из растений продукты, оседая в них при хранении, переработке и др. процессах, т.е. их действие на продукты пищевого назначения фиксируется как при их культивировании, так и при последующих процессах. В результате анализа около 400 образцов, взятых примерно с 10 исследованных видов растений, установлено, что в формировании их микробиоты участвует 51 вид настоящих грибов, относящихся к отделам Mucormycota и Ascomycota (табл. 1). Как видно, зарегистрированные грибы представлены разными видами, так виды, принадлежащие к таким родам, как *Rhizopus*, *Monilia*, *Botrytis*, *Sphaerotheca*, *Trichothecium*, *Bipolaris*, *Ascochyta* и *Phyllosticta*, представлены 1 видом, а роды *Phoma* и *Verticillium* представлены 2 видами. Количество видов, относящихся к остальным родам, колеблется от 3 до 9, а максимальным показателем характеризуются виды, относящиеся к роду *Penicillium*.

Наблюдаются различия при распределении грибов по растениям и наиболее богатой микробиотой среди исследованных растений характеризуется пшеница, так как в формировании ее микробиоты участвуют 19 из зарегистрированных грибов. В формировании микробиоты других растений участвуют 11–17 видов, при этом ячмень характеризуется наименьшей микробиотой.

Таблица 2. Удельный вес токсигенных видов среди грибов, зарегистрированных на отдельных растениях.

№	Вид исследуемого растения	Общее количество видов грибов	Токсигенные виды	
			Общее количество, ед.	Доля в общем количестве, %
1	Твердая пшеница	19	12	63,2
2	Мягкая пшеница	18	11	61,1
3	Ячмень	11	6	54,5
4	Кукуруза	16	9	56,3
5	Томат	17	8	47,1
6	Подсолнечник	12	6	50,0
7	Сахарная свекла	15	8	53,3
8	Фасоль	16	8	50,0
9	Горох	14	8	57,1
10	Баклажан	15	8	53,3

Таблица 3. Общая характеристика гидролитической активности грибов, обнаруженных на исследуемом материале.

Роды (количество штаммов)	Целлюлаза	Амилаза	Ксиланаза	Протеаза	Пектиназа	Липаза
Ascochyta (1)	0,62	0,52	14,7	2,75	1,6	0,03
Alternaria (3)	0,7–1,9	0,6–1,7	16,5–28,5	2,1–4,3	3,3–4,9	0,01–0,09
Aspergillus (5)	0,5–2,0	1,1–2,7	18,7–30,2	3,1–8,3	4,7–8,0	0,20–0,70
Bipolaris (1)	0,8	1,3	21,0	4,6	4,4	0,03
Botrytis (1)	0,4–0,6	0,01–0,07	20,1–22,4	0,7–1,3	1,3–2,1	0,01–0,05
Cladosporium (3)	0,4–1,1	0,5–1,1	15,6–21,1	0,2–1,2	2,3–3,5	0,02–0,08
Colletotrichum (3)	0,4–1,1	0,1–1,0	10,4–20,5	1,4–3,1	1,8–2,1	0,02–0,07
Fuzarium (6)	0,3–1,5	1,4–3,5	14,5–36,2	0,01–3,9	1,5–5,4	0,005–0,10
Monilia (1)	1,1	2,1	18,6	2,1	2,3	0,01
Mucor (5)	0,2–0,7	0,3–0,7	10,1–18,7	3,4–6,7	1,9–4,5	1,30–3,50
Penicillium (9)	0,5–1,8	0,01–2,3	12,5–29,0	2,2–5,4	3,2–7,4	0,01–0,20
Phoma (2)	0,7–1,1	0,8–1,8	14,5–19,8	2,3–3,7	4,4–5,0	0,15–0,41
Phyllosticta (1)	0,9	1,1	17,6	3,2	4,7	0,21
Rhizopus (1)	1,4	1,5	20,2	3,1	5,1	0,3
Septoria (3)	0,5–1,1	0,9–2,0	15,4–20,5	2,6–4,2	4,1–5,5	0,09–0,20
Sphaerotheca (1)	0,8	1,7	15,6	2,4	3,7	0,10
Trichoderma (4)	2,8–5,4	0,01–0,7	30,3–40,2	0,1–0,5	0,01–0,3	0,001–0,02
Trichothecium (1)	2,1	1,1	19,6	0,5	0,2	0,04
Verticillium (2)	0,4–1,6	1,1–1,6	17,8–25,6	3,2–5,9	0,9–1,2	0,01–0,07

Было бы уместно внести ясность в вопрос о количестве грибов, зарегистрированных на отдельных растениях. Эти цифры были бы более точными, если бы их характеризовали как минимально отражающие реальную ситуацию показатели, что связано с тем, что в исследованиях определялись до видового состава только те грибы, которые могли выделяться в чистую культуру и являлись в экотрофическом отношении факультативами. Ввиду того, что истинные биотрофы невозможно выращивать в чистой культуре на стандартных питательных средах, а также в возникновении нежелательных ситуаций слаба роль грибов, участвующих в формировании эпифитной микобиоты растений, поэтому данные грибы не были изучены. Это, в свою очередь, послужило основанием охарактеризовать количество видов грибов, участвующих в формировании специфичной для того или иного растения микобиоты, как минимального показателя.

Одним из важных моментов, требующих особого внимания при изучении грибов, формирующих микобиоту растений пищевого назначения, является количество токсигенов как проявление их экотрофической специализации. Так, продуцируемые в результате жизнедеятельности грибов некоторые вторичные метаболиты обладают высокотоксичным действием, а для некоторых даже неизвестен допустимый предел концентрации, не влияющих на здоровье человека. С учетом этого были проведены исследования по определению удельного веса токсигенов среди общего количества грибов, зарегистрированных на отдельных растениях. Полученные результаты показали, что 47,1–63,2% грибов, участвующих в формировании микобиоты изучаемых растений, относятся к видам с той или иной степенью токсической активности (табл. 2). Как видно, наибольший удельный вес токсигенов наблюдается у пшеницы, а наименьший — у томатов, что на наш взгляд, является особенностью, обусловленной химическим составом и биологическими свойствами этих растений.

Следует отметить, что все зарегистрированные в исследованиях грибы относятся к факультативным в экотрофическом отношении, поэтому все они в той или иной степени обладают патогенностью. Для реализации этой активности важно, чтобы грибной мицелий проникал в клетку растения-хозяина, а поскольку стенка растительной клетки имеет сложный полимерный состав, то ее элиминация происходит каталитическим

путем, т.е. для проникновения грибов вглубь клетки требует наличия у них сильной ферментативной системы. Учитывая это, было сочтено целесообразным охарактеризовать указанные грибы по ферментам, гидролизующим полисахариды клеточных стенок растений. Полученные результаты показали, что активность изучаемых ферментов обнаруживается у всех перечисленных грибов, но их уровни характеризуются разными количественными показателями (рис. 3).

Как видно, одни грибы отличаются от других конкретными, другие несколькими показателями активности. Например, активность ферментов целлюлазы и ксиланазы у грибов, принадлежащих к роду *Trichoderma*, высока по сравнению со всеми грибами, а активность амилазы наиболее высока у видов, принадлежащих к роду *Fusarium*. Различная активность в то же время позволяет отметить, что патогенная особенность этих грибов также будет различной. Встречающаяся у грибов в той или иной степени активность ферментов, катализирующих расщепление полимеров клеточной стенки растений, может отрицательно оцениваться, поскольку активность фермента является благоприятным показателем их проникновения в клетку и продолжения своей негативной деятельности.

При обобщенной характеристике ферментативной активности зарегистрированных грибов можно отметить, что у таких грибов как *Alternaria*, *Fusarium*, *Verticillium* и др. активность всех ферментов сбалансирована, что позволяет отметить у них сравнительно более высокую патогенность. Согласно нашим наблюдениям, а также литературным данным, патогенная активность грибов со сбалансированной ферментной системой по активности гидролаз выражается относительно высокими показателями, и в основном, это более ярко проявляется у факультативных грибов.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что некоторые растения, используемые в пищевых целях в Азербайджане, также являются одним из источников питания грибов. Среди грибов, участвующих в формировании микобиоты изучаемых растений, присутствуют факультативные и токсигенные в экотрофическом отношении, а тот факт, что все они обладают активностью гидролитических ферментов, катализирующих полисахариды полимеров клеточной стенки, позволяет отметить их большой патогенный потенциал.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алимов А.М., Закирова Л.А. Химия пищи — Казань: ФГБОУ ВО КГВМУ, 2018. — 55с.
2. Билай В.И., Курбацкая Э.А. Определитель токсинообразующих грибов. Киев: Наук. думка, 1990, 236 с.

3. Бурова Т.Е. Биологическая безопасность сырья и продуктов питания. Потенциально опасные вещества биологического происхождения: Учеб. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2014. 136 с.
4. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2006, 816 с.
5. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982, 240 с.
6. Ламажапова, Г.П. Физиология питания. — М.: Мир науки., 2016. — 146 с.
7. Мельситова, И.В. Качество и безопасность продуктов питания: пособие. В 2 ч. Ч. 2. Безопасность продуктов питания / И.В. Мельситова. — Минск: БГУ, 2016. — 199 с.
8. Методы экспериментальной микологии (Под. ред. Билай В.И.) /Киев: Наукова думка, 1982, 500 с.
9. Мурадов, П.З., Ализаде, К.С., Магеррамова, М.Г. и др. Оценка продуктов пищевого назначения по микробиологическим показателям// Вестник МГОУ, Серия «Естественные науки», 2011, № 4, s.30–33
10. Нетрусов, А.И., Егорова, М.А., Захарчук, Л.М. и др. Практикум по микробиологии. — М.: Издательский центр «Академия», 2005, 608с.
11. Саттон Д. Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М: Мир, 2001, 468с.
12. Chang, H.X., Yendrek, C.R., Caetano-Anolles, G. et al. Genomic characterization of plant cell wall degrading enzymes and in silico analysis of xylanases and polygalacturonases of *Fusarium virguliforme*//BMC Microbiol., 2016, 16, 147. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0761-0>
13. Ellis M.B. Dematiaceous Hyphomycetes. C.M.J.: Kew, 1971, 608p.
14. Basic searching on MycoBank <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx>
15. Kirk P.M., Stalpers J.A. Dictionary of the fungi, 10th edn. CABI publishing / P.M. Kirk, P.F. Cannon, D.W. Minter. — Wallingford (UK), 2008, 600 p.
16. Lorenzo, J.M., Munekata, P.E., Dominguez, R. et al. Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description.// Innovative Technologies for Food Preservation. 2018, p.53–107.
17. Sharma, K.D., Karki, S., Thakur, N.S., Attri, S. Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review.//J Food Sci Technol., 2012, v.49 (1), p.22–32.

© Юсифова Мехрибан Рауф кызы (mqezalova@mail.ru), Мамедалиева Марям Халыг кызы (meryam77@mail.ru),

Ахундова Назиля Абдул кызы (nazily.akhundova@mail.ru), Бабашлы Айнур Амирхан кызы (aynurb@list.ru),

Гусейнли Севиндж Маариф кызы (azmbi@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



г. Баку