

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ТОКСИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ - КОНТАМИНАНТОВ СУХИХ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР В АРМЕНИИ

К.М. ГРИГОРЯН, О.А. ЮСЕФ, Л.Л. ОСИПЯН

Ереванский государственный университет, кафедра ботаники, 375049

Из 55 образцов семян бобовых выделено и идентифицировано 40 видов микромицетов, относящихся к 9 родам из классов *Zygomycetes* и *Deuteromycetes*. Все образцы оказались заспоренными в большей или меньшей степени грибами, являющимися потенциальными продуцентами микотоксинов. Из испытанных 20 штаммов 10 обладали токсичными и слаботоксичными свойствами, у остальных токсичные свойства не выявлены. Отмечена сравнительно низкая частота встречаемости микотоксинов в пищевых семенах фасоли, нута, чечевицы, гороха и, наоборот, высокая частота встречаемости микотоксинов в сое и соевой муке.

Ունգաժոր սերմերի 55 նմուշներից անջատվել և որոշվել են 40 տեսակի միկրոմիցետներ, որոնք պատկանում են *Zygomycetes* և *Deuteromycetes* դասերի 9 ցեղերին: Բոլոր հետազոտված նմուշները ավել կամ պակաս չափով աղտոտված էին սնկերի սպորներով, որոնք հանդիսանում են միկոտոքսինների պոտենցիալ արտադրիչներ: Չետազոտված 20 շտամներից 10-ը օժտված էին տոքսիկ կամ թույլ տոքսիկ հատկություններով, մնացած շտամների մոտ տոքսիկ հատկություններ չեն հայտնաբերված: Միկոտոքսինների հանդիպման համեմատաբար ցածր հաճախականություն է դիտվել լոբու, սիսեռի, ոսպի, դոռի սերմերում և, ընդհակառակը, միկոտոքսինները առավել հաճախ նկատվել են սոյայի սերմերում և սոյայի ալրի մեջ:

From 55 samples of leguminous cultures seeds have been isolated and identified 40 species of micromycetes, belonging to 9 genera of classes *Zygomycetes* and *Deuteromycetes*. The all examined samples were more or less contaminated with spores of fungi which are the producers of mycotoxins. Among 20 tested strains 10 had toxic or slightly toxic properties, in the rest the toxic properties were not revealed. The comparatively low frequency of mycotoxins has been observed in seeds of bean, chick pea, lentil, pea, on the contrary, it was high in soya bean and soya flour.

Бобовые - микромицеты - контаминанты - микотоксины

Бобовые являются важнейшими компонентами пищевого рациона, а в некоторых регионах — основным пищевым продуктом.

Из бобовых культур наиболее часто контаминировются плесневыми грибами семена сои, фасоли, чечевицы [9]. Изучению микофлоры семян посвящены многочисленные исследования. В результате исследования 100 образцов семян фасоли в Египте [6] изолировано 73 вида из 32 родов. Наибольшая частота встречаемости отмечена у видов *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. alliaceus*. В 35% исследованных образцов семян обнаружены афлатоксины в количестве от 5 до 35 мкг/кг.

Японские исследователи [9] подвергли микологическому анализу 604 образца различных видов (импортированных в Японию и местного производства) сухих семян бобовых с целью изучения их контаминированности грибами и микотоксинами. Самый высокий уровень поражения грибами отмечался у фасоли (79% проб), а самый низкий показатель — у вигны (59%).

Ими выделены виды *Aspergillus nidulans*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *Penicillium viridicatum*, продуцирующие в чистых культурах стеригматоцистин и охратоксин А. Вместе с тем при анализе 52 образцов фасоли, зараженных токсигенными штаммами, микотоксины не были обнаружены.

Из плесневелых семян фасоли Тсенгом и др. [15] выделены виды *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. solani*, а также обнаружены микотоксины диацетоскирпинол, дезоксиниваленол, Т-2 токсин и фуманизин. Маимус и др. [12] установили загрязнение семян кормовых бобов в полевых условиях афлатоксинами В₁, В₂, G₁, G₂ и охратоксином А.

При микологическом анализе 150 образцов нута, отобранных с рынков Тайваня [10], выделено 18 видов грибов. В числе наиболее характерных видов отмечены *Rhizopus stolonifer*, *A. candidus*, *A. fumigatus*.

Приведенный перечень фактов свидетельствует об актуальности микологических и микотоксикологических исследований, направленных на обеспечение безопасности бобовых продуктов.

Цель настоящей работы заключалась в выявлении видового состава грибов, контаминирующих сухие семена пищевых бобовых культур, в определении токсигенности наиболее часто встречаемых видов грибов-контаминантов, установлении степени загрязненности их афлатоксинами, зеараленоном, стеригматоцистином.

Материал и методика. Исследовали сухие семена фасоли, гороха, нута, сои, чечевицы местного производства и ввезенных в Армению из других стран в качестве гуманитарной помощи в 1996 - 1998 гг.

Выделение микромицетов из сухих семян бобовых проводили по методу серийных разведений, непосредственным посевом семян на питательные среды, использовали также влажные камеры [2]. Питательные среды - Чапек агар, глюкозо-дрожжевой агар с добавлением антибиотиков [11]. Для характеристики структуры комплексов микромицетов использовали показатели частоты встречаемости и степени заспоренности [7, 11].

Для идентификации изолированных культур пользовались руководствами [1, 13, 14].

Токсичность грибных штаммов определяли на следующих биотестах: *Paramecium caudatum*, личинках *Artemia salina*. фитотоксичность — на семенах гороха [2, 8]. Химический анализ грибных экстрактов и семян бобовых на содержание афлатоксинов, зеараленона, стеригматоцистина проводили методом ТСХ-флуориметрии [3, 4, 5].

Результаты и обсуждение. В результате анализа 55 образцов семян бобовых выделено и идентифицировано 40 видов микромицетов, относящихся к 9 родам из классов *Zygomycetes* и *Deuteromycetes*. Все образцы были контаминированы спорами плесневых грибов. Степень заспоренности находилась в пределах 10^2 - 7×10^4 КОЕ/г продукта. В некоторых странах (Венгрия, Франция, США, Австралия) допустимое содержание спор микромицетов в семенах зернобобовых культур лимитировано в пределах 5×10^2 - 10^3 КОЕ/г. В странах СНГ подобные регламентирующие нормативы отсутствуют.

В табл. 1 приводятся состав видов грибов, контаминирующих семена бобовых, и частота их встречаемости. Самыми специфичными контаминантами для сухих семян бобовых оказались представители родов *Peni-*

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ТОКСИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ

Таблица 1. Контаминирующая микобиота семян бобовых культур и частота встречаемости

Субстраты	Страна, кол-во образцов	Виды грибов	Частота встречаемости
Фасоль	Армения, США, Канада 15	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehenb.) Vuill.	+
		<i>Botrytis fabae</i> Pers. et Fir.	+
		<i>Alternaria alternata</i> /Fr. Keissler	+
		<i>Cladosporium cladosporoides</i> (Fres.) de Vries	+
		<i>Aspergillus avenaceus</i> Smith	++
		<i>A. candidus</i> Link	++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	+++
		<i>A. roseovelutinus</i> Kamyschko	+
		<i>Penicillium citrinum</i> Thom	+
		<i>P. hordei</i> Stolk	++
		<i>P. lanosum</i> Westling	+
		<i>P. palitans</i> Westling	++
		<i>P. purpurogenum</i> Stoll	++
		<i>P. resticulosum</i> Berkinshaw	+
Горох	Венгрия, США, Армения, Россия 9	<i>Mucor mucedo</i> Fres.	+
		<i>M. racemosus</i> Fres.	+
		<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link	+
		<i>Aspergillus flavus</i> Link	+++
		<i>A. niveus</i> Blochwitz	++
		<i>A. parasiticus</i> Speare	+++
		<i>Penicillium diversum</i> v. aureum Raper et Fenell	+
		<i>P. fuscum</i> (Soop) Raper et Thom	+
		<i>P. steckii</i> Zal.	+
Пут	Иран, Армения 11	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	+
		<i>Fusarium avenaceum</i> Cheld	+
		<i>Aspergillus flavus</i> Link	+++
		<i>A. foetidus</i> (Naka.) Thom et Raper	+++
		<i>A. japonicum</i> Saito	+
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	++
		<i>A. ochraceus</i> Wilhelm.	+
		<i>A. sulphureus</i> (Fres.) Thom et Church	+++
		<i>A. terreus</i> Thom	+
		<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	+
		<i>P. raciborekii</i> Zal.	+
Чечевича	Россия, Армения, США, Канада 10	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	+
		<i>Aspergillus alliaceus</i> Thom et Church	+
		<i>A. amstelodami</i> (Mangin) Thom et Church	+
		<i>A. candidus</i> Link	+++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. foetidus</i> (Naka.) Thom et Raper	++
		<i>A. fumigatus</i> Fres.	++
		<i>A. nidulans</i> (Eidam) Wint.	+
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	+++
		<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	+
		<i>A. sulphureus</i> (Fres.) Thom et Church	+
		<i>A. terreus</i> Thom	+
		<i>Penicillium citreo-viride</i> v. aeneum Abe	+
		<i>P. oxalicum</i> Currie et Thom	+
		<i>P. roqueforti</i> Thom	+
		<i>P. steckii</i> Zal.	++
		<i>P. viridicatum</i> Westling	+
Соя, соевая мука	США, Канада, Испания 10	<i>Fusarium moniliforme</i> Cheld	++
		<i>Stemphyllium botryosum</i> Wallr.	+
		<i>Aspergillus candidus</i> Link	++
		<i>A. flavus</i> Link	+++
		<i>A. fumigatus</i> Fres.	+
		<i>A. nidulans</i> (Eidam) Wint.	+++
		<i>A. niger</i> v. Tiegh.	++
		<i>A. oryzae</i> (Ahlb.) Cohn	++
		<i>A. parasiticus</i> Speare	++
		<i>Penicillium cyclopium</i> Westling	+
		<i>P. lanosum</i> Westling	+

Примечание: +++ - высокая частота встречаемости, ++ - средняя частота встречаемости, + - низкая частота встречаемости

cillium, насчитывающие 17 видов, и *Aspergillus* - 16 видов. Единичными видами представлены роды *Rhizopus*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Stemphillium*.

В большинстве образцов отмечалась средняя и высокая степень заспоренности видами рода *Aspergillus* - *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger*. На нуте из Армении часто регистрировались виды *A. flavus*, *A. foetidus* и *A. sulphureus*, а для чечевицы из Канады характерны виды *A. candidus* и *A. niger*. Фасоль, завезенная из США, отличалась сравнительно высокой степенью заспоренности видами рода *Penicillium* - *P. purpurogenum*, *P. hordei*, *P. palitans*. В семенах сои и в соевой муке наблюдали преобладание видов *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. parasiticus*, *A. niger*. Горох сильнее всего поражен видами *A. flavus* и *A. ochraceus*.

Таким образом, все обследованные бобовые оказались заспоренными в большей или меньшей степени грибами, являющимися потенциальными продуцентами микотоксинов. Однако известно, что токсинообразование - неустойчивый процесс и зависит от многих факторов. Поэтому выделение из пищевых продуктов грибов, известных как продуценты микотоксинов, еще не является доказательством неопровержимого наличия в них микотоксинов, характерных для контаминирующих видов грибов. Это подтверждается результатами проведенных нами экспериментов по выявлению токсинообразующей способности штаммов микромицетов, выделенных из семян бобовых, содержащих микотоксины, а также из продуктов, не загрязненных ими.

Из 6 штаммов *Aspergillus*, выделенных из соевой муки, содержащей афлатоксин В₁, в экстрактах двух культивированных штаммов *A. flavus* С-15, С-23 и одного штамма *A. parasiticus* С-7 обнаружен афлатоксин В₁ в количестве 50, 75, 20 мкг/л. Два штамма *A. nidulans* С-9, Ф-120 продуцировали стеригматоцистин (150 и 20 мкг/л). Штамм *Fusarium moniliforme* С-53, изолированный из сои, содержащей зеараленон, синтезировал тот же токсин на уровне 3 мкг/л. Во всех перечисленных случаях грибы-контаминанты проявили токсинообразующую способность в культуре. Вместе с тем штаммы грибов *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, *F. moniliforme*, *F. avenaceum*, также возможные продуценты микотоксинов и обладающие высокой частотой встречаемости в сухих семенах бобовых, часто выделялись из продуктов, не содержащих микотоксины. При культивировании этих штаммов на питательных средах они также не продуцировали микотоксины и не проявляли токсичности.

Полученные экспериментальные данные позволяют заключить, что в подавляющем большинстве случаев из продуктов, содержащих микотоксины, выделяются микотоксигенные штаммы.

В табл. 2 представлены результаты биотестирования грибных штаммов, выделенных из семян бобовых, на токсичность и токсинообразование. Культуральные жидкости потенциального токсигенного гриба *A. flavus* (Г-22, Г-17, Ч-14, Ф-125, Г-25), не содержащие афлатоксины, не оказывают влияния на всхожесть семян гороха, т.е. не обладают фитотоксичностью. Иногда у некоторых штаммов *A. niger* Ф-57, С-17 наблюдается очень слабая

Таблица 2. Характеристика фито- и зоотоксичности штаммов грибов, изолированных из семян культур, и продуцирование ими токсинов

Виды и штаммы грибов	Степень токсичности на тест-объектах			Продуцированные микотоксины, мкг/л
	<i>Pisum L.</i>	<i>P. caudatum</i>	<i>A. salina</i>	
<i>Aspergillus flavus</i> Г-22	-	+	-	-
<i>A. flavus</i> Г-17	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> Ч-14	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> С-15	++	+++	+++	Афлатоксин В ₁ 50
<i>A. flavus</i> Ф-125	-	-	-	-
<i>A. flavus</i> С-23	+++	++	++	Афлатоксин В ₁ 75
<i>A. flavus</i> Г-25	-	-	-	-
<i>A. nidulans</i> С-9	++	++	++	Стеригматоцистин 150
<i>A. nidulans</i> Ф-120	-	+	+	Стеригматоцистин 20
<i>A. niger</i> С-25	-	-	-	-
<i>A. niger</i> Ф-57	+	-	-	-
<i>A. niger</i> С-17	-	-	-	-
<i>A. parasiticus</i> С-7	+++	+++	+++	Афлатоксин В ₁ 20
<i>A. oryzae</i> С-45	-	+	-	-
<i>A. terreus</i> Н-1	-	-	-	-
<i>Fusarium moniliforme</i> С-53	+++	+++	+++	Зеараленон 3
<i>Penicillium funiculosum</i> Н-2	-	-	-	-
<i>P. palitans</i> Ф-3	-	-	-	-
<i>P. purpurogenum</i> Ф-5	+++	+++	+++	-
<i>P. steckii</i> Г-6	-	-	-	-

Примечание: +++ - остроотоксичен, ++ - токсичен, + - слаботоксичен, - - нетоксичен.

фитотоксичность, по-видимому, обусловленная присутствием в культуральной жидкости грибов других метаболитов.

Острой фитотоксичностью обладали штаммы *P. purpurogenum* Ф-5, *A. nidulans* С-9, *F. moniliforme* С-53, которые одновременно обладали острой токсичностью в отношении *Paramecium caudatum* и *Artemia salina*. Из испытанных 20 штаммов 6 шт. (30%) обладали токсичностью, 4 шт. (20%) — слабой токсичностью, у 10 шт. (50%) - токсичные свойства не были выявлены.

Проведен микотоксикологический анализ 500 образцов сухих семян бобовых (нут, чечевица, горох, фасоль), подлежащих обязательной сертификации при поступлении в Армению, на предмет присутствия афлатоксина В₁, зеараленона и стеригматоцистина. В одном образце фасоли из США обнаружен афлатоксин G₁ в количестве 3 мкг/л. В остальных образцах указанные микотоксины не были обнаружены.

Из 10 проанализированных образцов сои микотоксины выявлены в двух: афлатоксин В₁ - 10 мкг/кг (при ПДК 5 мкг/кг) и зеараленон - 2 мкг/кг (при ПДК 1 мкг/кг). Афлатоксин В₁ в количестве 30 и 50 мкг/кг и стеригматоцистин, 150 мкг/кг, зарегистрированы в трех образцах соевой муки, поступившей из Испании.

Результаты проведенных исследований позволяют заключить следующее: встречаемость микотоксинов сравнительно низкая в пищевых семенах фасоли, нута, чечевицы, гороха, и, наоборот, высокая - в сое и соевой муке. Не установлено четкой зависимости между степенью заспоренности исследуемых семян бобовых мицелиальными грибами и содержанием в них микотоксинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Билай В.И., Коваль Э.З.* Аспергиллы. Киев, Наукова думка, 1988.
2. Методы экспериментальной микологии. Киев, Наукова думка, 1982.
3. Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола и зеараленона в зерне и зернопродуктах. М., 1990.
4. Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания афлатоксинов в зерне и зернопродуктах. М., 1986.
5. *Эллер К.М., Григорян К.М., Осипян Л.Л., Максименко Л.В., Тутелян В.А.* Микол. и фитопатол., 18, 6, 467-470, 1984.
6. *El-Kady I.A., Yousser M.S. J.* Basic Microbiol., 33, 6, 371-378, 1993.
7. *El-Kady I.A., J.H. Abdel-Hafez S.I.I., El-Maraghy S.S.* Mycopathologia, 77, 103-109, 1982.
8. *Harwing P.M.* Appl. Microbiol., 21, 6, 1011-1016, 1971.
9. *Hitokoto M., Morozumi S.* Mycopathologia, 73, 1, 33-38, 1981.
10. *Hitokoto M.* IUPAC 88, 103-105, Tokyo, 1988.
11. Norme Francaise NF ISO 7698-91 Cereales, legumneuses et produits derives. Denobreme des bacteries, levures, et moisissures.
12. *Mahmouss A.L.E., Ahd-Alla M.H.* Soil. Biol. And Biochem., 26, 8, 1081-1085, 1994.
13. *Pitt J.I.* The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talavomyces*. London: Acad. Press, 634, 1979.
14. *Samson R.A., Pitt J.I.* Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics. London: Plenum Press, 410, 1985.
15. *Tseng T.C., Tu J.C., Soo L.C.* Microbios, 84, 338, 21-28, 1995.

Поступила 10.IX.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 579.6:620.193.8

ОСОБЕННОСТИ ГРИБНОГО ОБРАСТАНИЯ ФТОРОПЛАСТОВЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Р.А. ПЕТРОСЯН*, С.А. ДАВТЯН**, Н.С. ХАЧАТУРЯН**, Н.Л. КАЗАНЧЯН**,
Э.К. АФРИКЯН**

*Министерство охраны природы Армении, 375002, Ереван

**Республиканский центр депонирования микробов НАН и
Министерства образования и науки Армении, 378510, г.Абовян

Изучены особенности грибного обрастания фторопластовых композиционных материалов. Установлена роль технологических условий, компонентного состава и способов дополнительной обработки в инициировании-ингибировании процессов биообрастания композитов.

Ուսումնասիրվել են ֆտորպոլիմերային կոմպոզիցիոն նյութերի սնկապատման յուրահատկությունները: Բացահայտվել է տեխնոլոգիական պայմանների,