

13. Stenlid G. *Physiol. Plantarum*, 1, 16, 1968.
14. Tietze A. *Planta*, 96, 1, 93—96, 1971.
15. Tinklin J. A., Schwabe W. W. *Ann. Bot.*, 34, 136, 1970.

«Биолог. ж. Армении», т. 36, № 11, 1985

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 579.63:582.28

ТОКСИЧНОСТЬ ГРИБА *PENICILLIUM RESTICULOSUM* BIRKINSHAW, КОНТАМИНИРУЮЩЕГО ПЛОДЫ ГРАНАТА В ПЕРИОД ХРАНЕНИЯ

Л. Л. ОСИПЯН, А. Г. БАТИКЯН

Ключевые слова: гранат, гриб *Penicillium resticulosum*.

Многолетние наблюдения позволили выделить среди прочих грибных возбудителей порчи плодов граната в период их хранения вид *Penicillium resticulosum* Birkinshaw. Гриб этот развивается внутри плодов граната после сбора, особенно во время длительного хранения, и является основной причиной сокращения срока их лежкости. Обильно развиваясь, он поражает часто все содержимое плода, превращая его в грязно-зеленую порошковидную споровую массу. Внешние признаки поражения незначительны или вовсе отсутствуют. Характерное размягчение плода обнаруживается обычно при надавливании. Однако при внимательном внешнем осмотре пораженных плодов можно заметить на верхушке, во внутренней полости короны сизый налет. В домашних условиях пораженные плоды легко выявляются и отбраковываются. Малозаметность внешних симптомов поражения плодов в условиях промышленного производства может привести к попаданию их вместе со здоровыми в консервное и винодельное производство. В связи с этим возникла необходимость выяснения токсигенности вида *P. resticulosum*. Среди известных в литературе токсигенных грибов этот вид не значится.

Материал и методика. Исследования проведены на штаммах *P. resticulosum* 127, 147, 208, выделенных с плодов граната 7.12.1976, 25.03.1977 и 5.11.1980.

Для выявления токсичности штаммов была использована методика культивирования на жидкой среде Чапека [2]. После культивирования готовился хлороформный экстракт из культуральной жидкости. Смесь выпаривалась до полного удаления хлороформа и образования осадка, состоящего из комплекса метаболитов гриба. Осадок взвешивался и растворялся в соотношении 1:3 в физиологическом растворе. Отдельно выделялась и культуральная жидкость. Полученный экстракт или культуральная жидкость, профильтрованные через фильтр Зейтца, испытывались на токсигенность.

Определение токсичности проводилось биометодами—на чистой культуре *Paramecium caudatum* и на белых мышах. При первом методе 2 капли экстракта или куль-

туральной жидкости гриба и 1 каплю жидкости с парameциями наносят градуированными пипетками на предметное стекло. Все три капли должны быть одинакового объема. Предметное стекло помещают во влажную камеру. Критерием для определения токсичности служит время гибели парameций от воздействия испытуемого экстракта или культуральной жидкости. Гибель констатируют по полному прекращению движения парameций и их распаду. При действии остротоксичных штаммов гибель парameций наступает через 3 мин, токсичных—8—20 мин, слаботоксичных—через 2 часа. Нетоксичные штаммы грибов не вызывают гибели или каких-либо морфологических изменений парameций даже после 24-часового воздействия.

При втором методе токсичность экстракта или культуральной жидкости гриба испытывалась путем внутрибрюшинного введения белым мышам в трех дозах—0,5, 0,25, 0,1 мл. Каждую дозу вводили 4—5-ти животным. Контрольным животным вводили те же дозы физиологического раствора или жидкой среды Чапека. Для опыта брали животных массой 20 г. Наблюдения за подопытными животными велись в течение двух недель. При остротоксичном действии гриба летальный исход от введения сильной и средней доз наступает в течение первых двух суток, и семи суток—при слабой дозе (0,1 мл). Токсичные штаммы вызывают летальный исход при сильной и средней дозах начиная с третьих суток, а при пониженной дозе возможно выздоровление. Слаботоксичные штаммы вызывают болезненные явления типа угнетения, мышечной дрожи, нарушения координации движений, судорог, паралича, но без летального исхода. Нетоксичные штаммы не вызывают заметных изменений в поведении животных.

Помимо этого, токсигенность грибов проверялась и скармливанием мышам в течение двух недель месячной культуры исследуемого штамма гриба, выращенного на зернах пшеницы, в количестве, предусмотренном суточным рационом указанных животных. Контрольных животных вскармливали стерильным зерном в этом же количестве. Клинические наблюдения за подопытными животными велись ежедневно с учетом температуры, дыхания, состояния слизистых оболочек, особенно ротовой полости, общего поведения мышей, количества съеденного корма. При вскармливании остротоксичными штаммами летальный исход наступает с 3-го по 7-й день, токсичными штаммами—на 7—10-й день. Слаботоксичные штаммы вызывают понижение аппетита, нарушение координации, дрожь, потерю в весе без летального исхода. При нетоксичных штаммах каких-либо внешних признаков отравления не обнаруживается, за исключением понижения аппетита.

Проведены гематологические исследования белых мышей до и после введения экстракта гриба через 24 ч, на 3, 5, 7-е сутки. Методики этих исследований приведены в наших предыдущих публикациях [1, 3].

По окончании опыта производили вскрытие подопытных животных.

Результаты и обсуждение. При воздействии культуральной жидкостью или экстрактом гриба *P. resticulosum* на чистую культуру *Paramecium caudatum* через 8—10 мин наблюдается замедление движений, паралич, сильное расширение вакуоли, а лизис парameций наступает в течение 20 мин. При испытании культуральной жидкости или экстракта гриба путем внутрибрюшинного введения у белых мышей отмечались явления типа угнетения, мышечной дрожи, нарушения координации движений, судорог, паралича. Летальный исход наступал начиная с третьего дня при сильной и средней дозах. Таким образом, штаммы гриба *P. resticulosum* проявили себя как токсичные. Аналогичный результат получен при вскармливании, однако летальный исход при этом наступает в более растянутые сроки—через 7—10 дней.

Гематологические исследования выявили у подопытных животных следующие изменения со стороны эритропоза: после введения слабой дозы экстракта гриба наблюдалось гиперхромное снижение количества эритроцитов и гемоглобина, которое поддерживалось и в дальнейшем. Однако снижение абсолютного количества ретикулоцитов в красной

крови при относительном ретикулоцитозе, не свидетельствует о подавлении функции костного мозга. При введении высокой (0,5 мл) дозы экстракта наблюдались более глубокие изменения эритроцитов, гемоглобина и ретикулоцитов, но относительно высокий процент цетного показателя и ретикулоцитов свидетельствовал об активном состоянии костного мозга.

Со стороны лейкопоза отмечались следующие изменения: в зависимости от введенной дозы экстракта и индивидуальных особенностей животных наблюдались лейкопения разной степени. Эти изменения говорят о подавлении иммунозащитной реакции организма.

У подопытных животных, подвергнутых воздействию экстракта гриба, отмечены патоморфологические изменения, выражающиеся в резких дистрофических нарушениях паренхиматозных органов (печень, почки) и кровоизлиянии слизистых оболочек.

Кроме штаммов *P. resticulosum*, выделенных с граната, были испытаны на токсичность и штаммы того же гриба, выделенные с плодов груши (шт. 107) и из варенья черешни (шт. 98). Эти штаммы проявили идентичную степень токсичности, а *P. resticulosum* 98, выделенный из варенья, проявил признаки токсичности только при воздействии экстракта или культуральной жидкости на парameции (таблица).

Таблица
Результаты сравнительного испытания биометодами различных штаммов *P. resticulosum* на токсичность

Штаммы грибов	Субстраты	Токсичность при испытании биометодами		
		парameции	белые мыши	белые мыши
			в б введение	скармливание
127	гранат	+	+	+
147	гранат	+	+	+
208	гранат	+	+	+
107	груша	+	+	+
98	варенье из черешни	+	—	—

Таким образом, выявлены токсические свойства у гриба *Penicillium resticulosum*, ранее неизвестного как токсинообразователь.

Поскольку *P. resticulosum* контаминирует и ряд других продуктов, необходимо в дальнейшем идентифицировать микотоксины, продуцируемый им, и выявить возможность попадания его в продукты питания, в частности в гранатовый сок.

Ереванский государственный университет,
кафедра ботаники

Поступило 30.III 1983 г.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аветова С. Г., Батикян А. Г., Осипян Л. Л. Биолог. ж. Армении, 33, 8, 1980.
2. Курсанова В. В., Костин В. В., Малиновская Л. С. Методы исследования в ветеринарной микологии. М., 1971.
3. Осипян Л. Л., Аветова С. Г., Батикян А. Г. Уч. зап. ЕГУ, 3, 1980.