

ЕКОЛОГО-ТРОФІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТОКСИГЕННИХ ГРИБІВ

О. В. Башта, кандидат біологічних наук,

Досліджено особливості заселення токсигенними грибами кормів, виявлено селективну дію рослин протягом вегетації та конкурентні взаємовідносини між видами під час заселення субстрату. Отримані результати будуть використані для прогнозування формування мікобіоти кормів різноманітних агробіоценозів.

Мікобіота, токсигенні гриби, корми, мікотоксини

Останні десятиліття були відзначені загальним погіршенням мікотоксикологічної ситуації у світі в зв'язку з порушенням екологічної рівноваги, на яку мали вплив інтенсивні технології вирощування сільськогосподарських культур, а також забруднення природного середовища.

У групі токсикантів природного походження особливе місце належить продуктам метаболізму мікроскопічних грибів – антибіотикам, пробіотикам, мікотоксинам. Через рослинну їжу й корми біологічно активні речовини потрапляють до організму людини і тварин, часто стають причиною гострих та хронічних хвороб. На сьогодні відомо більше 250 видів токсигенних грибів [2, 7, 12, 16], які уражують сільськогосподарські культури, і понад 400 токсичних сполук різної хімічної природи, що характеризуються різним механізмом біологічної дії на живий організм [5,14].

Найбільш поширеними видами грибів у кормах є представники родів *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*, *Epicoccum* та *Nigrospora*, серед них основні продуценти

мікотоксинів – гриби родів *Fusarium*, *Aspergillus* та *Penicillium*, джерелом яких на кормах є ґрунт і ризосфера, а також пил і комахи [1, 10].

Веgetуючі рослини заселені мікроорганізмами, які найбільш інтенсивно розмножуються на стеблах, листі, насінні (зерні) рослин під час їх вегетації. Гриби – фітопатогени, зокрема фузарії, аспергіли, що пошкоджують веgetуючі рослини, після їх загибелі можуть продовжувати свою життєдіяльність у міжвеgetаційний період як сапротрофи на зерні, стеблах, листі (сіно, солома) і плодах [11, 13]. Тому контроль за якістю кормів пов'язується не тільки з ураженням їх у період збирання, обмолоту, зберігання, а і з пошкодженням кормової сировини в період веgetації рослин.

В останні роки вивченню токсинів фітопатогенних грибів приділяють все більшу увагу, яка пояснюється включенням мікотоксинів у трофічний цикл біосфери [7, 14].

Метою досліджень було вивчення конкурентних взаємовідносин серед мікобіоти колосу пшениці озимої та встановлення ролі мікроміцетів, як потенційних продуцентів мікотоксинів в період веgetації рослин.

Матеріали та методи дослідження. Для виявлення мікобіоти застосовували класичні мікологічні методи: метод накопичення культур грибів у вологих камерах, прямої інокуляції рослинних зразків на живильні середовища. Посіви культивували за температури 26–28° С протягом 3–5 діб [6, 8].

Під час дослідження використовували агаризовані диференційно-діагностичні живильні середовища, оптимальні для росту і розвитку окремих фізіологічних груп мікроорганізмів: м'ясо-пептонний агар (МПА) – для бактерій; середовище Чапека – міцеліальних грибів; сусло-агар (СА, 7° за Балінгом) – міцеліальних грибів та дріжджів; середовище Сабуро – дріжджів та дріжджеподібних грибів.

Підрахунок колоній починали на 3–4-ту добу після висіву досліджуваного зразка і проводили 2–3 обліки з інтервалом 1–2 доби.

Ідентифікацію вилучених видів мікроміцетів проводили за морфологічними мікроструктурами грибів (спорами, конідіями та ін.) користуючись світловими мікроскопами: фірм “Carl Zeiss” (Німеччина) та МБД–6 (об'єктиви $\times 8$, $\times 40$, $\times 90$) [1, 3, 4, 10, 11].

Тест-культурами були гіфоміцети, дріжджі, дріжджеподібні гриби, грам позитивні та грамнегативні бактерії. Бактерії інкубували за температури 37° С протягом 24 год, міцеліальні гриби та дріжджі – 26–30° С протягом 48–72 год [6]. Наважка посівного матеріалу відповідно 250–500 млн. бактеріальних клітин, 200–300 тис. клітин дріжджів і дріжджеподібних організмів, 10–20 тис. конідій гіфоміцетів (елементів міцелію, спор) в 1 мл суспензії. Біопробу на чутливих тест-мікроорганізмах застосовували для визначення токсичності грибів.

Для дослідження спектра антибіотичної дії гіфальних грибів, вилучених з колосу пшениці, стосовно різних груп мікроорганізмів користувалися методами агарових блоків та паперових дисків [6, 8].

Токсичність грибів оцінювали за розміром пригнічення росту тест-культури навколо блоку чи диску:

Ступінь токсичності	Радіус зони пригнічення росту, мм
Токсичні	>10
Слаботоксичні	5–10
Нетоксичні	Відсутність зони пригнічення росту

Результати дослідження. Проведені нами дослідження з вивчення видового та кількісного складу мікроміцетів колосу озимої пшениці потенційних продуцентів мікотоксинів у період вегетації рослин, показали що мікроміцети належать до чотирьох відділів: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota, Deuteromycota (Mitosporic fungi); чотирьох класів: Zygomycetes, Euascomycetes, Hyphomycetes, Agonomycetes; п'яти порядків: Mucorales, Eurotiales, Sordariales, Hyphomycetales Agonomycetales семи родин Mortierellaceae, Mucoraceae, Trichocomaceae Chaetomiaceae Moniliaceae Dematiaceae Agonomycetaceae 17 родів *Mortierella*, *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Emmericella*, *Eupenicillium*, *Eurotium*, *Talaromyces*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mycelia sterilia* 51 виду.

Серед них домінуючими родами були *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*.

Значна кількість видів епіфітної мікобіоти виявлена у фазі цвітіння та молочної стиглості – 44 і 37, а найменша – у фазі колосіння (29 видів).

При цьому найбільша частка видів під час колосіння була представлена темнозабарвленими та пеніцилами, а під час цвітіння і молочної стиглості – темнозабарвленими та фузарієм, під час воскової стиглості домінували темнозабарвлені гриби родів *Alternaria*, *Cladosporium*, *Drechslera*.

Ендофітна мікобіота колосу була лише трьох видів, серед яких найчисельнішою також виявилася група анаморфних грибів. Всього було ізольовано 34 види грибів, а домінуючими родами серед яких також були *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* та *Penicillium*.

Видовий склад ендофітної мікобіоти був найбільшим також у фазах цвітіння та молочної стиглості (20 і 21 вид), а найменша кількість видів (16) ідентифікована у фазі колосіння.

При цьому темнозабарвлені гриби домінували серед ендофітної мікобіоти за кількістю майже на всіх етапах формування колосу. Гриби роду *Fusarium* домінували у фазі молочної стиглості.

Заселення грибами рослинних субстратів залежить від біохімічних особливостей мікроміцетів: наявності комплексу ферментів, а також здатності продукувати речовини, токсичні для інших організмів. Існують дані, що токсини грибів виконують функції, спрямовані на забезпечення виживання мікроміцетів у конкурентній боротьбі під час освоєння субстрату, у зв'язку з цим вони мають багато спільного з антибіотиками за специфічністю їх дії на відповідні ланцюги обміну речовин мікроорганізмів.

Нами були досліджена антимікробна активність 27 ізольованих видів (74 штамів грибів).

Антагоністичну активність щодо фітопатогенних грибів виявляє значна кількість сапротрофних мікроміцетів, що належать до різних таксономічних груп. Антибіотична дія грибів зумовлена їхньою здатністю утворювати антибіотики, а також активно конкурувати під час освоєння живильного субстрату та виявляти гіперпаразитичну активність [15].

Широким спектром антимікробної дії характеризувалися *Fusarium sambucinum* 139, *Fusarium oxysporum* 1806, *F. culmorum* 216, *F. graminearum* 986, *Aspergillus flavus* 8799, *A. fumigatus* 276, *Penicillium granulatum* 2898, *Alternaria tenuissima* 2706. (зони пригнічення росту тест-культури від 5 до 20 мм).

В умовах *in vitro* гіфоміцети родини *Dematiaceae* не відзначались значною фунгістатичною активністю стосовно тест-культур мікроміцетів, хоча в природній асоціації мікоценозу колосу темнозабарвлені гриби переважають серед компонентів мікобіоти колосу пшениці. Мабуть, це пов'язано з особливостями представників меланіноутворювальних мікроміцетів пристосовуватись до несприятливих екологічних умов існування.

Висновки. Еколого-трофічні особливості токсигенних грибів, що уражують корми, визначаються селективною дією рослин протягом вегетації та конкурентними взаємовідносинами під час заселення субстрату. Своєчасне виявлення токсигенних грибів в агроценозах є актуальним для запобігання акумуляції мікотоксинів у рослинній продукції та кормах. Отримані результати будуть використані для основ прогнозування формування мікобіоти кормів різноманітних агробіоценозів.

Список літератури

1. Атлас токсичных грибов, поражающих корма / М. С. Даньшина, Н. С. Даньшин, В. Ф. Тимчук. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 91с.
2. Бабаянц О. В. Проблемы накопления токсинообразующих микромицетов в зерне и семенах озимой пшеницы / О. В. Бабаянц // Успехи медицинской микологии: четвертый Всероссийский конгресс по медицинской микологии: Апрель 2006г.: тезисы докл. – М.: Национальная академия микологии, 2006. – С. 92–94.
3. Билай В. Й. Токсинообразующие микроскопические грибы и вызываемые ими заболевания человека и животных / В. Й. Билай, Н. М. Пидопличко. – К.: Наук. Думка, 1970. – 287с.
4. Билай В. Й. Определитель токсинообразующих микромицетов / В. Й. Билай, З.А. Курбацкая. – К.: Наук. думка, 1990. – 236 с.
5. Качанова С. П. Микотоксины и микотоксикозы сельскохозяйственных животных / С. П. Качанова. – М.: ВАСХНИЛ, 1983. – 71 с.
6. Методы экспериментальной микологии: Справочник / [Под ред. В. И. Билай]. – К.: Наук. думка, 1982. – 550 с.
7. Микотоксины: фундаментальные и прикладные аспекты / В. В. Смирнов, А. М. Зайченко, И. Г. Рубежняк [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 1. – С. 5–12.

8. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология / Т. Г. Мирчинк. – М.: МГУ, 1988. – 205 с.
9. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості : ДСТУ 4138–2002. – К.: Держспоживстандарт України, 2003. – 174 с.
10. Новое в систематике и номенклатуре грибов / [Сидорова И. И., Багирова С. Ф., Сергеев Ю. В. и др.]; под ред. Ю. Т. Дьякова. – М.: Национальная академия микологии, Медицина для всех, 2003. – 496с.
11. Пидопличко Н. М. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель в 3-х томах / Н. М. Пидопличко – К.: Наук. думка. – Т. 1. – 1977–295с.; Т.2. – 1977–299с.; Т.3. – 1978–230 с.
12. Тутельян В. А. Микотоксины: медицинские и биологические аспекты / В. А. Тутельян, Л. В. Кравченко. – М.: Медицина, 1985. – 319с.
13. Agrios G. Plant pathology / G. Agrios // Academic Press, 1988. – 803 p.
14. Prevention of exposure to mycotoxins from food and feed / Maja Peraica, Ana-Marija Domijan, Bogdan Cvjetkovic [et al.] // Arh Hig Rada Toksikol. – 2002. – Vol. 53. – P. 229–237.
15. Real-time PCR Quantification and Mycotoxin Production of *Fusarium graminearum* in Wheat Inoculated with Isolates Collected from Potato, Sugar Beet, and Wheat / Rishi R. Burlakoti, Rolando Estrada, Jr., Viviana v. rivera [et al.] // Phytopathology. – 2007. – Vol. 97. – P. 835–841.
16. Rotem I. The genus *Alternaria*. Biology, epidemiology and pathogenecity / I. Rotem. – Minesoty: ASP Press, 1994. – 326 p.

Изучены особенности заселения токсинообразующими грибами кормов, отмечена селекционное действие растений в период их вегетации на конкурентные взаимоотношения между видами при заселении субстратов. Полученные результаты будут использованы для прогнозирования формирования микобиоты кормов разнообразных агробиоценозов.

Микобиота, токсинообразующие грибы, корма, микотоксины.

Peculiarities of fodder colonization by toxigenic fungi were studied, selective action of plants during vegetation period and concurrent interactions between fungal species during substrate colonization were observed. Results obtained can be used to help predict prognosis of mycobiota formation on fodders in different agrobiocenoses.

Mycobiota, toxigenic fungi, fodders, mycotoxins.