В результате проведенных исследований, получены следующие результаты:

- 1. Из казахстанских растений родов *Dianthus* и *Stellaria*, выделено 6 препаратов для изучения антивирусной активности.
- 2. Проведен скрининг 6 растительных препаратов на наличие антивирусной активности. По результатам испытаний выявлено 2 соединения, обладающе выраженной антивирусной активностью: водорастворимые соединения *Dianthus caryophyllus* и гидрофобные соединения *Stellaria media*. Указанные соединения перспективны для последующей разработки средств противовирусной терапии.
- 1 Майборода А.А., Кирдей Е.Г., Семинский И.Ж., Цибель Б.Н. Иммунный ответ, воспаление: Учебное пособие по общей патологии. М.: МЕДпрессинформ.- 2006. 112 с.
- 2 Шубич М.Г., Авдеева М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса // Архив патологии 1997. –№ 2. С.308.
- 3 Ramakrishnan S, Grebe R, Singh M, Schmid-Schönbein H. Influence of local anaesthetics on the aggregation and deformability of erythrocytes // Clin Hemorheol Microcirc.- 1999.- Vol.20, №1.-P. 21-26.
- 4 Ashfaq UA, Masoud MS, Nawaz Z, Riazuddin S. <u>Glycyrrhizin as antiviral agent against Hepatitis C Virus</u> // J Transl Med.-2011.- Vol.18, №9.- P. 112.
- 5 Rehman S, Ashfaq UA, Riaz S, Javed T, Riazuddin S. <u>Antiviral activity of Acacia nilotica against Hepatitis C Virus in liver infected cells.</u>// Virol J.- 2011.- Vol.12, №8.- P. 220.
- 6 Li A, Xie Y, Qi F, Li J, Wang P, Xu S, Zhao L. <u>Anti-virus effect of traditional Chinese medicine Yi-Fu-Qing granule on acute respiratory tract infections.</u>//Biosci Trends.- 2009.- Vol.3, №4.-P. 119-23.
  - 7 Reed L., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpints // Amer.J.Hyg.- 1938.-Vol. 27.- P. 493-497.
- 8 Закстельская Л.Я., Шендерович С.Ф. Метод удаления неспецифических ингибиторов гемагглютинации из диагностических и постинфекционных сывороток // Вопросы вирусологии.-1979.- №5.- С. 560-561.
- 9 Бердимуратова Г.Д., Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Тулегенова А.У. Биологически активные вещества растений // Выделение, разделение, анализ. Алматы: Атамұра. 2006. 438 с.
- 10 Макарова Н. В., Бореко Е. И., Моисеев И. К. и др. Противовирусная активность адамантансодержащих гетероциклов // Химико-фармацевтический журнал: Научно-технический и производственный журнал / Центр химии лекарственных средств ВНИХФИ. 2002. №1. С. 5-7

11 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях.- М.: Медицина,- 1975.- 296с.

\*\*\*

Жұмыста *Caryophillaceae* тұқымдасына жататын өсімдіктерден алынған препараттардың вирусқа қарсы белсенділігі қарастырылды. Зерттеу барысында вирусқа қарсы белсенділікке ие 2 қоспа анықталынды.

\*\*\*

In this paper we studied the antiviral activity of preparations obtained from plants of the family *Caryophillaceae*. Was revealed the 2 compounds with expressed antiviral activi

### УДК 576.8.097.29:664.633.1

## В.В. Ремеле

# МИКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЗЕРНА ОСНОВНЫХ КУЛЬТУР КАЗАХСТАНА

(ТОО «КазНИИ переработки сельскохозяйственной продукции», г. Астана)

Представлены результаты многолетнего микологического мониторинга зерна нормального и пониженного качества основных культур Казахстана: пшеницы, кукурузы, ячменя, риса, подсолнечника, ржи, овса и проса.

Зерно, как продукт, сконцентрировавший в себе многие питательные вещества, является благоприятным субстратом для развития микроорганизмов. Каждая зерновая масса представляет комплекс живых организмов, обязательным компонентом которого являются микроорганизмы: бактерии, грибы, актиномицеты, дрожжи. Только 1 г зерновой массы содержит от нескольких десятков тысяч до нескольких сотен тысяч и миллионов микроорганизмов. Накопление специфической для каждого растения микобиоты начинается в процессе его формирования в поле. Источниками микроорганизмов служат почва, растительные остатки, складские помещения, оборудование. Развитие микроскопических грибов на зерне в период созревания, послеуборочной обработки и хранения приводит к потерям сухого вещества, снижению пищевой ценности, биологических, технологических и семенных достоинств, самосогреванию и полной порче зерна. Кроме того, грибы могут выделять чрезвычайно опасные для животных и человека вещества – микотоксины [1, 2, 3].

Поэтому изучение микроскопических грибов каждой сельскохозяйственной культуры, сведение до минимума вызываемых ими потерь и опасности загрязнения зерна микотоксинами является первоочередной задачей специалистов, работающих в области производства, хранения и переработки зерна.

#### Материалы и методы исследований

Материалы исследований – пробы зерна урожаев 1986-2011 г.г., отобраные в соответствии с ГОСТ 13586.3-83. на предприятиях АПК Казахстана. Всего исследовано 3480 проб зерна, из которых: 793 пробы кукурузы, 1901 – пшеницы, 395 – ячменя, 134 – риса, 82 – подсолнечника, 89 – ржи, 70 – овса и 16 – проса.

Численность и родовой (видовой) состав микромицетов – методом глубинного посева смывов с зерна (поверхностное поражение) и раскладки поверхностно стерилизованных семян (субэпидермальное поражение) на агаризованные питательные среды с последующим инкубированием [4]. Идентификацию - в чистых культурах с использованием специальных определителей.

Статистическую обработку материала – общепринятыми методами.

Содержание пораженных проб

$$\Pi = \frac{n_i * 100}{N}, \%$$

где - пі - количество проб, содержащих определенный вид (род) грибов:

-N - общее количество исследованных проб.

Среднее абсолютное содержание грибов  $(m_{cp})$  - отношение суммы численных значений грибов данного вида по всем пробам данной культуры к количеству пораженных проб.

Относительное содержание грибов

$$m_{\text{отH}} = \frac{\sum X_i * 100}{X_{oi}}, \%$$

где - Хі - численность грибов определенного вида (рода) в пробе;

- Х оі - общее количество грибов в пробе.

Первый показатель (п) характеризует степень распространения гриба в массиве проб, второй  $(m_{cp})$  и третий  $(m_{orn})$  - дают представление об интенсивности поражения зерна данным видом (родом) гриба и его доле в общей численности микобиоты.

Оценка достоверности различий по численности микроскопических грибов в массивах проб зерна нормального и пониженного качества проведена по критерию Стьюдента.

# Результаты и обсуждение

Микромицеты исследованных культур исчислены 32-мя видами, относящимися к 15 родам.

Микромицетами поражены все исследованные пробы. С точки зрения экологии грибы условно классифицированы на две группы: «полевые» (поражающие зерно в поле в процессе произрастания, отмирающие как правило при хранении) и «хранения» (продолжающие развитие при хранении зерна). В свежеубранном зерне распространены в основном «полевые» из родов Cladosporium sp, Cephalosporium sp, Alternaria sp, Fusarium sp, Bipolaris sp, Trichoderma sp., Trichotecium sp. В партиях хранящегося зерна присутствовали, как правило, грибы из родов Aspergillus sp, Penicillium sp и Mucor sp.

(рис). Грибы рода Aspergillus представлены десятью видами A.flavus Link, A.glaucus Link, A.candidus Link, A.fumigatus Fres, A.nidulans Eidam, A.versicolor Tirab, A.niger V.Tiegh, A.ochraceus Wilh, A.terreus Thorn, A.wenttii Wehm. Встречались также дрожжи и прочие (не идентифицированные) грибы.

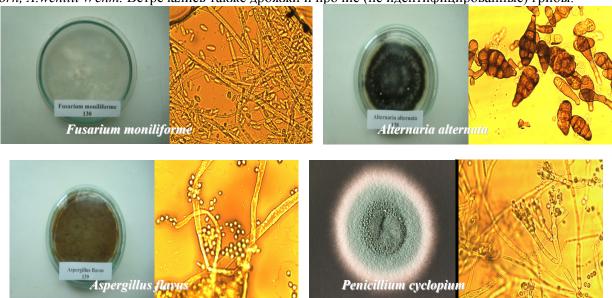


Рис. 1 – Микромицеты в зерне

Численность и видовой состав грибов варьировали по культурам и годам урожая в широких пределах. Максимальная численность наблюдалась в зерне пониженного качества (с повышенной влажностью и засоренностью, с признаками плесневения, самосогревания, порчи).

При обработке результатов с помощью биологических и статистических критериев определены микологические характеристики нормального зерна, не подвергавшегося активным микробиологическим воздействиям, а по массивам зерна пониженного качества можно судить об интенсивности и направленности процессов его порчи.

Распространение полевых грибов при поверхностном поражении общего массива проб составило 29-73%, субэпидермальном – 52-99%. Чаще всего полевые грибы встречались в рисе-зерне – 73% при поверхностном поражении и 99% при субэпидермальном, на втором месте - рожь - 62% и 96% соответственно. В остальных культурах полевые грибы распространены: пшенице - 42% при поверхностном, 76% при субэпидермальном; кукурузе - по 52%; подсолнечнике - 32% и 66%; ячмене -29% и 91% соответственно. Наиболее широко распространены грибы рода Alternaria (до 98% проб при уровне до 46 кол/100 зерен и относительном содержании до 64%). Для риса-зерна характерны сравнительно широкое распространение, высокие средняя численность и относительное содержание грибов рода Cladosporium как при поверхностном, так и при субэпидермальном поражениях: n=55 и 27%,  $m_{co}$ =7тыс/г и 8 кол/100 зерен,  $m_{oth}$ =14.4 и 2.7%. Микромицеты рода *Cephalosporium* распространены в субэпидермальной микофлоре всех исследованных культур, кроме подсолнечника, в пределах 3-33% при средней численности 1-3 кол/100 зерен и относительном содержании 0.8-4.6%. Чаще всего они встречались в кукурузе (п=46% при поверхностном и 33% при субэпидермальном поражениях,  $m_{cp}=1.1$  тыс/г и 5 кол/100 зерен,  $m_{orn}=14.1$  и 4.6%) и рисе-зерне (n=38 и 32%,  $m_{cp}=0.9$  тыс/г и 3 кол/100 зерен,  $m_{\text{отн}}=1.3\%$ ). Микромицеты рода Fusarium sp., Bipolaris sp., Trichoderma sp., *Trichotecium sp.* встречались редко (n=0-5%,  $m_{cp}$ - до 0.5 тыс/г и  $m_{oth}$  - до 0.7%).

В рисе-зерне численность полевых грибов несколько превышала численность грибов хранения. В составе полевых грибов поверхностной микофлоры доминировали грибы *Cladosporium*, субэпидермальной - *Alternaria*.

Численность грибов хранения, их распространение и относительное содержание в зерне всех исследованных культур, за исключением риса, существенно превышали аналогичные показатели по полевым грибам. Грибы хранения присутствовали в поверхностной микобиоте всех исследованных проб (n=100%), их численность  $m_{cp}$  варьировала в разрезе культур в пределах 1.4-8.0 тыс/г при относительном содержании  $m_{oтh}$ =81.0-99.9%. В субэпидермальной микофлоре аналогичные показатели составили: n=73-100%,  $m_{cp}$ =11-38 кол/100 зерен,  $m_{oth}$ =25.8-92.2%.

В зерне всех исследованных культур доминировали грибы «хранения» A.glaucus и различные виды Penicillium. Грибы Mucor доминировали в пшенице, ржи, кукурузе, а A.candidus - в рисе, Потенциально токсигенные грибы вида A.flavus доминировали в кукурузе, рисе и подсолнечнике (n=66-94%,  $m_{cp}$ =0.3-0.6 тыс/г и 4-10 кол/100 зерен,  $m_{oth}$ =7.6-45.4%), A.niger - в кукурузе (n=98%,  $m_{cp}$ =0.4 тыс/г,  $m_{oth}$ =10.9%).

Встречались более редкие виды A.wentii, A.terreus, A.fumigatus, A.nidulans, A.ochraceus при сравнительно ннзкой численности. Установлено более широкое распространение A.fumigatus в пшенице (45%), ячмене (32%), кукурузе (52%), рисе-зерне (46%), A.wentii - в кукурузе (52%) и рисе-зерне (30%) при низком содержании (0.1-3.2% при  $m_{cp}$ - до 0.1 тыс/г).

Общая численность микромицетов  $(m_{cp})$  в зерне пшенице, ржи, ячменя, овса и проса нормального качества составила в 1.6 –2.2 тыс/г (поверхностное поражение) и 27-54 кол/100 зерен (субэпидермальное), в зерне кукурузы, риса и семенах подсолнечника соответственно: 3.6 (42,0); 15.1 (78,0) и 6.4 (43,0) тыс/г (кол/100 зерен). В составе микобиоты исследованных культур преобладали грибы хранения ( $m_{cp}$ =1.5-8.0 тыс/г, при n=100%,  $m_{oth}$ =81.0-100%). В составе субэпидермальной микобиоты пшеницы на долю "грибов хранения" приходилось 25.8% от общей численности и 74.2% – на долю "полевых грибов".

В зерне всех исследованных культур доминирующими являлись грибы A.glaucus и различные виды Penicillium.

Преобладание вида *A.glaucus* при невысокой средней численности характерно для зерна, хранящегося в нормальных условиях. Повышенный уровень в зерне грибов рода *Penicillium* свидетельствует о его высокой исходной влажности и хранении при пониженной температуре.

Присутствие *A.flavus* и *A.candidus* свидетельствует о хранении зерна при повышенных (свыше 30-35°C) температурах, являющихся оптимальными для их развития и спороношения.

Численные значения потенциально токсигенного гриба *A.flavus* в зерне исследованных проб пшеницы, ржи, ячменя и проса не превышали 0.1-0.2 тыс/г при распространении 62-74% и относительном содержании 4.8-6.7% в составе поверхностной микобиоты и единичные колонии на 100 зерен при распространении 17-46% и относительном содержании 2.3-18.5% — в составе субэпидермальной микобиоты.

В нормальном зерне кукурузы, овса, риса и семян подсолнечника доминировали потенциально токсигенные грибы вида A.flavus (n=73-100% при  $m_{cp}$ =0.2-1.3 тыс/г и  $m_{orn}$ =6.9-7.9% при поверхностном и соответственно n=57-61% при  $m_{cp}$ =4-8 кол/100 зерен и  $m_{orn}$ =7.6-20.7% при субэпидермальном поражении).

Грибы *A.candidus* достаточно широко распространены в составе поверхностной микобиоты пшеницы, ячменя и риса (n=45-85%,  $m_{cp}$ =0.3-1.6 тыс/г,  $m_{oth}$ =14.3-23.6%) и несколько ниже в зерне других культур (ржи, кукурузы, подсолнечника, проса, овса) n=35-62% при  $m_{cp}$ =0.1-0.2тыс/г и  $m_{oth}$ =1.0-6.7%.

Таким образом, микобиота нормального зерна мелкозерных сельскохозяйственных культур (пшеницы, ржи, ячменя, овса, проса) однородна при сравнительно низкой средней численности грибов хранения (1.5-2.2 тыс/г и 7-28 кол/100 зерен). Вместе с тем, в ее составе распространены (п=45-100%) микроскопические грибы *A.flavus* и *A.candidus* при суммарной численности до 1.3 тыс/г. Средняя численность грибов хранения, в т.ч. *A.flavus* и *A.candidus* в зерне других исследованных культур значительно выше и составила соответственно 2.9-8.0 тыс/г (26-40 кол/100 зерен) при практически 100%-ном распространении.

Изложенное позволяет заключить, что нормальное зерно исследованных культур и прежде всего кукурузы и риса нельзя считать вполне благополучным с точки зрения возможности развития активных микробиологических процессов при оптимальных для этого сочетаниях температуры и влажности.

Микобиота исследованных партий зерна пониженного качества характеризовалась значительным увеличением численности грибов «хранения» как при поверхностном, так и при субэпидермальном поражении и находилась в пределах 9.0-3818 тыс/г (40-117кол/100 зерен), т.е. увеличилась в десяткисотни раз по сравнению с численностью грибов в зерне нормального качества (табл). Наибольшее увеличение, как и следовало ожидать, наблюдалось по группам A.flavus, A.candidus, Penicillium и Mucor.

Таблица 1 – Средняя численность микромицетов (m<sub>ср</sub>) в зерне нормального и пониженного качества

Культура	В зерне нормального качества			В зерне пониженного качества					
	всего грибы хранения		ения	всего грибы хранения			превышение, раз		
		всего	A.fla		всего	A.fla	всего	грибы хранения	
			vus			vus		всего	A.fla-
									vus
пшеница	$1,6 \pm 0,6$	$1,5 \pm 0,6$	0,2	$38,0 \pm 15,3$	$38 \pm 23,3$	8,3	23,8	25,3	23,8
рожь	$1,5 \pm 0,6$	$1,4 \pm 0,4$	0,1	$9,0 \pm 2,3$	$9,0 \pm 2,3$	0,4	6,0	6,4	6,0
ячмень	$2,0 \pm 1,2$	$1,9 \pm 0,5$	0,1	$32,4 \pm 8,2$	32,4 ± 8,2	3,2	16,2	17,1	16,2
овес	$2,2 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,8$	1,3	$70,4 \pm 10,6$	$70,4 \pm 10,6$	60,8	32,0	14,6	32,0
просо	$2,2 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,7$	0,1	$29,3 \pm 4,7$	$29,3 \pm 4,7$	17,7	13,3	6,1	13,3
кукуруза	$3,6 \pm 0,7$	$2,9 \pm 1,0$	0,2	$87,0 \pm 27,0$	$86,3 \pm 26,8$	21,5	24,2	29,8	24,2
рис	$15,1 \pm 5,7$	$8,0 \pm 3,4$	0,6	$3825 \pm 2595$	$3818 \pm 2590$	45,7	253,5	477,3	253,3
подсол- нечник	6,4 ± 2,2	6,2 ± 2,2	0,4	$270 \pm 101,6$	$270,3 \pm 101$	17,7	42,3	43,6	42,3

Так, если средняя численность грибов хранения в пшенице пониженного качества в сравнении с нормальной увеличилась в 25 раз, то по группам грибов *A.flavus* и *Mucor* - соответственно в 41 и 35 раз. Аналогично по семенам подсолнечника - при увеличении численности грибов *A.candidus* в 124 раза, *A.flavus* более чем в 44 раза, *Penicillium* - более чем в 108 раз, средняя численность грибов хранения возросла в 44 раза.

В кукурузе пониженного качества увеличение в 30 раз общей численности грибов хранения произошло преимущественно за счет потенциально токсигенного гриба A.flavus, численность которого возросла в 108 раз.

Наибольшее увеличение численности грибов хранения в процессе самосогревания произошло в рисе - в 477 раз (с 8.0 до 3818 тыс/г) при этом численность грибов рода *Penicillium sp* увеличилась – в 1557 раз (с 2.9 до 4517 тыс/г), A.flavus – в 76 раз (с 0.6 до 45.7тыс/г), A.candidus – в 153 раза (с 1.6 до

245.4 тыс/г), Mucor - в 18.2 раза (с 1.1 до 20 тыс/г). Численность грибов хранения при самосогревании зерна других культур (ячменя, ржи, подсолнечника) увеличилась в 6.4-43.6 раза.

Численность полевых грибов в процессе самосогревания (плесневения) практически осталась на том же уровне или несколько уменьшилась. Процессы самосогревания, плесневения и порчи сопровождаются проникновением грибов хранения внутрь зерновки и вытеснением полевых грибов. Это ярко выражено в соотношении субэпидермальной микобиоты зерна пшеницы нормального и пониженного качества. Если в субэпидермальной микофлоре пшеницы нормального качества доминировали полевые грибы (m<sub>отн</sub>=74.2%), то в зерне пшеницы пониженного качества на их долю приходилось 32.0%. И наоборот, доля грибов хранения в пшенице пониженного качества составила 67.2%, а в нормальном 25.8%. При этом в 4.2 раза увеличилась суммарная доля грибов *A.flavus* и *A.candidus*, являющихся индикаторными в процессах самосогревания, и в 2.7 раза - доля грибов рода *Penicillium sp*.

Аналогичная закономерность установлена по зерну других культур. Доля полевых грибов в нормальном зерне составила 7.5-68.2%, пониженного качества — 4.2-35.7%, грибов хранения соответственно 31.8-91.6% и 73.2-95.3%, в т.ч. A.flavus — 3.7-20.3% и 9.2-33.9%, A.candidus — 0.4-1.9% и 2.9-9.2%, Penicillium — 3.9-16.0% и 14.0-27.7%.

Обобщенные статистические характеристики по общей численности грибов хранения, а также по отдельным видам показали, что зерно пониженного качества достоверно отличается от нормального за счет развития и преобладания видов потенциально токсигенных грибов.

Разработаны средние численные значения микроскопических грибов в зерне нормального качества, которые могуг быть положены в основу нормирования этого показателя.

- 1. Мишустин Е.Н., Трисвятский Л.А. Микробы и зерно. М.: Агропромиздат. 1963. 292 с.
- 2. Трисвятский Л.А. Хранение зерна. 5-е изд. перераб. и доп.- М.: Агропромиздат.- 1986.- 351 с.
- 3. Тутельян В.А. Микотоксины. Исторические аспекты и современные представления // Оценка загрязне-ния пищевых продуктов микотоксинами: Сб. учеб.-метод. материалов / Под ред. Тутельяна В.А. М.: Центр международных проектов ГКНТ . 1985. Т. I. С. 83-103.
- 4. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; Под ред. А.И Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

Қазақстанның нормалы және сапасы төмендетілген негізгі астық тұқымдас дәнді-дақылдар: бидай, жүгері, арпа, күріш, күнбағыс, қарабидай, сұлы және тарыға жүргізілген көп жылдық микологиялық барлауының нәтижелері келтірілген.

Results are presented of long-term mycologic monitoring of normal and lowered quality of grain the basic cultures of Kazakhstan: wheat, corn, barley, rice, sunflower, a rye, oats and millet.

# *Е.Г. Пономарева, А.В. Шелудько, В.Е. Никитина* СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕКТИНОВ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

(Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов)

В представляемой работе дана характеристика лектинов, выделенных с поверхности азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum*, принимающих участие в растительно-бактериальном симбиозе. Лектины штаммов *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 являются гликопротеинами, обладают разной углеводной специфичностью, отличаются не только физико-химическими свойствами, но и функциональной активностью.

В настоящее время изучение растительно-бактериальных симбиозов, как ассоциативных, так и эндофитных, привлекает все большее внимание исследователей. Показано, что бактерии рода *Azospirillum* являясь участниками симбиоза оказывают позитивное воздействие на рост и развитие растения-хозяина. Азоспириллы не только играют важную роль в азотфиксации, но способны продуцировать биологически активные вещества, такие как цитокинины, гиббереллины, ауксины и лектины [1,2]. Бактерии штамма *A. brasilense* Sp7 принадлежат к группе ассоциативных бактерий, способных образовывать ассоциации с корнями злаковых растений, колонизируя их поверхность.

Представителем азоспирил и единственным штаммом, принадлежность которого к эндофитам доказана, является *A. brasilense* Sp245, который был выделен из поверхностно стерилизованных корней пшеницы бразильских культиваров. Как показали исследования, проведенные с использованием олигонуклеотидных зондов и сканирующей конфокальной лазерной микроскопии, бактерии этого штамма способны к исключительно тесному взаимодействию с растением-хозяином: они заполняют корневые волоски пшеницы и колонизирует проводящую систему корня.

В более ранних исследованиях, проводимых в нашей лаборатории, с поверхности азоспирилл, принадлежащих к видам *brasilense* и *lipoferum*, были выделены лектины, представляющие собой