

УДК 633.11:620.21:502/504(470.56)

© 2016

*Гавриленко О. С., кандидат ветеринарних наук,  
Хоміцька О. А., завідувач сектору мікробіологічних випробувань,  
Загорулько О. В., старший науковий співробітник*  
Український державний науково-дослідний інститут «Ресурс»

## ОЦІНКА ВПЛИВУ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ ПІД ЧАС ЗБЕРІГАННЯ ЗЕРНА ЯРОЇ ПШЕНИЦІ

*Рецензент – доктор ветеринарних наук В. М. Муковоз*

*Вивчено вплив комплексного препарату зі складовими мікроелементного походження на бактерії та культури грибів, виділені з зерна ярої пшениці ДП Новотроїцького елеватора Київської області в період зберігання. Встановлено ефективність фунгіцидної дії препарату, до складу якого входять мікроелементи срібло та мідь у формі органічних солей карбонових кислот, отриманих за допомогою нанотехнологій. Представлено результати досліджень видового складу збудників хвороб зерна озимої пшениці.*

**Ключові слова:** зерно, мікроелементи, ступінь зараження, спороутворюючі мікроорганізми, фунгіцидна дія.

**Постановка проблеми.** Зерно і продукти його переробки є основним джерелом харчування людини і кормом для тварин. Тому проблема мікробіологічного забруднення зерна являється одним з головних чинників, що визначають здоров'я населення. У зв'язку з цим, велика увага приділяється необхідності вивчення методів захисту врожаю насіння від шкідників та хвороб у випадку тривалого зберігання, підвищення показників якості зерна, дослідження грибів, що вражають насіння в період зберігання та застосування хімічних та біологічних засобів для обробки зерна [1–3].

**Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** Посіви зернових культур в Україні займають близько 14,5 млн га [4]. Зерно складається, в основному, з крохмалю, протеїну і незначної частини жиру, що є ідеальним живильним середовищем для розвитку мікроорганізмів. Тільки один грам зернової маси містить від декількох сотень до декількох тисяч мікроорганізмів [4]. Розвиток цих мікроорганізмів є однією з можливих причин зниження якості зерна пшениці та інших зернових культур під час зберігання. Залежно від умов зберігання зернової маси зміни в чисельному та видовому складі її мікрофлори можуть носити різний характер [5]. Оскільки мікробне забруднення присутнє на всіх етапах життєвого циклу зерна – в полі, під час збирання,

транспортування, зберігання та переробці, – інтенсивність зараженості бактеріями може бути досить велика [6].

Через насіння може передаватися до 60 % збудників хвороб бактеріального і грибного походження, що, врешті-решт, позначається на врожаї і на їхній якості. Значення економічних збитків, які завдають бактеріальні та вірусні інфекції, плісеневі гриби важко переоцінити, оскільки врожай зерна інфікованих рослин знижується в середньому на 35–65 %, а втрати врожаю можуть досягати 90 % [5, 6]. Рослини уражаються багатьма патогенними та споровими мікроорганізмами. Це бактерії групи Enterobacteriaceae та плісеневі гриби роду *Fusarium* (*F. nivale*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. avenaceum*), *Tilletia* (*T. caries* та *T. controversa*), *Cladosporium* (*C. herbarum herbarum*), *Claviceps* (*C. purpurea*), бактерії роду *Bacillus*, *Penicillium* spp., *Epicoccum* spp., *Trichothecium* spp. і т. д. [4–6]. Ураження такими мікроорганізмами перешкоджає нормальному формуванню врожаю, а спори цих бактерій, потрапляючи в організм людини, здатні викликати досить серйозні порушення функціонування імунної системи, шлунково-кишкового тракту, органів дихання, нервової системи [5, 7].

Сезонність виробництва зерна, з одного боку, і споживання його протягом усього року, з іншого, вимагають організувати тривале зберігання великих мас зерна в елеваторах Держрезерву України. Дослідження на бактеріальні інфекції зерна ярої пшениці є одним з елементів насінневого контролю та має важливе значення. Це дає можливість оцінити ступінь зараженості й ухвалити правильне рішення щодо проведення обробки зерен пшениці.

Актуальність встановлення мікологічної характеристики зерна основної продовольчої культури пшениці ярої та вибору препарату для обробки зерна з метою зменшення ступеню зараженості споровими бактеріями не викликає сумнівів.

Для захисту озимої пшениці та інших сільськогосподарських культур від борошністо-росяних

грибів, іржі, гнилей, септоріозу та інших плямистостей використовують високоєфективний багатофункціональний системний фунгіцид – «Тебуконазол». Широкий діапазон системної дії ставить препарат на одне з перших місць в асортименті протруйників. Він швидко проникає в рослину через асиміляційні частини, пригнічує біосинтез ергостеролу, порушуючи процеси метаболізму та утворення клітинних мембран, що призводить до загибелі патогенів. Однак цей препарат високотоксичний і відноситься до 2-го класу небезпеки [8, 9].

Дані характеристики «Тебуконазолу» підтверджують необхідність пошуку шляхів зменшення його токсичності та екобезпеки в разі збереження специфічної активності. Досліди багатьох вітчизняних та європейських вчених неодноразово доводили, що використання в рослинництві фунгіцидів, отриманих за нанотехнологіями, забезпечує значне підвищення імунітету у рослин і значно збільшує врожайність продовольчих культур [8].

Доведено, що біологічну активність препарату на основі «Тебуконазолу» можна підвищити, створивши більш ефективну форму, здатну забезпечити найкращий контакт препарату з рослиною за рахунок більш ефективного проникнення фунгіциду в кутикулу зернини. До таких форм можна віднести композиції у вигляді рідин, що характеризуються включенням в їхній склад діючих речовин нанорозміру і забезпечують швидке та ефективно проникнення в рослину [8]. Мікроелементи срібло та мідь у формі органічних солей карбонових кислот, що отримують методами нанотехнологій, виявляють виражені біоцидні властивості та відносяться до 4-го класу малонебезпечних речовин. Характерним для даних речовин є висока біологічна активність у малих дозах і сумісність з іншими препаратами [10].

**Мета досліджень** – вивчити вплив комплексного препарату на основі «Тебуконазолу», що містить мікроелементи срібла та міді на бактерії і спори грибів, виділені з зерна ярої пшениці ДП Новотроїцького елеватора, с. Чкалове, Київської області.

*Завдання дослідження:*

1. Провести дослідження загальної кількості бактерій та плісневих грибів зразків пшениці трьох зразків зерна ярої пшениці до і після обробки дослідним комплексним розчином згідно з ГОСТ 10444.15 – 94, ДСТУ ISO 4833:2006, ГОСТ 26972 – 86, ГОСТ 10444.12-2013, ДСТУ ISO 7954:2006 та ГОСТ 29184 – 91 [12–17].

2. Провести дослідження зараженості мікроміцетами зразків пшениці ярої до і після обробки

дослідним комплексним розчином згідно з ДСТУ 4138-2002, ДСТУ 3768:2004 та ГОСТ 13496.11-74 [18–20].

**Матеріали і методи досліджень.** Об'єктами дослідження були: комплексний дослідний розчин, що містить 1,25 мл «Тебуконазолу», 0,05 мг Ag та 0,05 мг Cu на 100 мл води. Мікроелементи срібла та міді у формі органічних солей карбонових кислот, що отримують методами нанотехнологій. Зерно ярої пшениці, що зберігається в ДП Новотроїцького елеватора, необроблене (209 т) та оброблене перед закладкою на зберігання інсектицидом «Пірігрєн 50» проти шкідників зерна – комах та кліщів (1600 т). У дослідженнях використовували три зразки зерна: зразок № 1 – необроблені зерна пшениці, який використовувався в якості контролю, зразок № 2 – зерна пшениці, оброблені дослідним комплексним розчином, зразок № 3 – зерна пшениці, оброблені інсектицидом «Пірігрєн 50» та дослідним комплексним розчином. Експозиція обробки становила 3 години.

Дослідження проводили в секторі мікробіологічних випробовувань лабораторії досліджень хіміко-біологічних чинників УкрНДІ «Ресурс» Державного агентства резерву України. Відбирали проби згідно з ГОСТ 13586.3 [11]. Проби брали з різних місць. Відібрані точкові проби зерна переглядали і, переконавшись в їх однорідності, змішували (складали об'єднану пробу). З отриманої кількості насіння виділяли середні проби масою не менш 2 кг. Для аналізування з середньої проби виділяли чотири робочі проби по 100 насінин у кожній і використовували в дослідженнях.

Дослідження проводили на загальну кількість бактерій, мікроорганізми групи Enterobacteriaceae та плісневі гриби згідно з ГОСТ 10444.15 – 94, ДСТУ ISO 4833:2006, ГОСТ 26972 – 86, ГОСТ 10444.12-2013, ДСТУ ISO 7954:2006 та ГОСТ 29184 – 91 [12–17].

У роботі використовували триптон-соєвий агар (ТСА) фірми «Merck» та картопляно-глюкозний агар (КА) для визначення загальної кількості усіх бактерій та грибів, середовище Ендо для бактерій групи Enterobacteriaceae та середовища Сабуро та Чапека – для виявлення плісневих грибів.

Зразки № 2 та № 3 зерна замочували на 3 години у співвідношенні 1:9 розчиненого фунгіциду. В якості контролю використовували розчин дистильованої стерильної води із наважкою зерна. Використовували метод обмивки насіння і центрифугування. Для вивчення антигрибкових властивостей розчинів проводили серійні розве-

дення та визначали ефективність дії дослідних розчинів щодо відсутності росту бактерій та пліснявих грибів. Розведення виконувалися на стерильній дистильованій воді. Посіви проводили глибинним і поверхневим методом. Підрахунок колоній здійснювали через 72 години після культивування при 37 °С для бактерій та через 5 діб після термостатування при температурі 25 ±1°С для пліснявих грибів. Оцінка дії розчинів проводилася методом підрахунку кількості всіх колоній, які виростили на поживних середовищах в КУО/см<sup>2</sup> (колонієутворювальних одиниць) із даних розведень.

Паралельно проводили дослідження зерна на зараженість спорами та міцелієм *Alternaria* spp., *Septoria* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. згідно з ДСТУ 4138 - 2002 [18]. Визначення фузаріозних зерен проводили згідно з ДСТУ 3768:2004 [19], спори сажкових грибів – згідно з ГОСТ 13496.11 [20]. Дослідження зразків проводили в 4 робочих пробах по 100 насінин у кожній.

**Результати досліджень.** У результаті проведених досліджень зразків № 2 та № 3, зерно яких було оброблене дослідним розчином і підсушене, та зразку зерна № 1 в якості контролю згідно з ДСТУ 4138 - 2002, ДСТУ 3768:2004, ГОСТ 13496.11 [18–20] висіяно певний спектр плісневих грибів. Для ідентифікації мікроміцетів використовували атлас та керівництво по визначенню патогенних і умовно-патогенних грибів [21–23]. Результати представлені в таблиці № 1.

Загальна зараженість мікроміцетами (табл. 1) необробленого зерна пшениці зразку № 1 сягала до 54,7 %. Було висіяно гриби роду *Fusarium*, *Alternaria*, *Septoria*, *Ustilago*, *Cladosporium* та

*Penicillium* в кількостях від 2,5 до 14,3 %. Насіння, що залишалось без ознак зараженості на середовищі КГА, становило 45,3 %. Використання дослідного фунгіцидного розчину, в склад якого входить «Тебуконазол» та мікроелементи срібла та міді, в порівнянні з контролем має свої переваги. Кількість зерен, що була без ознак зараженості, збільшилась до 82,0–82,8 %. Загальна кількість заражених мікроміцетами зерен зменшується в другому зразку до 18,0, а в третьому – до 17,2 %. Розчин повністю знищує збудників септоріозу, оливкової цвіль, летючої та твердої сажки. Зараженість фузаріозом зменшується в зразках № 2 та № 3 до 6,3 % у порівнянні з результатами досліджень необроблених зерен – 10,5 %. До 4 % зменшується зараженість збудниками альтернаріозу в двох зразках у порівнянні з результатами досліджень зразку № 1. На 11–11,3 % зменшується зараженість збудниками пліснявиння – грибами *Penicillium* spp., що висіяно під час дослідження.

Результати досліджень загальної кількості усіх бактерій на зразках зерна в КУО в 1 г, що було проведено згідно з нормативними документами ГОСТ 10444.15 – 94, ДСТУ ISO 4833:2006, ГОСТ 26972 – 86, ГОСТ 10444.12-2013, ДСТУ ISO 7954:2006 та ГОСТ 29184 – 91 [12–17]. Результати представлені в таблиці 2.

Дослідження загальної кількості бактерій та плісневих грибів зразків пшениці (таблиця 2) наглядно демонструють дію дослідного розчину з мікроелементами. Під час використання розчину кількість бактерій зменшується з 10<sup>7</sup> першого зразку до 10<sup>3</sup> і 10<sup>2</sup> – в другому та третьому зразках.

**1. Результати досліджень зараженості мікроміцетами зразків пшениці**

Мікроорганізми	№ 1 – необроблені зерна пшениці	№ 2 – зерна пшениці, оброблені комплексним розчином	№ 3 – зерна пшениці після нібулізації + комплексний фунгіцид
Загальна зараженість мікроміцетами, %	54,7	18,0	17,2
Фузаріоз ( <i>Fusarium</i> spp.), %	10,5	6,3	6,3
Альтернаріоз ( <i>Alternaria</i> spp.), %	12,3	8,5	8,8
Септоріоз ( <i>Septoria</i> spp.), %	8,8	0	0
Сажка летюча ( <i>Ustilago</i> spp.), %	2,5	0	0
Сажка тверда ( <i>Tilletia</i> spp.), %	2,8	0	0
Оливкова цвіль ( <i>Cladosporium</i> spp.), %	3,8	0	0
Пліснявиння ( <i>Penicillium</i> sp.), %	14,3	3,3	3,0
Насіння, що залишалось без ознак зараженості, %	45,3	82,0	82,8

## СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО. РОСЛИННИЦТВО

### 2. Результати досліджень загальної кількості бактерій та плісневих грибів зразків пшениці

№ п/п	Зразки зерна	Загальна кількість, КУО в 1 г		Розведення					
				10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
	№ 1	Загальна кількість бактерій	2,7×10 <sup>7</sup>	Суцільний ріст	Суцільний ріст	Суцільний ріст	1748	260	29
		Загальна кількість плісневих грибів	2,0×10 <sup>7</sup>	Суцільний ріст	Суцільний ріст	Суцільний ріст	1205	196	21
	№ 2	Загальна кількість бактерій	7,0×10 <sup>3</sup>	682	69	7	0	0	0
		Загальна кількість плісневих грибів	1,4×10 <sup>3</sup>	165	14	1	0	0	0
	№ 3	Загальна кількість бактерій	1,8×10 <sup>3</sup>	227	14	0	0	0	0
		Загальна кількість плісневих грибів	7,8×10 <sup>2</sup>	76	8	0	0	0	0

Загальна кількість мікроорганізмів групи Enterobacteriaceae, що висіяно з № 1 зразку була 1,8×10<sup>5</sup>. Зі зразків № 2 та № 3 кількість була меншою – 1,5×10<sup>3</sup> та 1,1×10<sup>3</sup>. Вони були представлені бактеріями роду Escherichia, Proteus (P. vulgaris, P. mirabilis), Pseudomonas (Ps. aeruginosa, Ps. Fluorescens, Ps. Putida), Klebsiella (K. Ozaenae), Citrobacter (C. freundii) та Enterobacter (E. cloacae, E. aerogenes). З обробленого дослідним розчином зерна кількість кишкових бактерій була незначною і представлена здебільшого бактеріями кишкової палички та псевдомонадами в незначній кількості (10<sup>3</sup> КУО в 1 г).

#### Висновки:

1. Результатами проведених досліджень підтверджено антимікробні властивості комплексного розчину, до складу якого входить «Тебуконазол», мікроелементи срібла та міді у формі органічних солей карбонових кислот, що отримують методами нанотехнологій. Використаний комплексний розчин характеризується проти-

грибковою та бактерицидною дією.

2. Антибактеріальна та фунгіцидна активність найбільш виражена в разі обробки зерна пшениці комплексним розчином зразку зерен, які оброблялись раніше препаратом захисту від шкідників зерна. Це свідчить про те, що, знищуючи комах і кліщів у зерні до його закладки на зберігання, має теж важливе значення, оскільки запобігає інфікуванню зерна за рахунок шкідників.

**Перспективи подальших досліджень.** Попередити можливі негативні наслідки під час застосування фунгіцидів можна лише за умови здійснення фундаментальних досліджень та розробки на цій основі достовірних прогнозів можливих екологічних ризиків. Така робота є гарантією отримання сільськогосподарської продукції, яка відповідатиме стандартам якості і дасть можливість попереджати негативні процеси в агроєкосистемах, пов'язані із застосуванням фунгіцидів.

#### БІБЛЮГРАФІЯ

1. Барбарош В. Д. Фитопатологическая экспертиза семян / В. Д. Барбарош // Защита и карантин растений. – 2004. – №2. – С. 20–21.
2. Горленко М. В. Болезни пшеницы / М. В. Горленко. – М. : Сельхозиздат, 1971. – С. 75–246.

3. Омельченко В. Д. Зерна, поврежденные и испорченные микроорганизмами и самосогреванием как критерий санитарно-гигиенического состояния пшеницы и кукурузы : автореф. дисс. ... к.т.н. / В. Д. Омельченко. – М., 1991. – С. 1–9.

4. *Левитин М. М.* Грибные болезни зерновых культур / М. М. Левитин, С. А. Тютерев // Защита и карантин растений. – 2003. – №11. – С. 76.
5. Химическая защита растений в фитосанитарном оздоровлении агроэкосистем / [Долженко В. И., Новожилов К. В., Сухорученко Г. И., Тютерев С. Л.] // Вестник защиты растений. – 2011. – №3. – С. 3–12.
6. *Иващенко В. Г.* Фузариоз колоса хлебных злаков / В. Г. Иващенко, Н. П. Шипилова, Л. А. Назаровская. – СПб. : Пушкин ВИЗР, 2004. – 164 с.
7. *Назарова Л. Н.* Прогрессирующие болезни зерновых культур / Л. Н. Назарова, Е. А. Соколова // Агро XXI. – 2000. – №4. – С. 2–3.
8. Ефективна модифікація фунгіцидного препарату з мікроелементами, отриманими за нанотехнологіями / [Гавриленко О. С., Хоміцька О. А., Пашенко А. Г., Загоруйко О. В., Нестерчук Т. В.] // Одеська національна академія харчових технологій. Наукові праці. – 2014. – Вип. 46, Том 1. – С. 95–97.
9. *Тютерев С. Л.* Протравливание семян зерновых колосовых культур / С. Л. Тютерев // Журнал «Защита и карантин растений» (Приложение). – М. : Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН. – №3. – 2005. – 44 с.
10. *Дмитруха Н. М.* Оцінка токсичних властивостей нанотехнологічних мікроелементів в дослідях *in vivo* та *in vitro* / Н. М. Дмитруха, Т. К. Короленко, О. С. Лагутіна // Тези конференції «Биологически активные вещества и материалы», 2013.
11. ГОСТ 13586.3-2015 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб. – М., 2016. – 27 с.
12. ГОСТ 10444.15 – 94 Продукты пищевые. Метод определения мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – М. : Стандартиформ, 2010.
13. ДСТУ ISO 4833:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахунку колоній за температури 25 °С (ISO 4833:2003, IDT). – [Чинний від 01.10.2007].
14. ГОСТ 26972 – 86 Зерно, крупа, мука для продуктов детского питания. Методы микробиологического анализа. – М., 2003. – 16 с. – [Межгосударственный стандарт].
15. ГОСТ 10444.12-2013 Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов. – М., 2014. – 12 с. – [Межгосударственный стандарт].
16. ДСТУ ISO 7954:2006 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Загальні настанови з підрахунку дріжджів і мікроскопічних грибів. Техніка підрахунку колоній, культивованих за температури 25 °С. – [Чинний від 01.10.2007].
17. ГОСТ 29184 – 91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. – М., 2010. – [Межгосударственный стандарт].
18. ДСТУ 4138-2002 Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. – К. : Держстандарт України, 2003. – 173 с.
19. ДСТУ 3768: 2004 Пшениця. Технічні умови. – К. : Держспоживстандарт України, 2004. – [Чинний від 28.05.2004].
20. ГОСТ 13496.11-74 Зерно. Метод определения содержания спор головневых грибов. – М., 2009. – 3 с. – [Межгосударственный стандарт].
21. *Саттон Д.* Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди ; [пер. с англ.]. – М. : «Мир», 2001. – 486 с.
22. *Литвинов М. А.* Определитель микроскопических почвенных грибов / М. А. Литвинов. – Л. : Наука, 1967. – 304 с.
23. *Елинов Н. П.* Краткий микологический словарь (для врачей и биологов). Издание второе, исправленное и дополненное / Н. П. Елинов. – СПб. : МГК, 2009. – С. 77–79.