



DOI: 10.22620/sciworks.2018.02.014

**ВЛИЯНИЕ НА ВЛАГАТА В ЗЪРНАТА ВЪРХУ ЧЕСТОТАТА НА ПОЯВА
НА ПЛЕСЕННИ ГЪБИ ПРИ СЪХРАНЕНИЕ НА ПШЕНИЦА
IMPACT OF GRAIN MOISTURE ON MOULD FREQUENCY AND DISTRIBUTION
IN WHEAT STORAGE**

**Невин Емин
Nevin Emin**

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

E-mail: nevinemin2@gmail.com

Abstract

In result of the conducted microbiological survey, fungi of *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp.* genera were isolated. The cultural and morphological characteristics of all isolates were studied by the colour description of the air and substrate mycelium, as well as by lactophenol cotton blue coloured microscope preparations. It was established that moisture in wheat grains, stored for eight months, has an impact on the contamination with potential toxin-producing fungi. Results showed that *Enola* was most frequently contaminated with *Alternaria sp.* – 66,7% in 2016, at a moisture of 12,0%. In 2015 data were similar at a moisture of 11,2% and 12,6%, the mould distribution reached 66,7%.

In 2014, the harvest was registered with a high level of *field moulds* of *Fusarium sp.* generis (61,6%) at a moisture of 14,5%. In 2015 and 2016 the harvest was registered with mould distribution from 20,0% to 33,7%. Strains of *Aspergillus sp.* and *Penicillium sp.* genera were isolated in the first month of storage with very low frequency. During the storage period, they expanded their distribution, while grain moisture decreased. In the last month of the analysis, wheat was most distributed with *Aspergillus sp.* generis at substratum moisture of about 10,0%. The three-year results have shown that fungi of *storage* reach distribution of 22,3% in the eighth month. In 2014 and 2015 *Penicillium sp.* have a presence of about 19,3%.

Keywords: wheat, moisture, fungi, storage, mycotoxins.

ВЪВЕДЕНИЕ

В биологичен аспект съхраняваното зърно представлява обособена екосистема. Динамичното взаимодействие между абиотичните и биотичните фактори влияе върху условията на съхранение и повредите върху суровината (Dunkel, 1992). Сред множеството фактори, които оказват влияние, са: продължителността на съхранението, съдържанието на влага в зърното,

хектолитровата му маса, жизнеспособността на семената, наличието на плесени, появата и развитието на насекомна популация и др. (Fourar-Belaifa et al., 2010).

Независимо от динамиката на всички участващи в тази екосистема елементи, нежеланата микрофлора при съхранение на пшеницата е основна причина за намаляване на качеството, за понижаване на квалификационната група и цената (Borisova, 2008). Проблемът с тези гъби е свързан не само с понижаване на добива и влошаване на технологичните качества на зърното, но и с опасността от замърсяване на продукцията с вредни за здравето на хората и животните вещества, наречени *микотоксини* (Pozzi, 1995). Микотоксините са вторични токсични метаболити на плесенните гъби, образувани преди и по време на прибиране на реколтата или при неправилно съхранение на реколтата. Основните видове плесенни гъби, които играят важна роля в микробиалното разграждане на пшеницата, са *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.* и *Fusarium sp.* (Bennett and Klich, 2003).

Пшеницата е богата с протеини и скорбяла, което я прави силно податлива на нападение от плесенни гъби. Установено е, че в пшеничено зърно с високо съдържание на въглехидрати и при атмосферна влажност над 18% се наблюдава максимален синтез на микотоксини. Друг важен фактор, определящ растежа на гъби и синтеза на микотоксини, е влажността на субстрата. Зърно, заразено още на полето с плесени, при съхранение с влага над 15% се явява като благоприятен субстрат за продуциране на микотоксини (Subramanian, 2000). Не на последно място е и процесът дишане на плесенните гъби, които използват кислород и при наличие на въглехидрати в пшеницата се формират въглероден двуокис и вода. Образува се т.нар. „несвързана“ вода, която стимулира растежа на нежеланата микрофлора (Withlow, 2006). Целта на настоящото изследване е проучване на влиянието на влагата в зърната върху развитието на отделните родове плесени в продължение на осем месеца съхранение.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Обект на изследване са пшеничени зърна от сорта *Енола*. Растенията са от полето на Експерименталния център по интегрирана растителна защита към Аграрния университет – Пловдив, от реколта 2014, 2015 и 2016 г. Пробонабирането е извършено съгласно с БДС ISO 950 1993 чрез вземане на серия от точкови проби от всяка партия според сортовата класификация.

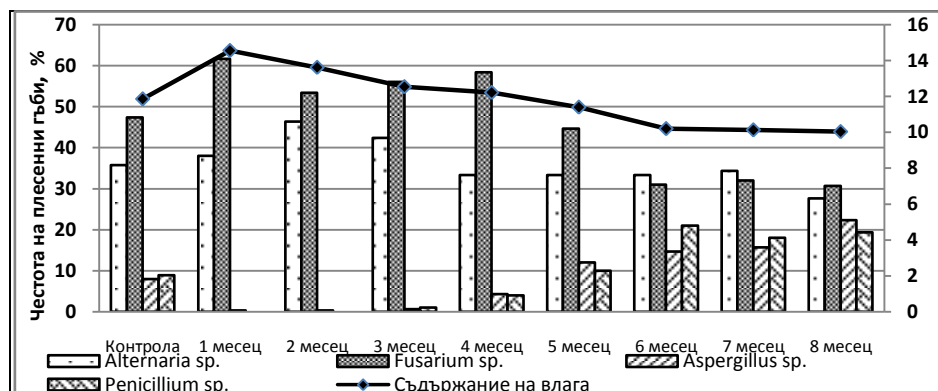
Пробите са пакетирани в хартиени опаковки, транспортирани до лабораторията и съхранявани 210 дни при лабораторни условия. Целта на изследването е установяване на честотата на замърсяване на зърната с потенциални токсинпродуциращи плесенни гъби. Определянето на съдържанието на влага в пшеницата е извършено чрез изсушаване при 130°C съгласно с БДС 13358-76. Честотата на заразяване на зърната с плесенова микрофлора (**Fq**) е изчислена по формулата на Ghiasian et al. (2004): $Fq = (N/T) \cdot 100$, където Fq е честотата на заразяване, N е броят на пробите, от които се изолират плесенови гъби, и T е общият брой проби.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

В резултат на извършената микробиологична работа са изолирани 23 плесенови гъби. Културалните и морфологичните им характеристики са определени чрез описване на цвета на въздушния и субстратния мицел чрез директно микроскопиране от петритата с развити колонии и чрез приготвяне на оцветени с лактофенол блу микроскопски препарати. При нашите изследвания съсредоточихме вниманието си предимно към плесени от род *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* и *Penicillium sp.*, имащи най-широко разпространение в България.

По време на изследване на микрофлората на пшеницата се установяват два различни симптома на фузариоза, т.нар. „явна“ и „скрита“ фузариоза. При „явната“ фузариоза поразените зърна са недоразвити, по-дребни, спаружени и с видимо розовочервеникаво оцветяване. При някои пшеничени зърна, които са с нормални органолептични показатели – големина, цвят, съдържание на протеини и мазнини и по повърхността им, няма видими симптоми на поразеност и оцветяване на зърната, масово се изолират плесени от род *Fusarium sp.* При тези зърна микробиологичният анализ установява т.нар. „скрита фузариоза“.

На фигура 1 са представени резултатите от изследване на изменението на влагата и честотата на замърсяване на Енола при 210 дни период на съхранение. Най-висока е честотата на *Alternaria sp.* (46,0%) на втория месец при влага 13,6%. На третия месец при влага 12,5% развитието им е 42,3%. През следващите три месеца (от 90-тия до 150-ия ден) съдържанието на влагата в субстрата се понижава до 10,2% и замърсените зърна с *Alternaria sp.* са 33,3%. Установяваме, че *Fusarium sp.* надвишава неколkokратно *Alternaria sp.* до 120-ия ден на съхранение. Най-голям е броят на изолатите непосредствено след прибиране на реколтата – около 62,0%, когато влагата в зърната е 14,5%. При понижаване на влагата до 12,2% честотата на фузариумните видове намалява до 58,3%, а на последния месец замърсяването намалява до 30,6%.



Фиг. 1. Оценка на честотата на плесенови гъби за 2014 г.

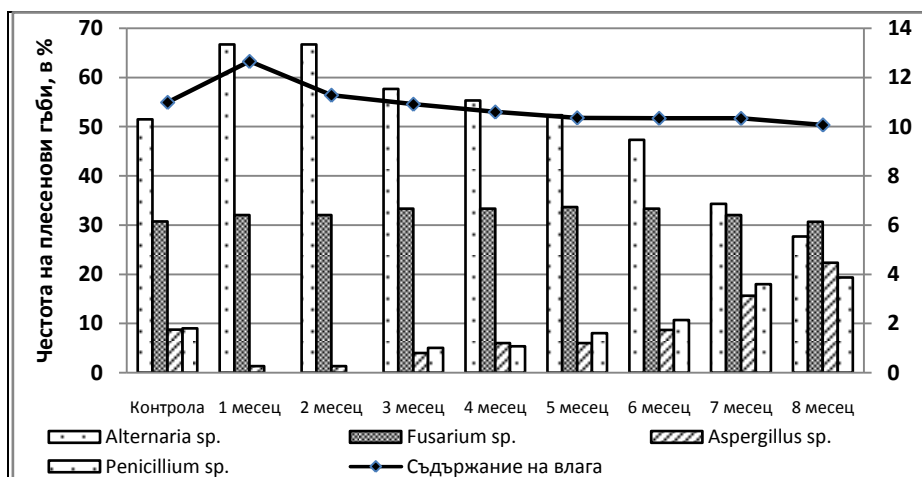
Fig. 1. Moulds frequency for 2014

Анализите след прибиране на реколтата от полето показват, че „плесените на съхранение“ слабо се развиват при високо съдържание на влага. Род *Aspergillus sp.* при влага 14,5% и 13,6% се развива с честота 0,3%. Нивата им на развитие се увеличават при влага 11,4%, когато количеството на гъбната микофлора достига 12,0%. Постепенното понижаване на водното съдържание на субстрата води до увеличаване на *Aspergillus sp.* и на осмия месец достига до 22,3%.

По отношение на *Penicillium sp.* тенденцията е подобна, като изключение правят първите два месеца. Установяваме, че при влага от 14,5 до 13,6% няма развитие на гъбен мицел. Развитие на мицела се отчита при понижаване на влагата до 12,5%, а най-висок е процентът им при 10,2% влага на шестия месец, когато честотата им е 21,0%.

През тази реколтна 2015 г. установяваме по-ниско съдържание на влага, варираща от 10,3 до 12,6%. Количеството на изолираните гъби от род *Alternaria sp.* непосредствено след прибирането достига до 66,7% при влага 12,6% и на втория месец отново е 66,7% при по-ниска влага – 11,3%. Видовете от *Alternaria sp.* са преобладаващи до петия месец и варират от 52,3 до 57,7%. С удължаване на периода на съхранение на осмия месец при влага 10,4% честотата стига до 27,7%.

Отчетено е, че сравнително по-ниска е честотата на замърсяване на пшеничените зърна с *Fusarium sp.* през целия период на изследване. През първия и втория месец на анализа заразените с мицел зърна са 32,0% при влага от 11,3 до 12,6%, а от третия до шестия месец честотата варира около 33,3%. Подобно на *Alternaria sp.*, гъбите от род *Fusarium sp.* на осмия месец са с най-слабо развитие – 30,7% при 10,4% влага на субстрата.



Фиг. 2. Оценка на честотата на плесенови гъби за 2015 г.

Fig. 2. Moulds frequency for 2015

При видовете от *Aspergillus sp.* се наблюдава слабо развитие през първите два месеца – 1,3%, когато влагата в зърната е 12,6% и 11,3%, съответно. При понижаване на влагата до 10,3% през шестия месец плесените достигат развитие до 8,7%, а през седмия месец обсемеността им е 15,7%. *Aspergillus sp.* и през 2015 г. показва подобни на реколта 2014 г. резултати. През първите два месеца, когато водното съдържание в зърната е повече, и гъбите не се развиват.

Сравнително увеличаване на изолатите са отчетени след петия месец при влага 10,3% и на осмия месец *Aspergillus sp.* са с честотата 19,3%.

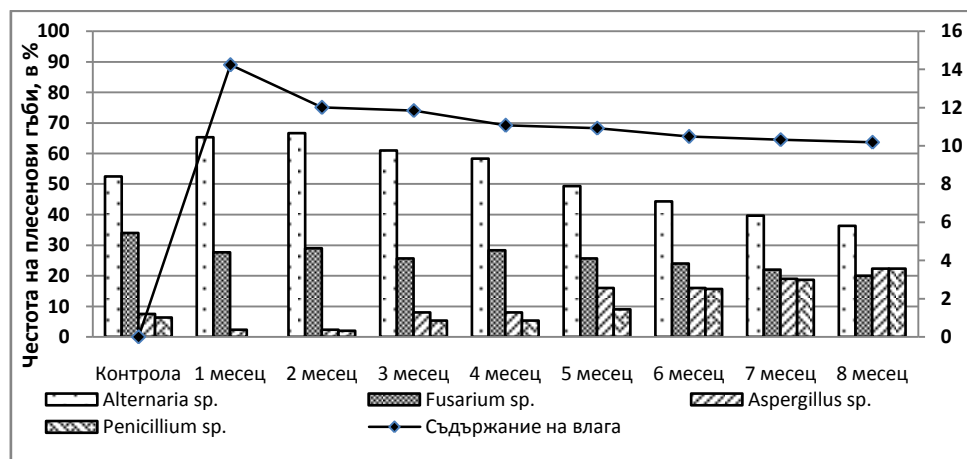
От данните, представени на фиг. 3, установяваме по-високо съдържание на влага в зърната през 2016 г., съответно честотата на *Alternaria sp.* също е висока.

Замърсяването на Енола варира от 36,3 до 66,7%. През първия месец от анализа влагата е 14,2% и заразените пшеничени зърна са 65,3%, а на втория месец при 12,0% влага *Alternaria sp.* достига до 66,7%.

В сравнение с предходните години заразата на реколтата с *Fusarium sp.* е много по-слабо. Те варират от 20,0 до 28,3%. Най-силно развитие се наблюдава при влага 11,1% на четвъртия месец от съхранението, когато честотата на *Fusarium sp.* е 28,3%. А при най-висока влага на субстрата 14,2% нивата на тази група плесени е 27,7%.

За реколта 2016 г. е отчетено по-силно замърсяване на пшеницата с „плесени на съхранение“. Видовете от род *Aspergillus sp.* при влага 14,2% и 12,0% са с честота 2,3%.

През следващите месеци установяваме тенденция на увеличаване на броя на заразените зърна до 22,3%, когато влагата е около 10,0%. Подобни резултати са отчетени и за *Penicillium sp.* след първия месец на съхранение.



Фиг. 3. Оценка на честотата на плесенови гъби за 2016 г.

Fig. 3. Moulds frequency for 2016

Sauer и сътр. (1992) установяват аналогична тенденция. Според тях след прибиране на реколтата преобладават типичните за полето представители от род *Alternaria sp.* и *Fusarium sp.*, а на по-късен етап се изолират и видове от род *Aspergillus sp.* и *Penicillium sp.* Изследванията на Valcheva (2005; 2006; 2009) и Borisova et al. (2000; 2005) потвърждават тази тенденция на замърсяване на зърнено-житните култури с плесенови гъби от род *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.* и *Penicillium sp.* по време на съхранение. Анализът на резултатите потвърждава становището на Borisova (2008), че „полските гъби“ при благоприятни условия (валежи по време на вегетацията) замърсяват масово зърнено-житните култури още на полето, в процеса на тяхното развитие и зреене.

Прибраните с по-висока от стандартната влажност зърна в повечето случаи по икономически причини не се доизсушават, а съхраняването им в неподходящи складови помещения, както и липсата на обработка с плесенни инхибитори, предразполагат към интензивно развитие на плесенни гъби (Valcheva, 2005).

Vrabcheva и сътр. (2000) установяват, че с най-висока честота на срещане в България се отличава видът *F. moniliforme* – 66% от получените изолати от зърно на пшеница, ечемик и царевица, следван от *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides*, *F. nivale*, *F. poae*, *F. solani*, *F. culmorum*, и *F. proliferatum*. Според проучване на Sreenivasa et al. (2010) *Fusarium sp.* и *Aspergillus sp.* са най-често изолираните гъби по зърнено-житните култури. Резултатите от изследването им показват силно замърсяване на пшеницата с видове от род *Fusarium* (93,2%) и *Aspergillus* (88,6%). Срещат се и други плесени като *Alternaria sp.*, *Phoma sp.*, *Curvularia sp.*, *Penicillium sp.* и *Drechslera sp.*, но те са с по-нисък процент.

В редица изследвания *Fusarium verticillioides* (88,6%), *Aspergillus flavus* (72,7%), *Fusarium anthophilum* (65,0%) и *Aspergillus niger* (59,1%) са представени като най-преобладаващи видове плесени. В други изследвания също са отчетени високи нива на замърсяване с *Fusarium sp.* и *Aspergillus sp.*, които се явяват като общи плесенови замърсители по царевицата (Bakan et al., 2001).

ИЗВОДИ

1. Непосредствено след прибиране на реколтата са изолирани представители от род *Fusarium sp.* и *Alternaria sp.*, които се запазват като изолати до края на изследвания период. Видовете от род *Aspergillus sp.* и *Penicillium sp.* са изолирани още от първия месец на съхранението с много ниска честота и в периода на съхранение разпространението им се увеличава неколкостранно. Следователно така наречените „полски гъби“ от родовете *Alternaria sp.* и *Fusarium sp.* са доминиращи през първите месеци от съхранението на реколтата. Те изискват по-високо съдържание на влага за продължаване на развитието си, което е причина за намаляване на тяхната динамика след четвъртия месец от съхранението.

2. Процентът на пробите, замърсени с плесенни гъби от род *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp. и *Penicillium* sp., варира в периода на изследването, но се запазва относително висок.

3. При анализиране на пшеничените зърна се наблюдава и друга особеност на замърсяване на плесените от род *Fusarium* sp. – т.нар. „скрита фузариоза“. Пшеничените зърна, от които масово са изолирани видовете от род *Fusarium* sp., са с нормални физико-химични показатели. По повърхността им не са наблюдавани видими симптоми на замърсяване от плесенови гъби, за разлика от „явната фузариоза“, при която заразените зърна са дребни, спаружени, с видимо леко розовочервеникаво оцветяване.

REFERENCES

- Borisova, L., Yu. Tasheva, N. Sertova, 2008. Prouchvaniya varhu kontaminirane na pshenitsa i tsarevitsa s Asp. flavus i opredelyane na toksigennite y sposobnosti za produtsirane na aflatoksin. Vet. meditsina, HII, 3–4, 60–63.
- Borisova, L., 2005a. Fuzariozata po pshenitsata, rekolta 2005 g. Riskovete za zdravoslovnoto sastoyanie na zhivotnite. VM novini, 8, HVII – HH – Publikatsiya, svarzana s habilitatsionniya trud, 16.
- Borisova, L., T. Tacheva, R. Baykushev, 2000. Mikotoksikologichni izsledvaniya na pshenitsa ot dva zarnoproizvoditelni rayona na Bulgaria, Vet. Meditsina, №2–3, str. 29–31 – Publikatsiya, svarzana s habilitatsionniya trud 14.
- Dunkel, F. V., 1992. The stored grain ecosystem: a global perspective. Journal of stored product research, 28 (2), pp. 73–87.
- Fourar-Belaifa, R., Fleurat-Lessard, F., Bouznad, Z., 2010. A systemic approach of qualitative changes in the stored wheat ecosystem: prediction of deterioration risks in unsafe storage conditions in relation to RH level, infestation by *Sitophilus oryzae* (L.), and variety influence. Proceedings of the Tenth International Working Conference on Stored Product Protection, 518–526.
- Pozzi, C. R., B. Correa, W. Gambale, C. R. Paula, N. O. Chacon-Reche and M. C. A. Meirelles, 1995. Postharvest and stored corn in Brazil – mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxin occurrence. Food additives and contaminants, 12: 313–319.
- Bennett, J. W., M. Klich, 2003. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews, July, pp. 497–516, Vol. 16.
- Subramanian, M., 2000. Pulses production strategies in Tamil Nadu. Centre for Plant Breeding and Genetics Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore.
- Whitlow, L., W., 2006. Evaluation of mycotoxin binders, pp. 132–143. In: Zimmerman, N. G. (ed.) Proc. 4th Mid Atlantic Nutrition Conference, University of Maryland, College Park.
- Sauer, D. B., R. A. Meronuck and C. M. Christensen, 1992. Microflora. In: Sauer, D. B. (ed.). Storage of Cereal Grains and Their Products.
- Valcheva, A. and G. Valchev, 2007. The Fusariotoxins Zearalenon and Deoxynivalenol as Natural Contaminators of Some Basic Cereal

- Components in the Production of Combined Feed. *Bul. J. Agric. Sci.* 13: 99–104.
- Valcheva, A. and G. Valchev*, 2006. The distribution of moulds of genus *Fusarium* in basic cereals used in the production of compound feed. *Bul. J. Agric. Sci.*, 12: 727–733.
- Valcheva, A.*, 2005. Distribution of Zearalenon and Deoxynivalenol and their producers from genus *Fusarium* as natural contaminants of wheat and maize. *Journal of Animal Science*, 3(4): 163–166.
- Vrabcheva, T, Usleber E, Dietrich R and Martlbauer E.*, 2000. Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2483–2488.
- Sreenivasa, M. Y., Dass R. S., Janardhana G. R.*, 2010. Survey of postharvest fungi Associated with sorghum grains produced in Karnataka (India). *Journal of plant protection research* Vol. 50, № 3, 335–339.
- Bakan, B., Pinson L., Cahagnier B., Melcion D., Sémon E., Richard-Molard D.*, 2001. Toxigenic potential of *Fusarium culmorum* strains isolated from French wheat. *Food Additives and Contaminants*, 18: 998–1003.