

Секція 4. ХІМІЧНІ, ФІЗИЧНІ, МАТЕМАТИЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ ЯКОСТІ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

УДК 635.64:621.796

ВПЛИВ ТЕРМІНІВ ЗБЕРІГАННЯ НА МІКРОБІОТУ ТА МІКОБІОТУ ФІЛОСФЕРИ ПЛОДІВ ТОМАТІВ

А.А. Дубініна, Т.М. Летуга, Т.В. Фролова

Подано характеристику філосфери рослин, умов існування мікроорганізмів, мікробного складу і форми існування мікроспільноти. Проведено дослідження з вивчення кількості мікробіоти і мікобіоти філосфери плодів томатів ботанічних сортів Карась, Віконте Малинове, Чайка та Іршика. Вивчено склад мікробіоти і мікобіоти плодів томатів. Показана залежність зміни кількості мікроорганізмів на поверхні досліджуваних об'єктів від збільшення термінів зберігання.

Ключові слова: *томати, зберігання, філосфера, мікробіота, мікобіота, фітопатогени, бактерії, гриби.*

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ НА МИКРОБИОТУ И МИКОБИОТУ ФИЛЛОСФЕРЫ ПЛОДОВ ТОМАТОВ

А.А. Дубинина, Т.Н. Летуга, Т.В. Фролова

Дана характеристика филосферы растений, условий существования микроорганизмов, микробного состава и формы существования микросообществ. Проведены исследования по изучению численности микробии и микобии филосферы плодов томатов ботанических сортов Карась, Виконте Малинове, Чайка и Иршика. Изучен состав микробии и микобии плодов томатов. Показана зависимость изменения численности микроорганизмов на поверхности изучаемых объектов от увеличения сроков хранения.

Ключевые слова: *томаты, хранение, филосфера, микробии, микобии, фитопатогены, бактерии, грибы.*

THE EFFECT OF STORAGE CONDITIONS ON THE MICROBIOT AND MYCOBIOT OF THE TOMATO FRUIT PHYLLOSPHERE

A. Dubinina, T. Letuta, T. Frolova

The plant organisms' phyllosphere is characterized. The microorganisms' existence conditions, microbial composition and ecological form of micro-communities existence in the phyllosphere are analyzed. It is identified that

relatively low content of the nutrients such as carbohydrates, organic acids and amino acids, sugars is on the surfaces of plant organs. Their content depends not only on the type of plant, its age and physiological state, size, the presence of micro-injuries on the surface. The content of carbon-containing nutrients is the basic condition for the plant tissues surface colonization by microorganisms. The study of the microbiota and mycobiota number of the tomato fruits phyllosphere of the botanical varieties Karas, Viscount Malinovoe, Chaika, Iryshka was carried out during the whole shelf life. The obtained results over the whole period of the experiment reflect the general tendency to colony forming units increasing under shelf life increasing for both bacteria and fungi. The minimum 14 days shelf life is set for the tomato fruits of the botanical variety Irishka, which belongs to the Cherry variety. It is explained by the rapid growth and spread in small areas, which leads to rapid spoilage of the product and longer colonization of vegetables with larger area surface. The predominance of non-spore gram-positive bacillus over gram-negative and gram-positive cocci is found under studying the composition of the tomato fruits phyllosphere microbiota.

Keywords: *tomatoes, storage, phyllosphere, microbiota, mycobiota, phytopathogens, bacteria, fungi.*

Постановка проблеми у загальному вигляді. Мікроорганізми мають значний вплив на зростання, розвиток та інтенсивність фізіологічних процесів у рослині, тому нова інформація про характер взаємодії, склад і кількість мікробіоти різних еконіш є за необхідною для вивчення всіх цих процесів [1; 2]. Окремі мікробні угруповання здатні чинити як сприятливу дію, стимулюючи зростові процеси (наприклад, бактерії групи PGPR, грибки утворюють арбускулярну мікоризу), так і негативну, колонізуючи та інфікуючи рослини, що надалі може призвести їх до загибелі [3; 4].

У різних галузях зазначені відомості можуть відігравати важливу роль у поліпшенні та інтенсифікації процесів виробництва. Наприклад, знаючи характер взаємодії та зміни динаміки мікроорганізмів на поверхнях плодів та овочів, можна збільшити їх лежкоздатність і, відповідно, терміни зберігання та реалізації. Саме тому вивчення цього питання є надзвичайно актуальним на сьогодні.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мікроорганізми і рослини протягом усього життєвого циклу співіснують у специфічній неоднорідній екологічній ніші — фітосфері [3; 4]. Фітосфера являє собою комплексну еконишу, до складу якої входять ризосфера (зона впливу кореневої частини рослини на субстрат), ендосфера (рослинні тканини) і філосфера (сукупність усіх надземних частин рослини).

Умови існування мікроорганізмів у різних компонентах фітосфери можуть відрізнятися залежно від виду рослин і впливу абіотичних і біотичних чинників [1; 2; 4].

Вплив бактерій на рослину може бути прямим і опосередкованим, шляхом біомобілізації мінералів субстрату, супресії фітопатогенів, продукування фітогормонів, розвитку набутої системної стійкості до фітопатогенів [8]. Філософерою називають сукупність усіх надземних рослинних поверхонь, самі поверхні називають філопланом, а мікробіоту, що її населяє – мікроепіфітами або епіфітами. Від ендосфери її відділяє кілька шарів клітин епідермісу [1; 3; 4]. Умови існування мікроорганізмів, мікробний склад і екологічна форма існування мікроспільноти у філосфері значно відрізняються від ендосфери. Серед розмаїття мікробіоти філосфери виявлено велику кількість різних бактерій, мікроскопічних грибів, водоростей, найпростіших і нематод [7; 9].

Від усіх еконіш філосферу відрізняють екстремальні умови існування мікроорганізмів. Так, на відміну від енто- та ризосфери, у філосфері зміни температури більш різкі. На поверхні листа рослини рівень температури вдень може досягати 40...55 °С під прямим сонячним впливом, а вночі 5...10 °С. Дощі й посухи здатні впливати на рівень відносної вологості, яка також є нестабільною [3; 10]. Як відомо, доступність вологи є важливим чинником колонізації поверхонь рослини. Головну роль у забезпеченні водою поверхонь відіграє філоплан, оскільки через продири відбувається транспірація і звільнення вологи, яка пом'якшує дію стресу, спричиненого посухою. Установлено, що саме продири і незначні пошкодження виростів епідермісу листка є місцями локалізації епіфітів в період посухи [2–4].

Крім того, філосфера зазнає значного впливу ультрафіолетового випромінювання, що зумовлює пігментацію в більшості епіфітів. Таким чином мікроорганізми цієї еконіші захищаються від впливу сонячної радіації. Також виявлено, що на поверхні органів рослин відносно низький вміст поживних речовин, таких як вуглеводи, органічні кислоти й амінокислоти, цукор. Їх вміст залежить не тільки від виду рослини, віку та фізіологічного стану, а й від наявності мікротравм на поверхні. Саме вміст вуглецевмісних поживних речовин заведено вважати основною умовою для успішного перебігу колонізації. До переважаючих цукрів на поверхні філоплана належать глюкоза, фруктоза і цукроза; усі вони розподілені нерівномірно, що також впливає на неоднорідне поширення бактерій у філоплані [3]. Сукупність усіх цих чинників і робить зазначену еконішу водночас унікальною й екстремальною для колонізації мікроорганізмами, змушує їх виробляти адаптивні механізми для успішного існування в ній [7].

Мікробіота філосфери досить різноманітна і включає в себе представників майже всіх таксономічних груп мікроорганізмів. Але

найбільш численну групу складають бактерії. Серед них найбільш вивчені аеробні культивовані грам-негативні *Pseudomonas seringae* й *Erwinia (Pantoea) spp.*, патогенні для людини види, такі як *Salmonella spp.* й *Shigella spp.*, також достовірно відомо про наявність багатьох некультивованих і некультурабельних бактерій. Кількісний та якісний склад мікробіоти філосфери може змінюватися залежно від впливу абіотичних і біотичних чинників.

Метою статті було вивчення впливу строків зберігання плодів томата на зміну кількості, складу і динаміку мікробіоти та мікобіоти.

Виклад основного матеріалу дослідження. Об'єктами дослідження були плоди томатів таких ботанічних сортів: Карась, Віконте Малинове, Чайка, Іришка, які були відібрані безпосередньо з полів Інституту овочівництва і баштанництва НААН України (с. Селекційне Харківського району).

Загальну кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (загальну кількість бактерій) визначали за допомогою стандартних методик, рекомендованих для санітарно-бактеріологічного контролю харчових продуктів [5; 6].

Мікробіоту філосфери досліджували з використанням техніки змивів із поверхні плодів [6]. Змиви з поверхні плодів проводилися від початку зберігання до їх псування. Овочі зберігали в холодильній камері за температури 4 °С. Загальна площа змивної поверхні становила 12 см² для маленьких за розмірами плодів і 36 см² для великих. Змиви з поверхні проводилися за допомогою стерильних зволжених ватних тампонів. Стерильні ватні тампони на дерев'яних паличках були вмонтовані в пробірки з ватними пробками, заготовлені раніше. У день взяття змивів у кожну пробірку з тампоном наливали (в умовах боксу над пальником) по 5 мл стерильного ізотонічного розчину хлориду натрію. Після взяття змивів тампон ретельно відмивали, після чого 1,0 мл змивної рідини засівали методом глибинного посіву на два різних середовища для грибів і бактерій: м'ясо-пептонний агар і сусло-агар. Потім усі чашки поміщали в термостат для інкубації. Попередній підрахунок колоній, що вирости, проводився через 48 годин, остаточний – через 72 години.

Вміст бактерій визначали за допомогою фарбування мазків за Грамом і подальшого мікроскопіювання фіксованих препаратів. Основними критеріями, які враховувалися, були:

- приналежність до грам-позитивних або грам-негативних форм;
- форма, розмір і колір колоній, які зросли на чашках Петрі, форма і розмір клітин;
- наявність капсул і здатність до спорування.

Визначення мікроскопічних грибів відбувалося після інкубування і початку спороношення; урахувалися розмір, форма і колір реверзума і аверзума. Потім фіксовані препарати колоній мікроскопіювали.

Дослідження кількості мікробіоти і мікобіоти філосфери плодів томатів проводили протягом усього терміну зберігання. Відбір змивів із поверхні овочів і засів матеріалу проводили в першу добу, потім послідовно через кожні сім днів зберігання. Підрахунок колоній, що вирости, бактерій і мікроскопічних грибів проводили через 72 години після початку інкубації за температури 29...30 °С. Результати досліджень подано в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Зміни кількості мікробіоти філосфери плодів томатів

Строки зберігання, діб	Кількість бактерій, КОЕ/1 см ²			
	Карась	Віконте Малинове	Чайка	Іришка
0	1,25×10 ³	3,34×10 ³	0,14×10 ³	17,88×10 ³
7	1,45×10 ³	4,25×10 ³	0,17×10 ³	19,71×10 ³
14	1,66×10 ³	4,31×10 ³	0,18×10 ³	20,75×10 ³
21	1,87×10 ³	5,99×10 ³	0,28×10 ³	–

Таблиця 2

Зміни кількості мікобіоти філосфери плодів томатів

Строки зберігання, діб	Кількість грибків, КОЕ/1 см ²			
	Карась	Віконте Малинове	Чайка	Іришка
0	0,033×10 ³	0,043×10 ³	0,115×10 ³	0,003×10 ³
7	0,051×10 ³	0,123×10 ³	0,131×10 ³	0,123×10 ³
14	0,124×10 ³	0,232×10 ³	0,132×10 ³	0,173×10 ³
21	0,271×10 ³	0,475×10 ³	0,145×10 ³	–

Мінімальна кількість колонієутворювальних одиниць у першу добу зберігання становила 0,14×10³ КУО/см² (ботанічний сорт Карась), максимальна – 17,88×10³ КУО/см² (ботанічного сорту Іришка).

Вивчення складу мікробіоти виявило переважання на поверхні плодів грам-позитивних паличок, що не утворюють спор, вони зустрічалися на всіх зразках. Також на поверхні плодів томата сортів Чайка та Іришка були виявлені як грам-негативні палички, що утворюють спори, так і коки.

Таблиця 3

Склад мікробіоти філосфери досліджуваних плодів томатів

Ботанічні сорти томатів	Склад мікробіоти				
	Грам(+)	Грам(-)	Утворення спор	Коки	Палички
Карась	+	-	+	-	+
Віконте Малинове	+	-	-	-	+
Чайка	+	+	+	+	+
Іришка	+	+	+	+	+

Дослідження складу мікробіоти філосфери плодів показало наявність грибів роду *Penicillium*, *Aspergillus* й *Cladosporium*. Переважним був рід *Penicillium*, виявлений на поверхні всіх об'єктів. Поодинокі колонії грибів роду *Aspergillus* були виявлені на поверхні плодів томату сортів Карась, Чайка та Іришка. Колонії грибів роду *Cladosporium* були виявлені на поверхні плодів томатів сортів Карась та Іришка (табл. 4).

Таблиця 4

Склад мікробіоти філосфери досліджуваних плодів томатів

Ботанічні сорти томатів	Склад мікробіоти		
	p. <i>Penicillium</i>	p. <i>Aspergillus</i>	p. <i>Cladosporium</i>
Карась	+	+	+
Віконте Малинове	+	-	-
Чайка	+	+	-
Іришка	+	+	+

Під час дослідження виявлено, що зі збільшенням термінів зберігання томатів збільшувалася кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів на їх поверхні. Причому значний вплив на швидкість псування мали розміри об'єкта і цілісність його зовнішніх покривів. Так, на поверхні плодів томатів сорту Віконте Малинове збільшення бактерій відбувалося плавно, з різницею в абсолютному прирості приблизно в $0,2 \times 10^3$ КУО/см² під час кожного наступного виміру. На поверхні томатів сорту Іришка (сортотип Черрі) зростання бактерій відбувалося значно швидше і значення абсолютного приросту були більші. Унаслідок цього вже під час третього виміру кількість бактерій становила $20,75 \times 10^3$ КУО/см². Четвертий вимір провести не вдалося, оскільки через маленьку площу

поверхні плодів бактерії та гриби швидко їх колонізували, що призвело до псування.

Висновки. У ході дослідження впливу строків зберігання на мікробіоту і мікобіоту філосфери плодів томатів виявлено пряму залежність зміни кількості мікроорганізмів на поверхні досліджуваних об'єктів від збільшення терміну їх зберігання із подовженням терміну зберігання, збільшується загальна бактеріальна забрудненість овочів. Мінімальний термін зберігання становив 14 днів (плоди томатів сорту Іришка). Це може пояснюватися швидким зростанням і поширенням бактерій на маленьких площах, що призводить до швидкого псування продуктів, і більш тривалою колонізацією овочів із більшою площею поверхні.

Під час вивчення складу мікробіоценозів філосфери виявлено переважання грам-позитивних, паличок, що не утворюють спор, над грам-негативними і грам-позитивними коками. Дослідження складу мікобіоти плодів показало переважання на поверхні колоній грибів роду *Penicillium* над грибами родів *Aspergillus* й *Cladosporium*.

Список джерел інформації / References

1. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / К. І. Андреюк, Г. О. Іутиńska, А. Ф. Антипчук, О. В. Валагурова, В. С. Козирицька. – К. : Обереги, 2001. – 239 с.

Andreyuk, K., Iutinska, G., Antipchuk, A., Valagurova, O., Koziritska, V. (2001), *Functioning of microbial coenoses of soil in anthropogenic loading conditions* [*Funktsionuvannya mikrobnih tsenoziv ґruntu v umovah antropogennogo navantazheniya*], Oberehy, Kyiv, 239 p.

2. Звягинцев А. Биология почв / А. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – Изд. 3-е, испр. и доп. – М. : Изд-во Московского университета, 2005. – 448 с.

Zvyagintsev, A., Bab'yeva, I., Zenova, G. (2005), *Soil Biology* [*Biologiya pochv*], Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta, Moscow, 448 p.

3. Мошинець О. В. Екологія фітосфери: рослинно-мікробні взаємовідносини. 1. Структурно-функціональна характеристика ризо-, енто- та філосфери / Мошинець О. В., Косаківська І. В. // Вісник Харківського нац. аграр. ун-ту. – 2010. – № 20 (вип. 2). – С. 19–35.

Moshynets, O., Kosakivska, I. (2010), "Phytosphere ecology: plant-microbial relationships. 1. Structural and functional characteristics of the rhizo, endo, and phyllosphere" ["*Ekolohiya fitosfery: roslynno-mikrobnі vzayemovidnosyny 1. Strukturno-funktsionalna kharakterystyka ryzо-, endo-, ta filosfery*"], *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu*, No. 20 (Vol. 2), pp. 19-35.

4. Мошинець О. В. Екологія фітосфери: рослинно-мікробні взаємовідносини 2. Фітосфера як екологічна ніша рослинно-мікробних взаємовідносин. Функціональна активність мікроорганізмів та їхній вплив на рослин / Мошинець О. В., Косаківська І. В. // Вісник Харківського нац. аграр. ун-ту. – 2010. – № 21 (вип. 3). – С. 6–22.

Moshynets, O., Kosakivska, I. (2010), "Phytosphere ecology: plant-microbial relationships 2. Phytosphere as ecological niche of plant-microbial relationships. Functional activity of microorganisms and their effect on plants" ["Ekolohiya fitosfery: roslynno-mikrobnі vzaemovidnosyny 2. Fitosfera yak ekolohichna nisha roslynno-mikrobnikh vzaemovidnosyn. Funktsionalna aktyvnist mikroorhanizmiv ta yikhniy vplyv na Roslyn"], *Visnyk Kharkivskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu*, No. 21 (Vol. 3), pp. 6-22.

5. Лабинская А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / Лабинская А. С., Блинкова Л. П., Ещина А. С. – М. : Медицина, 2004. – 588 с.

Labinskaya, A., Blinkova, L., Yeshchina, A. (2004), *General and sanitary microbiology with the technique of microbiological research* [*Obshchaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tekhnikoю mikrobiologicheskikh issledovaniy*], Meditsina, Moscow, 588 p.

6. Лабинская А. С. Руководство по медицинской микробиологии. Общая санитарная микробиология. Кн. 1 / Лабинская А. С., Волкова Е. Г. – М. : Бином, 2008. – С. 345–567.

Labinskaya, A., Volkova, Ye. (2008), *Guide to medical microbiology. General Sanitary Microbiology* [*Rukovodstvo po meditsinskoю mikrobiologii. Obshchaya sanitarnaya mikrobiologiya. Kniga 1*], Binom, Moscow, pp. 345-567.

7. Ворхолт Дж. А. Мікробне життя у філосфері / Ворхолт Дж. А. // Огляди природи. Мікробіологія. – 2012. – № 10. – С. 829–840. – DOI:10,1038 / nrmicro2910

Vorkholt, Dzh.A. (2012), "Microbial life in the phyllosphere" ["Mikrobnе zhyttya u fillosferi"], *Ohlyady pryrody. Mikrobiolohiya*, No. 10, pp. 829-840. DOI:10,1038 / nrmicro2910

8. Nelson, E.B. (1990), "Exudates molecules initiating fungal responses to seeds and roots", *Plant Soil*, Vol. 129, pp. 61-73.

9. Lindow, S.E., Brandl, M.T. (2003), "Microbiology of the Phyllosphere", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 69(4), pp. 1875-1883.

10. Yang, C.H. (2001), "Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 98, pp. 3889-3894.

Дубініна Антоніна Анатоліївна, д-р техн. наук, проф., кафедра товарознавства та експертизи товарів, Харківський державний університет харчування та торгівлі. Адреса: вул. Клочківська, 333, м. Харків, Україна, 61051. Тел.: (057)349-45-48; e-mail: tovaroved206@ukr.net.

Дубинина Антонина Анатольевна, д-р техн. наук, проф., кафедра товароведения и экспертизы товаров, Харьковский государственный университет питания и торговли. Адрес: ул. Клочковская, 333, г. Харьков, Украина, 61051. Тел.: (057)349-45-48; e-mail: tovaroved206@ukr.net

Dubinina Antonina, Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Commodity Research and Expertise of Goods, Kharkiv State University of Food Technology and Trade. Address: Klochkivska st., 333, Kharkiv, Ukraine, 61051. Tel: (057)349-45-48; e-mail: tovaroved206@ukr.net.

Летуга Тетяна Миколаївна, канд. техн. наук, проф., кафедра товарознавства та експертизи товарів, Харківський державний університет харчування та торгівлі. Адреса: вул. Клочківська, 333, м. Харків, Україна, 61051. Тел.: (057)349-45-48; e-mail: lettanya@ukr.net.

Летуга Татьяна Николаевна, канд. техн. наук, проф., кафедра товароведения и экспертизы товаров, Харьковский государственный университет питания и торговли. Адрес: ул. Клочковская, 333, г. Харьков, Украина, 61051. Тел.: (057)349-45-48; e-mail: lettanya@ukr.net.

Letuta Tatiana, PhD in Tech. Sciences, Associate Professor, Department of Commodity Research and Expertise of Goods, Kharkiv State University of Food Technology and Trade. Address: Klochkivska st., 333, Kharkiv, Ukraine, 61051. Tel: (057)349-45-48; e-mail: lettanya@ukr.net.

Фролова Тетяна Володимирівна, ст. викл., кафедра товарознавства та експертизи товарів, Харківський державний університет харчування та торгівлі. Адреса: вул. Клочківська, 333, м. Харків, Україна, 61051. Тел.: 0502552621; e-mail: tetfrol70@ukr.net.

Фролова Татьяна Владимировна, ст. преп., кафедра товароведения и экспертизы товаров, Харьковский государственный университет питания и торговли. Адрес: ул. Клочковская, 333, г. Харьков, Украина, 61051. Тел.: 0502552621; e-mail: tetfrol70@ukr.net.

Frolova Tatiana, art. teacher, Department of Commodity Research and Expertise of Goods, Kharkiv State University of Food Technology and Trade. Address: Klochkivska st., 333, Kharkiv, Ukraine, 61051. Tel: 0502552621; e-mail: tetfrol70@ukr.net.

DOI: 10.5281/zenodo.3592855

УДК 631.577:634.23

МОНІТОРИНГ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ НА ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ПЛОДІВ ВИШНІ

А.А. Дубініна, Т.М. Летуга, В.В. Новікова

*Плоди вишні є смачною й корисною фруктовою сировиною, що використовується в харчовій промисловості як у свіжому, так і в переробленому вигляді. Завдяки своєму багатому хімічному складу плоди часто вражають такі збудники захворювань, як гриби родів *Alternaria*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Cladosporium* (найчастіше *Cladosporium herbarum*), *Rhizopus* та *Monilinia*.*

© Дубініна А.А., Летуга Т.М., Новікова В.В., 2019