



Пваринництво, ветеринарна медицина

УДК 619:547.282

© 2022

ФІТОНЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН ЩОДО ГРИБІВ РОДУ ASPERGILLUS

А.Ю. Карасенко¹, С.Б. Передера²

²кандидат ветеринарних наук

Полтавський державний аграрний університет

вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава Полтавської обл., 36003, Україна

e-mail: ¹annamalyonovskaya@ukr.net, ²I3peredera@ukr.net

ORCID: ¹0000-0002-6403-3368, ²0000-0001-6363-878X

Надійшла 06.07.2022

Мета. Проаналізувати фітонцидні властивості рослин щодо грибів роду *Aspergillus*. **Методи.** Культивували *Aspergillus fumigatus* на агарі Чапека. Для цього невеликі шматочки ураженої тканини обробляли, вирізували із середини шматок і культивували за температури 22–37°C. Також у процесі дослідження використано метод паперових дисків. Наведено особливості дослідження з визначення фунгіцидної активності лікарських рослин: чорного та грецького горіхів (листя та плодів молочно-воскової та повної стиглості), шипшини (сушених плодів і коренів), гвоздики (плодів), календули (квітів), куркуми, ромашки (квітів) на культури грибів *Aspergillus*. Для кожної використаної рослини дано ботанічну характеристику та вказано хімічний склад. Зазначено, що в листі та плодах горіхів чорного та волоського наявний юглон, який має бактерицидні та фунгіцидні властивості. Саме ця сполука в рослинній сировині має значний селективний вплив на досліджувані культури грибів. **Результати.** Установлено високу фунгіцидну активність настоянок із плодів і листя горіха волоського та горіха чорного. Характер росту мікробних культур порівняно з контролем неоднорідний, колонії плоскі, у *A. fumigatus* повністю безбарвні, у *A. niger* та *A. flavus* спостерігалось знебарвлення колоній у секторах взаємодії з водними настоянками лікарських речовин. Для всіх інших лікарських рослин, використаних в експерименті, вплив на мікробні культури був низьким. **Висновки.** Виявлено високу фунгіцидну активність настоянок з плодів і листя горіха волоського та горіха чорного. Для всіх інших лікарських рослин, використаних в експерименті, зафіксовано низький фунгіцидний вплив на культури грибів. Використаний метод паперових дисків засвідчив, що водні настоянки досліджуваних рослин виявляють виражені фунгіцидні властивості щодо дослідних культур грибів (*A. fumigatus*, *A. flavus* та *A. niger*), зокрема найчутливішим виявився *A. fumigatus*.

Ключові слова: мікробіологічне дослідження, горіх чорний, горіх волоський, затримка росту, резистентність, КУО, фунгіцидна дія, фітонциди.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202209-06>

У 1855 р. Френзеніус вперше виявив у легенях дрофи гриби роду *Aspergillus*. Назву роду запропонував італійський ботанік Мікелі в 1729 р., який звернув увагу на характерну будову конідіє-носіїв. У приватних господарствах України циркулюють: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. Album* [1]. Різноманітність цього гриба було виділено з культури кукурудзи та соєвого борошна, а також із органів дицання загиблених тварин.

Мета досліджень — проаналізувати фітонцидні властивості рослин щодо грибів роду *Aspergillus*.

Завдання досліджень — з обраних на основі вивчення літературних джерел речовин рослинного походження визначити такі, що мають найбільш виражений фунгіцидний вплив на гриби роду *Aspergillus*.

Матеріали і методи досліджень. Культивування *A. fumigatus* здійснювали на агарі Чапека. Для цього невеликі шматочки ураженої тканини обробляли, вирізали із середини шматок і культивували за температури 22–37°C [2]. При цьому утворюються колонії, що розростаються і мають вигляд гладких або шорсткуватих, з розвитком повітряним міцелієм, який надає їм повстяного вигляду білого кольору, а потім зеленого. Чорний колір властивий зрілим культурам, які перебувають у стадії плодоношення. З іншого боку виростили колонії є безбарвними або жовтуватого-коричневого кольору [3]. Також було використано метод паперових дисків і дифузії в агар за загальноприйнятою методикою.

Результати досліджень та їх обговорення. Аспергіли належать до групи головчастих плісневих грибів. Рід утворює плісневі гриби з переважно безстатевим розмноженням за допомогою формування конідій. Для структури гриба характерна наявність септованих гіфів, від них відходять конідіофори, які переходять у термінальний горбик. На останньому містяться стеригми з численними конідіями.

Аспергіли — типові аероби, колонії різноманітні за розмірами, кольорами та інтенсивністю проростання в живильному середовищі. Колір колонії (сірий, жовтий, яскраво-жовтий, зелений, чорний) зумовлений конідіями і більш виражений у старих

культурах, багатих на спори. Спори *A. fumigatus* гладкі, без кольору, ближче до везикул — світло-зелені. Їхня довжина становить до 300 мкм, діаметр — 5–8 мкм. Довжина спор *A. flavus* — 100 мкм, діаметр — 10–65 мкм, без кольору, структура жорстка, стінки товсті [4].

Гриби роду *A.* чутливі до 2,5%-го розчину формаліну, 2,5%-го розчину саліцилової кислоти, настоянки йоду, діетилового ефіру. Водні розчини йоду в концентрації 0,25% негативно впливають на спори гриба *A. fumigatus* за експозиції 5 хв, у концентрації 0,06% — упродовж 20 хв. Аспергіли дуже чутливі до γ -випромінювання [5].

Для лікування аспергілозу у птиці застосовують такі йодисті препарати та антигрибкові антибіотики: флавофунгін, монклавіт, берен, береніл, ністатин або револін, амфотерицин В, окситетрацикліну гідрохлорид, 5-флороцитозин, мікоплазол, інтраконазол, розчин борної кислоти, Люголь-спрей, глутекс, розчин йоду, однохлористий йод, йодтриетиленгліколь, хлорскипидар.

Для профілактики аспергілозу, використовуючи нормативний документ, дотримуються ветеринарно-санітарних правил для птахівницьких господарств, затверджених наказом Головного державного інспектора ветеринарної медицини України від 03 липня 2001 року № 53, зареєстрованих у Міністерстві юстиції України 05 липня 2001 р. за № 565/5756 [6].

Ветеринарно-санітарну оцінку продуктів забою птиці проводять відповідно до Правил передзабійного ветеринарного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса та м'ясних продуктів, затверджених наказом Державного департаменту ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України від 07 червня 2002 року № 28, зареєстрованих у Міністерстві юстиції України 21 червня 2002 р. за № 524/6812.

Досліджено вплив водних настоянок лікарських рослин на гриби роду *Aspergillus* [7]. У досліджах використовували польові ізоляти грибів *A. fumigatus*. Чутливість грибів до настоянок лікарських рослин визначали методом дифузії в агар за загальноприйнятою методикою. Для цього з фільтрувального паперу виготовляли диски діаметром 6 мм, які просочували рослинними настоянками.

Їхню мінімальну пригнічувальну концентрацію щодо культур грибів визначали за стандартною методикою Е-тест (епсилометричний метод), кількість колонієутворювальних одиниць в 1 мл суспензії — за стандартною методикою в гемоцитометрі [2].

Як поживне середовище використовували агар Сабуро. Концентрація інокулюму для грибів роду *A. fumigatus* — $4 \cdot 10^6$ КУО/см³, *A. flavus* — $3 \cdot 10^6$ КУО/см³, *A. niger* — $1 \cdot 10^6$ КУО/см³. Використовували стандартні диски з антибіотиками — кетоконазол 10 мкг, амфотерицин В 100 ОД, ністатин 100 ОД, клотримазол 10 мкг виробництва «HiMedia Laboratories» (Індія) [8].

Досліджували чорний та грецький горіхи (листя та плоди молочно-воскової та повної стиглості), шипшину (сушені плоди та корені), гвоздику (плоди), календулу (квіти), куркуму, ромашку (квіти). Головними перевагами лікарських рослин є наявність у них речовин, які не спричиняють резистентності мікроорганізмів, алергічних, імунотоксичних і мутагенних ефектів навіть за тривалого застосування. Антигрибкові властивості настоянок використаних рослин зумовлені передусім наявністю біологічно активних речовин, синтезованих рослиною. Фітонциди здійснюють захисну функцію для рослин завдяки значній кількості чинників негативного впливу не тільки на мікроорганізми, а й на багатоклітинних тварин, зокрема комах. Фітонциди рослин різних видів мають різноплановий функціонал відповідно до їхнього хімічного складу. Фітонциди одних рослин мають бактерицидні властивості (вбивають бактерії), інших — бактериостатичні властивості (не вбивають, а затримують ріст і розмноження мікроорганізмів) [9]. Фітонциди можна вважати еволюційним пристосуванням, одним із багатьох чинників природної несприйнятливості рослин до тих чи інших захворювань. Наведемо коротку хімічну характеристику використаних рослин.

Горіх чорний (*Juglans nigra* L.) — дерево родини горіхових з чорною корою, чорнуватим плодом, голою кісточкою. Плоди містять вітаміни (С, вітаміни групи В), мінерали (сполуки кальцію, заліза, йоду, марганцю), жирні кислоти, дубильні речовини. Серед сполук, що виявляють антигельмінтний та антибактеріальний вплив, важливе місце

має юглон (5-гідрокси-1,4-нафтохінон). Він є натуральним антибіотиком завдяки хіноїдній структурі та виявляє активність до *Acetobacter aceti*, *Aspergillus flavus*, *Bacillus anthracoides*, *Candida mycoderma*, *Lactobacterium plantarum*.

Горіх волоський, або горіх грецький (*Juglans regia* L.) — багаторічне дерево з родини горіхових (*Juglandaceae*). Ядра горіха волоського містять жири, білки, вуглеводи (глюкозу, сахарозу, декстрини, крохмаль), дубильні та ароматичні речовини, вітаміни, клітковину.

Листя горіха волоського містять велику кількість вітамінів С, Р та групи В, каротину, ефірної олії, дубильних речовин, аліфатичних та ароматичних органічних кислот (елагової, кавової та галової кислот), є алкалоїди югландин та юглон, які мають бактерицидні та фунгіцидні властивості, виявлено активні флавоноїди. У твердих оболонках плодів горіха волоського у великих кількостях є дубильні речовини, а також галова та елагова кислоти.

Шипшина звичайна, або собача (*Rosa canina* L.) — багаторічна лікарська рослина з родини розових, що зростає у вигляді високого куща з шипиками. Серед біологічно активних речовин у плодах шипшини виявлено вітамін С, флавоноїди (антоціани, похідні кверцетину, кемпферолу, катехіни), каротиноїди, органічні кислоти (пантотенову, нікотинову), ефірні олії та дубильні речовини. Фітонцидний ефект рослини виявляють завдяки комплексу вітамінів А, Е, В, К, Р.

Гвоздика пишна (*Dianthus superbus*) — рід багатолітніх рослин сімейств Гвоздичні (*Caryophyllaceae*). Плід гвоздики має вигляд циліндричної коробочки з чотирма зубцями і містить у своєму складі флавоноїди, сапоніни, кумарини, аскорбінову кислоту та незначну кількість алкалоїдів.

Нагідки лікарські, або календула лікарська (*Calendula officinalis*) — однорічна трав'яниста рослина. Містить каротиноїди: каротин, цитраксантин, лікопен, флавохром, віолоксантин, рубіксантин, є багато ефірної олії, смоли, слизу, наявні органічні кислоти — яблучна та саліцилова.

Куркума цедоарія (*Curcuma zedoaria*) — вид рослин родини імбирні (*Zingiberaceae*). До її складу входять: ефірні олії,

барвник куркумін, борнеол, сабінен, цінгіберон, йод, вітаміни С, В, В2, В3.

Ромашка лікарська (*Matricaria chamomilla*, *Matricaria recutita*, або *Chamomilla recutita*) — лікарська рослина з родини айстрових. Лікувальні властивості має завдяки наявності в квітках ромашки значних кількостей ефірної олії (хамазуліну, рохамазуліну), сесквітерпенів (фармазену, кадиніну, бізабололу, бізабололоксиду); е аліфатичні та гетероциклічні карбонові кислоти (ізовалер'янова та каприлова кислоти), полісахариди, вітаміни С та Р [10].

Отже, в умовах експерименту характер росту грибів порівняно з контролем неоднорідний, колонії плоскі, в *A. fumigatus* повністю безбарвні, *A. niger* та *A. flavus* спостерігали знебарвлення колоній у секторах взаємодії з водними настоянками лікарських речовин (рис. 1, а, б, в).

Конідіальні головки *A. fumigatus* не утворювалися навіть у зоні росту на жодній із

культур. Визначено результати затримки росту досліджуваних культур від впливу настоянок лікарських рослин після культивування 24, 48 і 72 год (таблиця).

Через 24 год культивування виявлено різний вплив настоянок використаних рослин на ріст досліджуваних культур. Найбільше затримки росту при культивуванні 24 год виявилось після впливу настоянок із плодів і листя горіха волоського та горіха чорного (рис. 2). Отримані показники значно переважали контроль, де спостерігали рівномірний ріст по всій поверхні аґару. Колонії пухнасті, білого кольору, з добре розвиненим міцелієм.

Через 48 год культивування грибів у чашках Петрі з дисками, просоченими настоянками досліджуваних речовин, зона затримки росту грибових культур стає ще більшою для проб з горіхом волоським і чорним (рис. 3). В інших пробах ріст культур був найменш вираженим, колонії білого

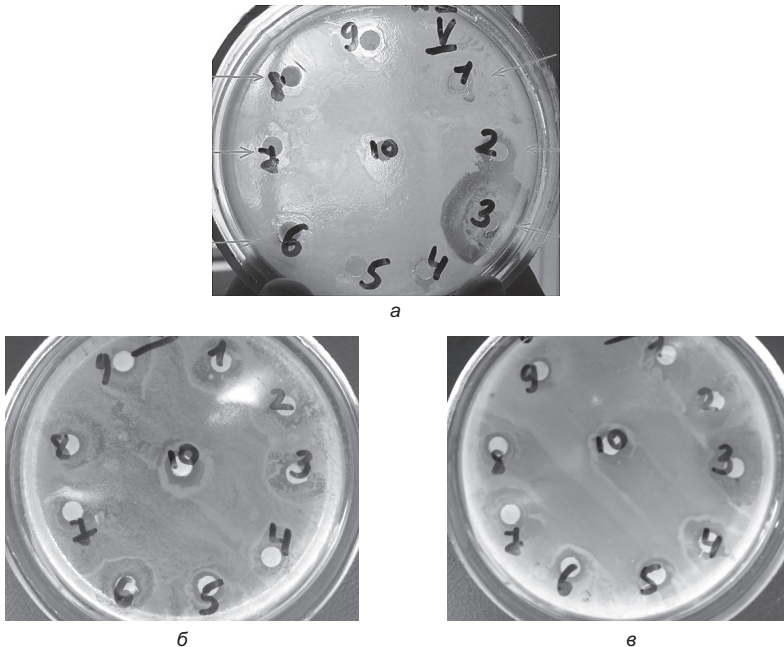


Рис. 1. Результати впливу різних настоянок досліджуваних рослин на гриби роду: а — *A. fumigatus*, б — *A. niger*, в — *A. flavus* (станом на 20.03.2022); настоянки: 1 — плодів горіха волоського; 2 — листя горіха волоського; 3 — листя горіха чорного; 4 — плодів горіха чорного; 5 — плодів шипшини; 6 — плодів гвоздики; 7 — куркуми; 8 — квіток ромашки; 9 — квіток календули; 10 — коренів шипшини

Джерело: Результати власних досліджень.

Затримка росту досліджуваних культур від впливу настоянок лікарських рослин після культивування 24, 48 і 72 год

№	Досліджувана рослина (настоянка)	<i>A. fumigatus</i> , 4·10 ⁸ КУО/мл			<i>A. flavus</i> , 3·10 ⁸ КУО/мл			<i>A. niger</i> , 1·10 ⁸ КУО/мл		
		24 год	48 год	72 год	24 год	48 год	72 год	24 год	48 год	72 год
1	Плоди горіха волоського	10±1,0	22±0,6	37±0,2	6±1,2	18±0,6	21±0,7	3±2	12±0,5	15±0,8
2	Листя горіха волоського	8±2,1	29±0,9	34±1,7	5±1,0	16±2,1	26 ±1,7	4±2	10±0,5	13±0,8
3	Листя горіха чорного	15±1,1	29±0,5	44±0,6	13±0,4	19±0,4	28±1,0	14±0,5	20±0,7	38±0,6
4	Плоди горіха чорного	12±1,4	15±0,7	26±0,1	11±1,2	15±0,7	22±0,3	10±0,6	25±0,5	33±0,6
5	Плоди шипшини	3±0,3	11±0,2	18±0,7	4±0,6	9±0,2	13±1,0	5±0,2	16±0,3	26±0,8
6	Плоди гвоздики	2±0,2	4±0,1	5±0,3	2±0,6	4±0,2	5±0,4	3±0,3	4±0,2	4±0,1
7	Куркума	2±0,1	4±0,2	6±0,2	1±0,2	3±0,3	5±0,4	3 ±0,2	7±0,5	7±0,2
8	Квітки ромашки	4±0,1	9±0,3	14±0,7	5±0,5	7±0,1	8±0,9	4 ±0,5	9±0,6	13±0,6
9	Корені шипшини	2±0,1	3±0,1	4±0,3	3±0,2	4±0,2	6±0,3	3 ±0,3	5±0,4	7±0,3
10	Квітки календули	3±0,2	5±0,2	7±0,3	2±0,1	4±0,2	5±0,2	3±0,1	6±0,3	7±0,1
11	Контроль (розчин антибіотика)	6±0,2	7±0,4	8±0,2	5±0,1	8±0,2	9±0,3	4±0,1	8±0,2	10±0,2

Джерело: Результати власних досліджень.

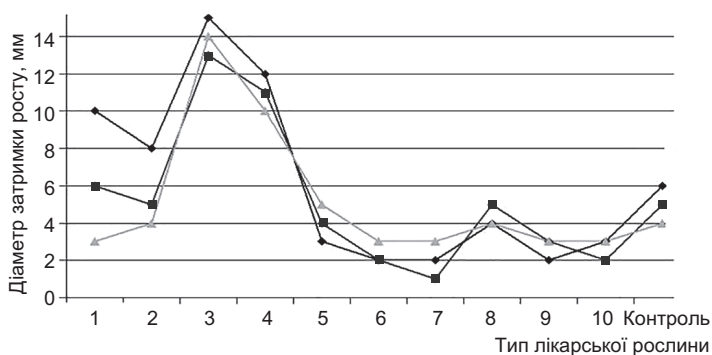


Рис. 2. Схематичне зображення затримки росту досліджуваних культур від впливу настоянок лікарських рослин після культивування 24 год: —◆— *A. fumigatus*; —■— *A. flavus*; —▲— *A. niger*; 1 — плоди горіха волоського; 2 — листя горіха волоського; 3 — листя горіха чорного; 4 — плоди горіха чорного; 5 — плоди шипшини; 6 — плоди гвоздики; 7 — куркума; 8 — квітки ромашки; 9 — корені шипшини; 10 — квітки календули (до рис. 2 і 3)

Джерело: Результати власних досліджень.

кольору, пухнасті, в нижній частині чашки Петрі міцелій димчастого кольору. У контро-

льній чашці Петрі міцелій високий, сірого кольору.

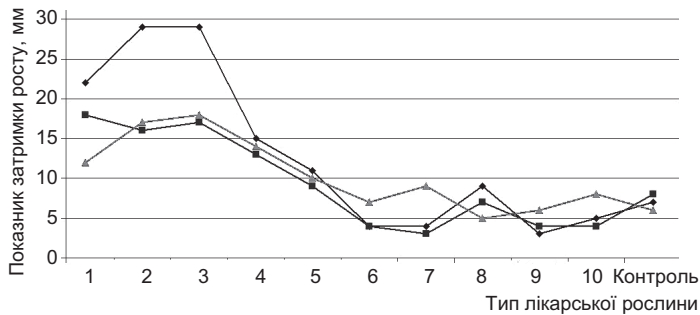


Рис. 3. Схематичне зображення затримки росту досліджуваних культур від впливу настоянок лікарських рослин після культивування 48 год

Джерело: Результати власних досліджень.

У процесі мікроскопії матеріалу з дослідних чашок Петрі (всі досліджувані рослини, крім горіхів) виявлено зниження

утворення кількості спорангіїв порівняно з контролем, основну масу становив міцелій.

Висновки

Виявлено високу фунгіцидну активність настоянок з плодів і листя горіха волоського та горіха чорного. Для всіх інших лікарських рослин, використаних в експерименті, фунгіцидний вплив до культур грибів був низьким. Завдяки методу паперових дисків установлено, що водні настоянки досліджуваних рослин мають

виражені фунгіцидні властивості щодо дослідних культур грибів (*A. fumigatus*, *A. flavus* та *A. niger*), зокрема найчутливішим виявився грибок *A. fumigatus*.

Настоянки плодів і коренів шипшини мають фунгіцидний і фунгіостатичний вплив на окремі види досліджуваних патогенних грибів.

Karasenko A.¹, Peredera S.²

Poltava State Agrarian University, 1/3 Skovoroda Str., Poltava, 36003, Ukraine; e-mail: ¹annamaly-novskaya@ukr.net, ²13peredera@ukr.net; ORCID: ¹0000-0002-6403-3368, ²0000-0001-6363-878X

Phytoncidal properties of plants against fungi of the *Aspergillus* genus

Goal. To analyze the phytoncidal properties of plants against fungi of the genus *Aspergillus*. **Methods.** *Aspergillus fumigatus* was cultivated on Chapek's agar. For this, small pieces of affected tissue were processed, and a piece was cut out from the middle and cultivated at a temperature of 22–37°C. The method of paper discs was also used in the research process. The peculiarities of the study are given in the determination of the fungicidal activity of medicinal plants: black and Persian walnuts (leaves and fruits of milk-wax and full ripeness), dogrose (dried fruits and roots), cloves (fruits), calendula (flowers), turmeric, chamomile (flowers) on cultures of *Aspergillus* fungi. For each plant used, a botanical

description was given and the chemical composition was indicated. It was noted that the leaves and fruits of black and Persian walnuts contained juglone, which had bactericidal and fungicidal properties. It was that compound in the plant material that had a significant selective effect on the investigated mushroom cultures. **Results.** High fungicidal activity of tinctures from the fruits and leaves of Persian and black walnut was established. The pattern of growth of microbial cultures compared to the control was heterogeneous, the colonies were flat, in *A. fumigatus* they were completely colorless, and in *A. niger* and *A. flavus*, discoloration of the colonies was observed in the sectors of interaction with aqueous tinctures of medicinal substances. For all other medicinal plants used in the experiment, the effect on microbial cultures was low. **Conclusions.** High fungicidal activity of tinctures from the fruits and leaves of Persian and black walnuts was revealed. For all other medicinal plants used in the experiment, a low fungicidal effect on mushroom cultures was recorded. The paper disc method used proved that the aqueous

tinctures of the studied plants showed pronounced fungicidal properties against the experimental cultures of fungi (*A. fumigatus*, *A. flavus* and *A. niger*), in particular, *A. fumigatus* was the most sensitive.

Key words: *microbiological research, black walnut, Persian walnut, growth retardation, resistance, CFU, fungicidal effect, phytoncides.*

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202209-06>

Бібліографія

1. Denardi L.B., Dalla-Lana B.H., Jesus F.P.K. et al. *In vitro* antifungal susceptibility of clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus flavus*. *Braz. J. Infect.* 2018. № 22(1). P. 30–36.

2. Dunne K., Hagen F., Pomeroy N. Intercountry transfer of Triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* on plant bulbs. *Clin Infect.* 2017. № 65. P. 147–149.

3. Melnyk V.P., Panasiuk O.V. Aktyvnist deiakykh zasobiv narodnoi medytsyny ta likarskykh preparativ proty mikobakterii tuberkulozu *in vitro*. *Fitoterapiia*. Chasopys. 2012. № 1. P. 30–33.

4. Arendrup M.C., Guinea J., Cuenca-Estrella M. EUCAST Technical Note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019. № 14(10). P. 982–984.

5. Hollomon D. Does agricultural use of azole fungicides contribute to resistance in the human pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Pest Manage Sci.* 2017. № 73. P. 1987–1993. doi: 10.1002/ps.4607

6. Abdolrasouli A. Surveillance for azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in a centralized diagnostic mycology service. *Frontiers in Microbiology*. United Kingdom, London. 2018. № 9. P. 22–34.

7. Lestrade P.P.A., Buil J.B., van der Beek M.T. et al. Paradoxal trends in azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in a national multicenter surveillance program. The Netherlands. 2013–2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2020. № 26. P. 1447–1455.

8. Tawfik E., Alqurashi M., Aloufi S. et al. Characterization of Mutant *Aspergillus niger* and the Impact on Certain Plants. *Sustainability*. 2022. № 14. P. 19–36. doi: 10.3390/su14031936

9. Brown N.A., Goldman G.H. The contribution of *Aspergillus fumigatus* stress responses to virulence and antifungal resistance. *J. Microbiol.* 2016. № 54. P. 243–253. doi: 10.1007/s12275-016-5510-4

10. Cao D., Wang F., Yu S. et al. Prevalence of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* is highly associated with azole fungicide residues in the fields. *Environ Sci Technol.* 2021. № 55. P. 3041–3049.