

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8724
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 576.8:58

Antimicrobial activity concept of water extract of plants *Galega orientalis* (Lam.)

L.M. Darmohray¹, B.V. Gutyj¹, O.O. Darmohray²

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

²Lviv Secondary School № 2, Lviv, Ukraine

Article info

Received 28.02.2018

Received in revised form

29.03.2018

Accepted 03.04.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-097-561-52-30
E-mail: murolyb@ukr.net

Lviv Secondary School №2,
Volodymyra Velykogo Str., 55A,
Lviv, 79053, Ukraine.
E-mail: lviv_school2@ukr.net

Darmohray, L.M., Gutyj, B.V., & Darmohray, O.O. (2018). Antimicrobial activity concept of water extract of plants *Galega orientalis* (Lam.). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(87), 122–125. doi: 10.15421/nvlvet8724

It was first conducted testing on antimicrobial activity of *Galega orientalis* (La) on the growth pure cultural of bacteria gram positive (*Micrococcus luteus*), gram negative (*Escherichia coli* XL1, DH5) and yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* W303). The material for the study was dried vegetative mass *Galega orientalis* (Lam) in the phase of budding and early flowering. In experiment used medium «Endo» for gram negative, medium LB for gram positive and gram negative, and suslo agar for yeasts. As a result of the experiment was revealed that 20% concentration of aqueous extract of this plant had inhibitory effects on the growth of pure cultures of bacteria and yeast. Antimicrobial effect of this drug on the growth of gram-negative bacteria (*Escherichia coli* XL1, DH5) were within 20.0–30.0% ($P < 0.001$), gram-positive bacteria (*M. luteus*) – 12.0% ($P < 0.05$) and yeast (*S. cerevisiae* W303) – 30.5% ($P < 0.01$) compared with control. It should be noted that in all cases the addition of the drug *Galega orientalis* (La) did not alter the morphology of colonies (colony size) test strains. The questions of search the new antimicrobial agents, include natural origin, is very actual during last years. Increasing microbiological pure of eating products, feed grinders, veterinarian preparations are one of the urgent task of Scientifics and industrials. It has proved the influence of different concentrations of aqueous extract of this culture on the growth of pure cultures of gram-positive and gram-negative bacteria and yeast. Install antimicrobial influence 20–30% concentrations of preparation on the bacterias growth (*Escherichia coli* XL1, DH5). Bacterial action of preparation on the bacterias (*Micrococcus luteus*) and yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* W303) were lower. It was described the prospects for further investigation of this problem. It has proved possible relationship between the antimicrobial activity of the extract of this plant and bloating of the rumen in ruminants.

Keys word: *Galega orientalis* (Lam), water extract, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Концепція антимікробної активності водного екстракту рослини *Galega orientalis* (Lam)

Л.М. Дармограй¹, Б.В. Гутий¹, О.О. Дармограй²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Львівська середня загальноосвітня школа № 2, м. Львів, Україна

Вперше в умовах *in vitro* проведено тестування можливої антимікробної активності водного екстракту *Galega orientalis* (Lam) на ріст чистих культур бактерій грам-позитивних (*Micrococcus luteus*), грам-негативних (*Escherichia coli* XL1, DH5) та дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae* W303). Матеріалом для дослідження слугувала висушена вегетативна маса *Galega orientalis* (Lam) у фазі бутонізації і початку цвітіння. В експериментах використовували середовище «Ендо» для росту грам-негативних бактерій і середовище LB на якому виростають як грам-позитивні, так і грам-негативні бактерії, а також сусло-агар для дріжджів. У результаті експерименту встановлено, що 20% концентрація водного екстракту даної рослини має інгібуючий вплив на ріст чистих культур бактерій та дріжджів. Антимікробний ефект даного препарату на ріст грам-негативних бактерій (*Escherichia coli* XL1, DH5) був у межах 20,0–30,0% ($P < 0,001$), грам-позитивних бактерій (*M. luteus*) – 12,0% ($P < 0,05$) та дріжджів (*S. cerevisiae* W303) – 30,5% ($P < 0,01$) порівняно з контролем. Слід відзначити, що у всіх випадках додавання препарату

Galega orientalis (Lam) не змінював морфологію колоній (розмір колоній) тестових штампів. Питання пошуків нових антимікробних агентів, у тому числі природного походження, стає в останні роки все більш актуальним, оскільки підвищення мікробіологічної чистоти продуктів харчування, кормових добавок та ветеринарних препаратів на сьогоднішній день є одним із першочергових завдань науковців і виробників про, що вказують публікації вітчизняних та зарубіжних вчених. Внаслідок проведених експериментальних досліджень з'ясовано вплив різних концентрацій водного екстракту даної культури на ріст чистих культур грам-позитивних і грам-негативних бактерій і дріжджів. Встановлено інгібуючий вплив препарату в межах 20–30% на ріст бактерій штаму *Escherichia coli* XL1, DH5. Антимікробна дія дослідженого препарату на бактерії штаму *Micrococcus luteus* та дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* W303 була нижчою. Обґрунтовано можливий взаємозв'язок між антимікробною активністю екстракту цієї рослини та виникнення тимпанії у жуйних. Окреслено перспективи подальших досліджень даної проблеми.

Ключові слова: *Galega orientalis* (La), водний екстракт, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Вступ

У науковому світі триває пошук нових і більш стабільно-сильних компонентів антимікробної дії природного походження на протипагу існуючим синтетичним антибіотикам та підвищення мікробіологічної чистоти продуктів харчування, кормових добавок. Згідно публікацій вітчизняних і зарубіжних авторів є значна зацікавленість щодо вивчення антимікробної активності нетрадиційних, але перспективних агрокультур, однією з яких є *Galega orientalis* (Lam), яка належить до багаторічних бобових рослин (Khan et al., 2001; Cwalina-Ambroziak and Koc, 2005; Sibanda and Okoh, 2008; Darmohray, 2009; Egamberdieva et al., 2010; Symanowicz et al., 2015; Darmohray et al., 2017).

Використання природних речовин, які мають антимікробну дію, є досить важливим з огляду на декілька моментів: у мікроорганізмів немає резистентності до них і можливе тривале застосування; не викликають шкідливої (негативної) дії на організм людини і тварини; завдяки своїй гальмівній дії на небажану мікрофлору можуть бути застосовані у харчовій промисловості, оскільки при виробництві харчових продуктів не дозволяється використовувати синтетичні антибіотики (за винятком пептидного антибіотику нізину) (Hrinkevich, 1983; Darmohray, 2010; Egamberdieva et al., 2010; Sen and Batra, 2012; Darmohray and Vlizlo, 2015; Darmohray and Gonchar, 2015; Darmohray, 2016).

Метою дослідження було тестування можливої антимікробної дії водних екстрактів *Galega orientalis* (Lam) на моделі чистих культур бактерій грам-позитивних (*Micrococcus luteus*), грам-негативних (*Escherichia coli* XL1, DH5) та дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae* W303).

Матеріал та методи досліджень

Матеріалом для дослідження слугувала висушена вегетативна маса даної рослини у фазі бутонізації і початку цвітіння. В експериментах використовували середовище «Ендо» для росту грам-негативних бактерій і середовище LB, на якому виростають як грам-позитивні, так і грам-негативні бактерії, а також суло-агар для дріжджів.

Готували 10% і 20% витяжку препарату (висушеної трави) при кип'ятінні і настоюванні упродовж 10–15 год. Екстракти стерилізували холодною фільтрацією. Після цього на поверхню чашки із агаризованим середовищем наносили по 0,1 мл досліджуваного екстракту і засівали її газоном відповідною культу-

рою. Всі експерименти проводили на 10 контрольних і 10 дослідних чашках. Аналізували появу колоній на 2–3 добу після засіву при +30 °C (дріжджі) і першу добу при +35–37 °C (бактерії), порівнюючи дослідні варіанти з контролем (без введення екстракту).

Отримані в експериментах цифрові дані оброблені біометрично із використанням комп'ютерних програм в середовищі MS Office 2003 програма «Statistica». Результати середніх значень вважали статистично вірогідними * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

Результати та їх обговорення

За період експерименту було помічено, що препарат досліджуваної культури у концентрації 10% (у перерахунку на вихідну масу висушеної рослини) практично не впливав на ріст грам-позитивних і грам-негативних бактерій, а також дріжджів. Внаслідок збільшення концентрації водного екстракту до 20% встановлено, що на чашках Петрі контрольної групи виростало 540 ± 15 колоній бактерій *E. coli* штаму XL1, а у дослідній із додаванням 20%-го препарату *Galega orientalis* (La) налічувалось на 110 колоній менше. Отже, спостерігалось пригнічення росту даних бактерій на 20,0% ($P < 0,001$) порівняно з контрольними чашками. Міжгрупова різниця за даним показником статистично вірогідна. Результати тестування антимікробної активності досліджуваного препарату наведено на рисунках 1, 2, 3, 4.

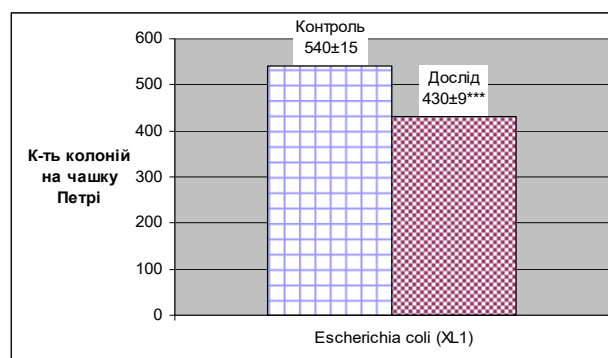


Рис. 1. Вплив 20% екстракту *Galega orientalis* (Lam) на ріст чистої культури грам-негативних бактерій *E. coli* XL1

При вивченні антимікробної дії 20,0% водного екстракту *Galega orientalis* (La) на ріст грам-негативних бактерій *E. coli* штаму DH 5 виявилось, що у дослідних чашках було на 117 колоній менше, ніж у контролі. У відсотковому значенні це означає на 30,0% ($P < 0,001$) гальмування росту бактерій.

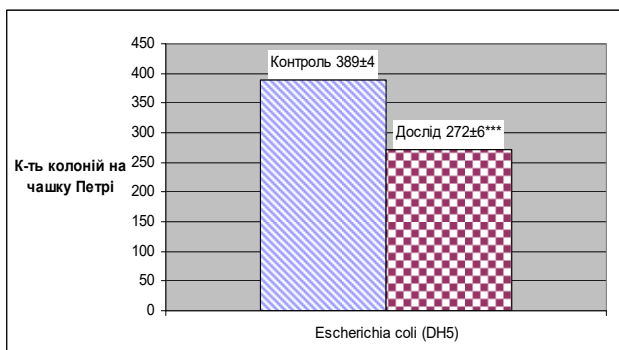


Рис. 2. Вплив 20% екстракту *Galega orientalis* (Lam) на ріст чистої культури грам-негативних бактерій *E.coli* DH 5

Проведені мікробіологічні дослідження вказують, що дещо меншою була антибактерійна дія досліджуваного препарату на грам-позитивні бактерії *M. luteus*. Встановлено, що 20% водний екстракт *Galega orientalis* (La) пригнічує ріст даних мікроорганізмів на 12,0% ($P < 0,05$) порівняно з контролем.

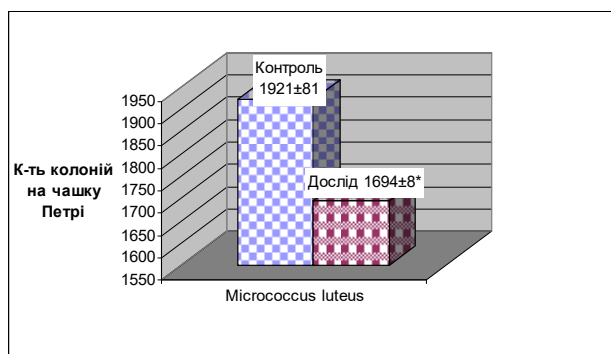


Рис. 3. Вплив 20% екстракту *Galega orientalis* (Lam) на ріст чистої культури грам-позитивних бактерій *M. luteus*

Виявлено негативний вплив водного екстракту *Galega orientalis* (La) на ріст еукаріотичних мікроорганізмів – дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* штаму W303. Виявлено, що у дослідних чашках кількість колоній була на 30,5% ($P < 0,01$) менша порівняно з контролем.

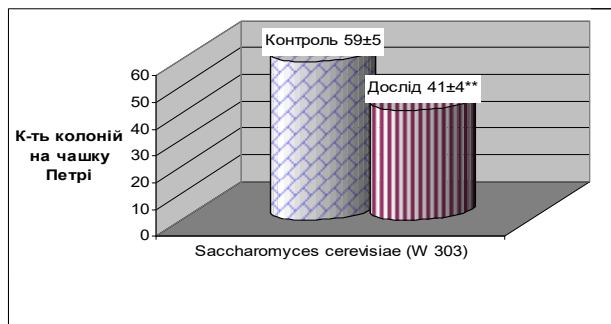


Рис. 4. Гальмівна дія 20% екстракту *Galega orientalis* (Lam) на ріст чистої культури дріжджів *S. cerevisiae* W 303

Принадно відзначити, що у всіх випадках експериментальних досліджень додавання препарату *Galega orientalis* (La) не змінювало морфології колоній тестованих штамів.

Висновки

Отже, отримані результати досліджень дозволяють відзначити незначну антимікробну дію 20,0% водного екстракту *Galega orientalis* (La) на ріст чистих культур грам-негативних та грам-позитивних бактерій і дріжджів. Даний факт може бути використаний у харчовій промисловості, як антимікробний агент природного походження, для збереження і забезпечення мікробіологічної чистоти продуктів. Також, встановлене дає можливість припустити, що відсутність тимпанії у тварин, яким згодовували цю рослину, може бути пов'язана із гальмуванням розвитку мікроорганізмів.

Для перевірки цієї гіпотези потрібно проводити подальші комплексні дослідження. Доцільно також розширити коло тестованих культур, способи екстракції та діапазон концентрацій досліджуваного водного препарату щодо з'ясування даної проблеми.

References

- Cwalina-Ambroziak, B., & Koc, J. (2005). Grzyby zasiedlające nadziemne organy roślin rutwicy wschodniej (*Galega orientalis* Lam.) uprawianej w siewie czystym i w mieszance ze stokłosą bezostną (*Bromus inermis* Leyss.) [Fungi colonising the above-ground parts of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.) cultivated in pure sowing and mixed with smooth brome-grass (*Bromus inermis* Leyss.)]. *Acta Agrobotanica*. 58(1), 125–133. doi: 10.5586/aa.2005.018.
- Darmohray L.M. (2009). *Metodychni rekomendaciyi shchodo vykorystannya kormiv iz (Galega orientalis (Lam) riznymy vydamy tvaryn* [Methodical recommendations of using fodder of (*Galega orientalis*(Lam) for different kinds of animals]. Lviv (in Ukrainian).
- Darmohray, L.M. (2009). *Fitohimichne vyvchennya vmistu biolohichno aktyvnyh rechovyh ta testuvannya antymicrobnoi actyvnosti halehy shidnoi (Galega orientalis (Lam). Nauk. Visnyk Lvivskoho nacionalnoho universytetu veterynarnoi medycyny ta biotechnolohiy im. S.Z. Hshyzkoho*. 11, 3(42), 239–242 (in Ukrainian).
- Darmohray, L.M. (2010). *Experimental justification for the use of nutrients and biologically active substances from food (Galega orientalis (La) different kinds of animals. – Manuscript. Doctor of Agricultural Sciences, specialty 06.02.02 – animal nutrition and feed technology. – Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhyskyj, Lviv, 42 Lviv (in Ukrainian).*
- Darmohray, L.M. (2016). *Analizy i metody otsinky pozhyvnosti kormiv. Navchalnyi posibnyk*. Lviv (in Ukrainian).
- Darmohray, L., Sedilo, G., & Gutyj, B. (2017). *Conceptual framework for the assessment of the nutritional and biological value of the plant Galega*

- orientalis (LAM). *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(79), 9–12. doi: 10.15421/nvlvet7902.
- Darmohray, L.M., & Gonchar, M.V. (2015). Bioactivity of Pure Cultures of Bacteria and Yeast in the Background Action of the Water Extract of a Plant *Galega orientalis* (Lam). *Research & Reviews: Journal of Veterinary Sciences*. 1(1), 82–85.
- Darmohray, L.M., & Vlizlo, V.V. (2015). Doslidzennya antymicrobnyh vlastyvostry vodnoho ekstraktu roslyny *Galega orientalis* (Lam). *Naukovyy visnyk NUBiT*. Kyiv. 214, 51–58 (in Ukrainian).
- Egamberdieva, D., Berg, G., Lindström, K., & Räsänen, L.A. (2010). Co-inoculation of *Pseudomonas* spp. with *Rhizobium* improves growth and symbiotic performance of foddergalega (*Galega orientalis* Lam.). *European Journal of Soil Biology*. 46(3–4), 269–272. doi: 10.1016/j.ejsobi.2010.01.005.
- Hrinkevich, N.I. (1983). *Himicheskiy analiz lekarstvennyh rasteniy* [Chemical analysis of medicinal plants]. M.: Vysshaya shkola (in Russian).
- Khan, M.R., Kihara, M., & Omoloso, A.D. (2001). Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*. 72(5), 561–564. doi: 10.1016/S0367-326X(00)00335-X.
- Sen, A., & Batra, A. (2012). Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia azedarach* L. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4(2), 67–73. Access mode: <http://www.ijcpr.org/Issues/Vol4Issue2/488.pdf>.
- Sibanda, T., & Okoh, A.I. (2008). In vitro antibacterial regimes of crude aqueous and acetone extracts of *Garcinia kola* seeds. *Journal of Biological Sciences*. 8(1), 149–154. doi: 10.3923/jbs.2008.149.154.
- Symanowicz, B., Kalembasa, S., Jaremko, D., & Niedbała, M. (2015). Effect of nitrogen fertilisation of *Galega orientalis* Lam. on the yield and content K, Na, Ca and Mg in the plant and soil. *Environmental Protection and Natural Resources*. 26(2), 15–20. doi: 10.1515/oszn-2015-0004.