

УДК 633.81:632.952

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГРИБНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ЧАЙНОГО ДЕРЕВА (*MELALEUCA ALTERNIFOLIA*), ШАЛФЕЯ (*SALVIA OFFICINALIS*) И ЭВКАЛИПТА (*EUCALYPTUS GLOBULUS*) НА ГРИБ *ALTERNARIA SSP.*, ИЗОЛИРОВАННОГО ИЗ СТЕВИИ (*STEVIA REBA UDIANA*)

М. ГЕОРГИЕВА-АНДРЕЕВА, С. ЕНЧЕВ

(Институт земледелия, Болгария)

Испытывалось антигрибное действие трех эфирных масел (чайного дерева, шалфея и эвкалипта) на *Alternaria ssp.*, изолированного из стевии (*Stevia rebaudiana*) в различных концентрациях (0,2%, 0,15, 0,1, 0,05, 0,025%) в условиях *in vitro*. Исследуемые эфирные масла ограничивали рост мицелия гриба *Alternaria ssp.* Масло чайного дерева обладало наиболее сильным действием на рост гриба (33-62%), чуть меньшим было воздействие масла шалфея (29-46%). Масло эвкалипта проявляло умеренное действие по ингибированию роста мицелия гриба (19-36%). Противогрибной эффект эфирных масел нарастал с увеличением их концентрации.

Ключевые слова: эфирные масла, *Alternaria ssp.*, антигрибное действие, чайное дерево, шалфей, эвкалипт, стевия.

Stevia rebaudiana Bertoni — многолетнее субтропическое растение из сем. Asteraceae, произрастает в Парагвае. Его выращивают из-за листьев, в которых содержатся сладкие вещества — главным образом стевииозиды, которые не влияют на метаболизм кровяного сахара и не содержат энергетических калорий [4, 10]. Они являются природными безвредными подслащивающими веществами, способными заменить сахар. Именно из-за этих качеств растение представляет собой объект исследования во многих странах мира, включая и Болгарию. Так как стевия принадлежит к семейству Asteraceae, в отличие от других субтропических растений, ее можно выращивать в широком диапазоне почвенно-климатических зон, и интродуцировать в различные страны.

При выращивании на почвах с высоким содержанием органических веществ, какими являются почвы в Северо-Восточной Болгарии, чувствительность растения к грибным патогенам возрастает [5].

Одним из наиболее часто встречаемых грибных заболеваний, о котором общаются многие авторы, является коричневая пятнистость листьев стевии [6, 7, 9]. Коричневые некрозы на листьях стевии, вызываемые грибами рода *Alternaria*,

ухудшают качество и уменьшают торговую стоимость листьев растения [3, 8, 11]. Патоген предпочитает более старые листья, в которых накоплено больше питательных веществ, соответственно и больше стевиозидов. Применение химических средств против этого заболевания привело бы к накоплению фунгицидных остатков в листьях, это вызывает необходимость поиска альтернативных биологических средств контроля. Такой альтернативой являются эфирные масла, продуцируемые некоторыми лекарственными растениями. По мнению Ahmet et al. (2005) образование эфирных масел растениями представляет собой защитный механизм против патогенов и вредителей. Поэтому они обладают антигрибным и антибактериальным действием, и их можно применять в качестве естественных фунгицидов.

Целью настоящего исследования является оценка противогрибного действия трех эфирных масел — чайного дерева, шалфея и эвкалипта на рост мицелия гриба *Alternaria* ssp., а также оценка их потенциала как биологических средств, предназначенных для борьбы с исследуемым патогеном.

Материалы и методы исследования

Исследование осуществлено в 2011 г. в лаборатории защиты растений Земледельческого института в городе Шумен, Болгария, где для этой цели из заболевших листьев растения *Stevia rebandiana* был изолирован в чистую культуру гриба *Alternaria* ssp.

Для биологического испытания действия эфирных масел чайного дерева, шалфея и эвкалипта против роста мицелия гриба были заложены агаровые блоки диаметром 8 мм из активно растущей четырехдневной культуры гриба на среду Чапека, содержащую эфирные масла в следующих концентрациях — 0,2%; 0,15; 0,1; 0,05 и 0,025%. В контрольном варианте агаровые блоки были посажены в чистую среду Чапека. Каждый вариант был заложен в 5-и повторностях. Чашки поместили в термостат на 7 дней при температуре 25 °С. На 8-й день учитывали диаметр колоний. Процент ингибирования мицелия был подсчитан по формуле Deans and Svoboda (1990):

$$IE (\%) = [(C - T)/C] \times 100,$$

где IE — процент ингибирования; С — исследуемый показатель в контрольном варианте; Т — исследуемый показатель в вариантах с различными концентрациями; 100 — коэффициент.

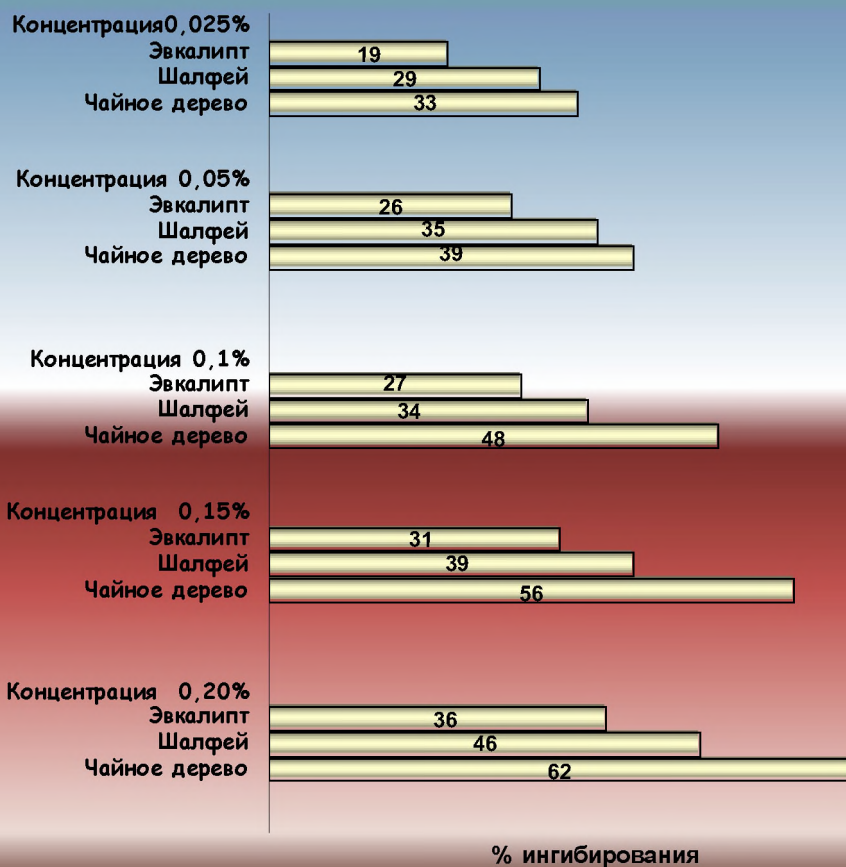
Статистическая обработка данных была осуществлена методом дисперсионного анализа [1].

Результаты и их обсуждение

Из результатов, представленных на рисунке, видно, что все три экстракта лекарственных растений — чайного дерева, шалфея и эвкалипта в пяти исследуемых концентрациях, оказывали подавляющее действие на развитие мицелия гриба *Alternaria* ssp.

Процент ингибирования варьировал от 19% (масло эвкалипта в концентрации 0,025%) до 62% (масло чайного дерева в концентрации 0,2%). С увеличением содержания эфирных масел в питательной среде нарастало и их подавляющее воздействие на гриб *Alternaria* ssp.

Эффективность ингибирования роста мицелия гриба *Alternaria ssp.* эфирными маслами чайного дерева, шалфея и эвкалипта *in vitro*



Влияние концентраций эфирных масел чайного дерева, шалфея и эвкалипта на рост мицелия гриба *Alternaria ssp.*

Наиболее сильное противогрибное действие из всех вариантов опыта было отмечено в пробах, содержащих масло чайного дерева (от 33% при концентрации 0,025%, до 62% при концентрации 0,2%). Ингибирование гриба в высокой степени отмечено и в вариантах с маслом шалфея (от 29% при концентрации 0,025%, до 46% при концентрации 0,2%).

Радиальный рост мицелия гриба в вариантах с эфирным маслом эвкалипта изменялся менее значительно (от 19% при концентрации 0,025%, до 36% при концентрации 0,2%) по сравнению с контролем, что свидетельствует о более слабом действии данного масла против исследованного патогена.

В таблице отражены результаты статистической обработки полученных данных. Итоги применения трех эфирных масел в различных концентрациях были оценены путем сравнения радиального роста мицелия гриба *Alternaria ssp.* различных вариантов с контрольным.

Данные испытаний показывают, что различия между полученными величинами в вариантах с маслами лекарственных растений в пяти испытываемых концентраци-

Средний диаметр колоний гриба *Alternaria ssp.* на питательных средах, содержащих эфирные масла в различных концентрациях, по сравнению с контролем

Варианты	Средний диаметр, мм	t-критерий	Достоверность
<i>Концентрация 0,20%</i>			
Чайное дерево	1,98-0,41	7,97	***
Шалфей	2,84-0,41	5,86	***
Эвкалипт	3,38-0,43	4,32	**
<i>Концентрация 0,15%</i>			
Чайное дерево	2,3-0,42	7,1	***
Шалфей	3,22-0,47	4,32	**
Эвкалипт	3,64-0,39	4,13	**
<i>Концентрация 0,1%</i>			
Чайное дерево	2,74-0,41	6,1	***
Шалфей	3,48-0,40	4,43	**
Эвкалипт	3,86-0,45	3,12	*
<i>Концентрация 0,05%</i>			
Чайное дерево	3,22-0,45	4,56	**
Шалфей	3,4-0,43	4,31	**
Эвкалипт	3,9-0,46	2,98	**
<i>Концентрация 0,025%</i>			
Чайное дерево	3,52-0,40	4,33	**
Шалфей	3,74-0,46	3,28	*
Эвкалипт	4,24-0,49	2,1	
Контроль	5,26		

Примечание. Звездочками отмечено наличие существенных различий по t-критерию при разных уровнях достоверности — * P 5% > 2,306; ** P 1% > 3,355; *** P 0,1% > 5,041.

ях и в контрольной пробе являются статистически достоверными (за исключением варианта с эвкалиптом в концентрации 0,025%).

Результаты подтверждают очень высокую достоверность разницы по отношению к противогрибному действию чайного дерева в концентрациях 0,2%, 0,15 и 0,1%, и шалфея в концентрации 0,1%, по сравнению с контрольным вариантом.

Масло чайного дерева имеет хорошее ингибирующее действие против гриба *Alternaria* ssp. и в более низкой концентрации в питательной среде — 0,05 и 0,025%. Противогрибные свойства подтверждены в вариантах с шалфеем в концентрациях 0,15%, 0,1, 0,05% и с эвкалиптом в концентрациях 0,2%, 0,15, 0,05%. Эфирное масло эвкалипта является достоверно эффективным против патогена в концентрации в среде 0,01%, а эфирное масло шалфея — в концентрации 0,025%.

Масло чайного дерева при использовании в концентрации 0,2% имеет самое высокое ингибирующее действие против роста мицелия гриба *Alternaria* ssp., по сравнению с маслами шалфея и эвкалипта, применяемыми в той же концентрации, а также является достоверно более эффективным, чем масло эвкалипта в концентрации 0,15%.

Выводы

Масла трех лекарственных растений — чайного дерева, шалфея и эвкалипта, проявляют ингибирующее действие на мицелий грибов рода *Alternaria* во всех пяти испытываемых концентрациях.

Противогрибное действие эфирных масел нарастает с увеличением их концентрации.

Процент ингибирования роста мицелия варьирует от 19% (от масла эвкалипта в концентрации 0,025%) до 62% (от масла чайного дерева в концентрации 0,2%).

Наиболее сильное ингибирующее действие отмечено в вариантах, содержащих масло чайного дерева (от 33 до 62%). Высокую степень воздействия на мицелий показало и масло шалфея (от 29 до 46%), а действие эвкалипта — более умеренное (19-36%).

Библиографический список

1. *Запранов З., Димова Д.* Ръководство за упражнения по опитно дело и биометрия. Земиздат-София. 1995.
2. *Ahmet, C., Saban K., Hamdullah K., Ezccm K.* Antifungal properties of essential oil and rude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2005. 33: 245-256. DOI: 10.1016/j.bse.2004.08.006.
3. *Child L.C.* Stevia Business Planrebaudiana Bertoni. Thesis. University Nacional de Colombia. Bogota. 2003. 81 p.
4. *Gregersen S., Per B. Jeppesen, Jens J. Holst, Kjeld Herman sen II* Metabolism. 2004. V. 53. № 1. 2004. P. 73-76.
5. Herbotecnia. Hee-Yerba Caa sweet.<http://www.herbotecnia.com.ar/aut-stevia.html>. 2004. (Consulted 07/02/2008).
6. *Hilal, Arafat A. and Mohanted A. Baiuomv. II* Egypt. J. Agric. Res. 2000. 78(4). P. 1435-1448.
7. *Ishiba C., Yokoyama T., Tani T.* Black spot disease of stevia caused by *Alternaria*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 1982. 48(1). P. 44-51.
8. *Martinez, P. T.* The Sweet Grass, History, Uses and Cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni Health Sciences. Madrid. 2000. 125 p.

9. *Maiti, C. K., S. Sen, R. Acharva and K. Acharya* First report of *Altemaria altemata* causing leaf spot on *Stevia rebaudiana* Plant Pathology. 2007. 56, 723.

10. *Wingardir R.E., Brown J.R., Enderlin F.E., Dale, JA., Seitz C.T.* //Experientia. 1980. 36. P. 519-520.

11. *Zanon J.C.* Yerba Dulce, report agronomic about growing *Stevia rebaudiana*. Secretary of Agriculture Antioquia. Medellin. 2000. 24 p.

RESEARCH ON ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM
TEA TREE (*MELALEUCA ALTERNIFOLIA*), SAGE (*SALVIA OFFICINALIS*)
AND EUCALYPTUS (*EUCALYPTUS GLOBULUS*) AGAINST *ALTERNARIA*
SSP. ISOLATED FROM STEVIA (*STEVIA REBA UDIANA*)

M. GEORGIEVA-ANDREEVA, S. ENCHEV

(Agricultural Institute, Bulgaria)

The antifungal activity of three essential oils (tea tree, sage and eucalyptus) against Alternaria ssp., isolated from Stevia rebaudiana were tested at different concentrations (0,2%, 0,15%, 0,1%, 0,05%, 0.025%) in vitro. The essential oils investigated reduced the mycelia growth of Alternaria ssp. The tea tree oil was most effective in inhibiting the mycelia growth of Alternaria ssp. (33% — 62%), followed by sage oil (29%-46%). The eucalyptus oil exhibited moderate activity and mycelia growth inhibition of fungus varied from 19% to 36%. Antifungal activity of the essential oils increased with rising concentration.

Key words: essential oils, Alternaria ssp., antifungal activity, tea tree, sage, eucalyptus, stevia.

Георгиева-Андреева Мариела — институт земледелия, бул. Симеон велики 3, Шумен, 9700 (Болгария). E-mail: staniinir_en@abv.bg.