

УДК 619:614.875:[582.281.21+582.282.123.4]
**ВИЗНАЧЕННЯ ДІЇ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ НА ЗБУДНИКІВ
МУКОРМІКОЗУ ТА АСПЕРГІЛЬОЗУ**

Зон Г.А., канд.вет.наук, професор
Сумський національний аграрний університет
Кінаш О.В., аспірант,
Полтавська державна аграрна академія

Анотація. Ультрафіолетове випромінювання залишається одним із найбезпечніших та найдоступніших засобів боротьби із патогенними мікроорганізмами. Воно є перспективним засобом боротьби із бактеріальними, грибковим та вірусними контамінантами повітря закритих приміщень. Досліджено чутливість патогенних мікроміцетів *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* до дії ультрафіолетового опромінення. Встановлено, що різні види грибів мають різну чутливість до ультрафіолетового опромінення, причому дія його виявляється не лише у кількості колоніє утворюючих одиниць (спор), що вижили, але й у подальшому розвитку культури. Виявлено виражену фунгіостатичну дію ультрафіолетового опромінення на гриби роду *Aspergillus*.

Ключові слова: УЛЬТРАФІОЛЕТОВЕ ОПРОМІНЕННЯ, МІКРОМІЦЕТИ, ФУНГІЦИДНА ДОЗА, ФУНГІЦИДНА ЕФЕКТИВНІСТЬ, *MUCOR RAMOSISSIMUS*, *ASPERGILLUS NIGER*, *ASPERGILLUS FLAVUS*, *ASPERGILLUS FUMIGATUS*, СПОРИ.

Відомо, що основний шлях зараження спорами патогенних грибів - аерогенний, оскільки спори тривалий час можуть перебувати в повітрі в зваженому (аерозольному) стані. Середній розмір спор від 3 до 5 мкм, що свідчить про здатність потрапляти з повітрям в альвеоли легень [1]. Саме тому вкрай важливим для ветеринарії та медицини залишається питання дезінфекції повітря. Більшість відомих засобів для боротьби з патогенними грибами є досить токсичними [2]. Вони негативно впливають на всі форми живих організмів, а також потрапляють в навколишнє середовище [3]. Одним із найбезпечніших засобів боротьби із патогенними мікроорганізмами залишається ультрафіолетове випромінювання. Цей спосіб має ряд переваг: простота використання, можливість використовувати на будь-яких матеріалах, швидка дія тощо. Існують дані, що різні види патогенних мікроміцетів мають неоднакову чутливість до ультрафіолетового опромінення. Так, гриб *A.niger* містить меланін – пігмент, який здатний виконувати захисну функцію при опроміненні [4]. Особливості дії ультрафіолетового опромінення на плісняві гриби детально описано Кряжевим Д.М. (2014) [5]. Однак, автор у своїй роботі не приділив уваги особливостям розвитку спороносних структур після опромінення, адже саме вони, а не вегетативний міцелій, зумовлюють патогенні властивості грибів.

Метою досліджень було визначення фунгіцидної ефективності ультрафіолетового опромінення за бактерицидної дози $44,56 \text{ Вт/м}^2$ при різній експозиції на гриби *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*

Матеріали та методи. Для визначення впливу ультрафіолетового випромінювання на гриби використовували метод експозиції суспензії спор. В якості тест-культур використовували 5-7 добові чисті культури грибів *Mucor ramosissimus*, *A.niger*, *A.flavus*, *A.fumigatus*, виділені з повітря пташників, уражених кормів (зернофураж) та патологічного матеріалу від загублої птиці. Кількість спор в 1 мл суспензії підраховували в камері Горяєва за стандартною методикою. Суспензію наносили на чашки Петрі з агаром Сабуро в кількості 1мл, рівномірно розподіляли і залишали для дифузії в агар на 10 хв, залишки рідини

видаляли піпеткою. Після цього засіяні чашки Петрі поміщали в бактерицидну камеру і опромінювали відповідно 20, 40 і 60 хвилин та інкубували в термостаті при температурі 26°C. В досліді використано бактерицидну камеру «Panmed» з лампою «Phillips» типу TUV 30 (15)W LL з інтенсивністю бактерицидного потоку 35Вт та довжиною хвилі 253,7 нм, бактерицидна щільність потоку випромінювання – 44,56 Вт/м². Контролем слугували посіви, які помістили в термостат без попереднього опромінення. Дослід проводили паралельно на трьох чашках. Підрахунок колоній проводили через 24 години, за характером росту спостерігали впродовж 5 діб. Проводили візуальну оцінку росту та мікроскопію нативного матеріалу. *Бактерицидну щільність потоку випромінювання (E)* визначали відношенням інтенсивності бактерицидного потоку (F) до площі опроміненої поверхні (S): $E = F/S \text{ Вт/м}^2$; *Бактерицидну дозу опромінення (H)* – множенням величини бактерицидного потоку (E) на час опромінення (t): $H = Et \text{ Дж, Вт/с}$; *Бактерицидну (в даному випадку - фунгіцидну) ефективність (ΔN)* визначали відношенням числа колоній (N_к) на контрольних неопромінених чашках до числа колоній на чашках після опромінення (N_{1..3}): $T = (N_k)/(N_{1..3})\%$ [6;7].

Результати і обговорення. Результати досліджень представлені в таблиці 1.

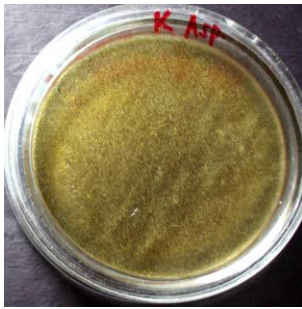
Таблиця 1

Визначення дії ультрафіолетового опромінення на збудників мукормікозу та аспергільозу

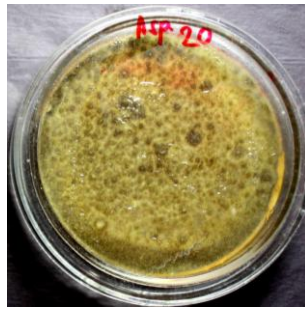
Дослідна культура/концентрація суспензії, КУО/мл	Час опромінення, t, хв	Фунгіцидна доза, Н Вт/с, КДж	Фунгіцидна ефективність, ΔN, %	Кл-ть колоній, N (M±m)	Особливості росту
<i>A.niger</i> 7×10 ⁵	0 (контроль)	-	-	171,6±3,0	Ріст суцільний, рівномірний, міцелій пухнастий, жовто-зеленого кольору, утворення конідіальних голівок чорного кольору (рис.1.а). При мікроскопії – велика кількість крупних конідіальних голівок на 4 добу.
	20	53,5	0	181±6,6	Ріст нерівномірний, міцелій низький, світлий, зеленого кольору, до 15 крупних (8-10 мм) колоній, на яких утворюються темні конідіальні голівки (рис.1.б.)
	40	107	0	174±4,6	Ріст нерівномірний, міцелій низький, світлий, зеленого кольору, до 10 крупних (5-10 мм) колоній, на яких утворюються темні конідіальні голівки (рис.1.в.). Кількість їх менша порівняно з контролем.
	60	160	0	175±6,1	Ріст нерівномірний, місцями відсутній, міцелій низький, від темно-

					оливкового кольору до білого, слабке утворення конідиальних голівок на 4-х середніх колоніях та на краю чашки (рис.1.в.). При мікроскопії переважає міцелій, конідиальні голівки в полі зору мікроскопа – одиничні.
<i>M.ramosissimus</i> 7,5x10 ⁵	0 (контроль)	-	-	81±3,6	Ріст суцільний, міцелій пухнастий, від білого до світло-сірого кольору, починається утворення спорангієносців (рис.2.а.)
	20	53,5	46	43,6±7,0	Міцелій від білого до світло-сірого кольору, менш густий, ніж на контрольній чашці, що пов'язано зі зменшенням кількості колоній (рис.2.б - г). Утворення органів спороношення не порушене, при мікроскопії на 3 добу виявляли велику кількість округлих спорангієносців.
	40	107	70	24,3±6,1	
	60	160	85	12±3,0	
<i>A.flavus</i> 1x10 ⁶	0 (контроль)	-	-	291±14,1	Ріст суцільний по всій чашці Петрі, чисельні дрібні колонії, ріст рівномірний, міцелій низький (рис.3.а). Після 5-ї доби спостерігається утворення конідиальних структур.
	20	53,5	22	226±11,5	Ріст нерівномірний, колонії різного діаметру, в центрі чашки інтенсивніше забарвлені в білий колір, по периферії – безбарвні. До 5 крупних колоній (6-7мм діаметром), решта дрібні (від 3-1 мм). Після 5-ї доби спостерігається утворення конідиальних структур, переважно по краях колоній, в невеликій кількості (рис.3.б). При мікроскопії переважає міцелій.
	40	107	68	94,3±7,0	Ріст відносно рівномірний, в центрі колонії дрібніші та інтенсивніше забарвлені в білий колір, по периферії – безбарвні. До 7 крупних колоній (діаметром 14 мм), більшість колоній – середнього розміру (біля 5мм). Після 5-ї доби спостерігається утворення

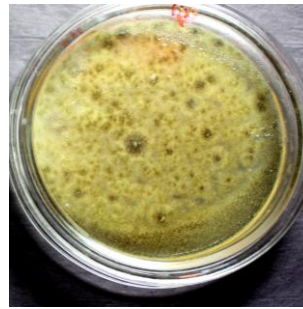
					конідіальних голівок лише по краях колоній (рис.3.в). При мікроскопії виявляється велика кількість міцелію.
	60	160	75	72,3±8,7	Ріст нерівномірний, інтенсивніший по краях чашки, більшість колоній дрібні (до 2мм), до 6 крупних (12-13 мм в діаметрі). На поживному середовищі є місця, де ріст повністю відсутній. Після 5-ї доби спостерігається скудне утворення конідіальних структур (рис.3.г). При мікроскопії – одиничні конідіальні голівки.
<i>A.fumigatus</i> 1x10 ⁶	0 (контроль)	-	-	201±9,5	Ріст рівномірний, міцелій набув жовто-кремового забарвлення вже на 2 добу. Колонії низькі, шороховаті (рис.4.а). Утворення конідіальних голівок на 4-5 добу.
	20	53,5	34	133,6±7,1	Ріст нерівномірний. Колонії білого кольору, нерпрозорі. Біля 20 великих (7 мм в діаметрі) (рис.4.б). При мікроскопії на 5 добу переважає міцелій, утворилася незначна кількість конідіальних структур.
	40	107	58	84±7,0	Ріст нерівномірний. Колонії білого кольору, слизисті, прозорі, плоскі. До 6 крупних колоній (діаметром 6-12 мм), решта – дрібні (рис.4.в). При мікроскопії на 5 добу в мазках переважає міцелій, наявні одиничні конідіальні голівки.
	60	160	59	81±2,0	Ріст нерівномірний. Колонії кремового кольору, прозорі, плоскі, з нечітким контуром. По краю чашки мають зеленувате забарвлення. Лише 3 крупні колонії (до 10 мм в діаметрі) (рис.4.г). При мікроскопії на 5 добу в мазках переважає слабкорозвинутий міцелій, конідіальні голівки одиничні, по периферії крупних колоній.



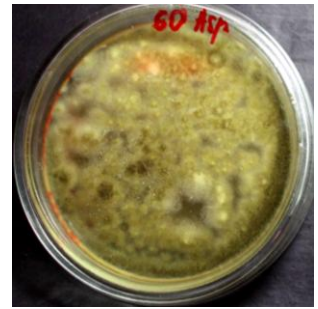
а - контроль



б - експозиція 20 хв



в - експозиція 40 хв



г - експозиція 60 хв

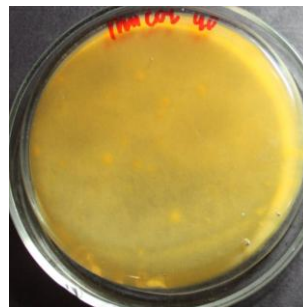
Рис.1. Ріст *A.niger* за різної експозиції ультрафіолетового опромінення



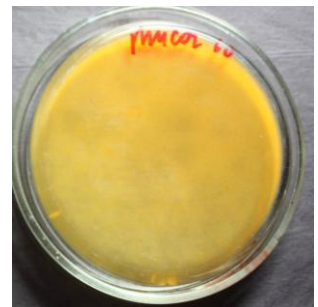
а - контроль



б - експозиція 20 хв

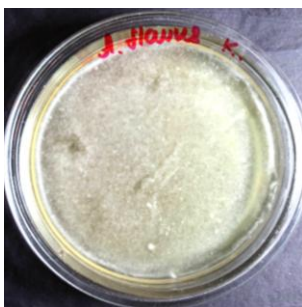


в - експозиція 40 хв

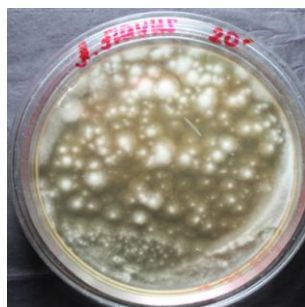


г - експозиція 60 хв

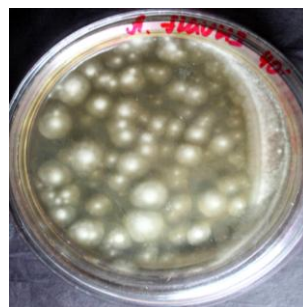
Рис.2. Ріст *M.ramosissimus* (резервум) за різної експозиції ультрафіолетового опромінення



а - контроль



б - експозиція 20 хв

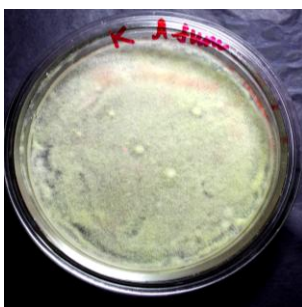


в - експозиція 40 хв



г - експозиція 60 хв

Рис.3. Ріст *A. flavus* за різної експозиції ультрафіолетового опромінення



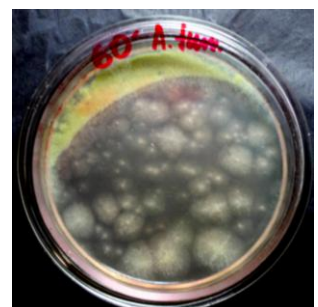
а - контроль



б - експозиція 20 хв



в - експозиція 40 хв



г - експозиція 60 хв

Рис.4. Ріст *A. fumigatus* за різної експозиції ультрафіолетового опромінення

Як видно з результатів проведених досліджень, вплив ультрафіолетового опромінення на різні види грибів можна охарактеризувати кількісно - величиною фунгіцидної ефективності ΔN , та якісно – характером росту органів спороношення (конідіальних голівок, спорангієносців) та вегетативного міцелію. Так, фунгіцидна ефективність для *A.niger* при експозиції протягом 20, 40 та 60 хвилин дорівнює нулю, оскільки кількість колоній після опромінення збільшилася на 5,5, 1,7 та 2% відповідно. Якщо брати до уваги особливості росту, то при експозиції культури *A.niger* протягом 20-60 хвилин виявляли виражений наростаючий фунгіостатичний ефект: знижувалася ступінь пігментованості колоній до повного знебарвлення (рис.1. б-г), порушувався конідієгенез. Такий результат можна пояснити наявністю пігменту меланіну, який у грибів виду *A.niger* виконує протекторну функцію. Однак, ультрафіолетове опромінення чинить фунгіостатичну дію на даний вид. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення щодо *M.ramosissimus* при експозиції протягом 20 хвилин склала 46%, 40 хвилин – 70%, та 60 хвилин – 85%. Це свідчить про виражений фунгіцидний ефект опромінення. Однак, жодних ознак пригнічення росту чи споруутворення після проростання спор, що вижили, не виявлено (рис.2. б-г). Для *A.flavus* фунгіцидна ефективність після експозиції на протязі 20 хвилин склала 22%, 40 хвилин – 68%, 60 хвилин – 75%. Спостерігали виражений фунгіостатичний ефект опромінення на культуру, про що свідчить знебарвлення колоній та порушення конідієутворення починаючи з експозиції протягом 20 хвилин (рис.3. б-г). Для *A.fumigatus* фунгіцидна ефективність протягом 20 хвилин склала 34%, 40 хвилин – 58%, 60 хвилин – 59%. Спостерігали також виражену фунгіостатичну дію опромінення на культуру: знебарвлення колоній, зниження кількості конідіальних голівок починаючи з експозиції протягом 20 хвилин (рис.4. б-г). З результатів досліджень видно, що навіть за експозиції ультрафіолетовим опроміненням протягом 60 хвилин фунгіцидна ефективність для жодної з тест культур не досягла 100%. Це вказує на варіабельність резистентності обраних культур мікроміцетів до впливу ультрафіолетового опромінення навіть всередині одного конкретного виду. Таким чином, камеральні дослідження показали, що режими ультрафіолетового опромінення рекомендовано використовувати в залежності від природи грибкових контамінантів повітря.

ВИСНОВКИ

1. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення відносно *A.niger* при дозі опромінення 44,56 Вт/м² та експозиції 20, 40 та 60 хвилин дорівнювала нулю. Окрім того, спостерігався незначний ріст-стимулюючий ефект на дослідних чашках відносно контролю.

2. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення відносно *M.ramosissimus* при дозі опромінення 44,56 Вт/м² та експозиції 20 хвилин склала 46%, 40 хвилин – 70% та 60 хвилин – 85%. Найбільш чутливий з усіх досліджених культур грибів до ультрафіолетового опромінення.

3. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення відносно *A.flavus* при дозі опромінення 44,56 Вт/м² та експозиції 20 хвилин склала 22%, 40 хвилин – 68% та 60 хвилин – 75%.

4. Фунгіцидна ефективність ультрафіолетового опромінення відносно *A.fumigatus* при дозі опромінення 44,56 Вт/м² та експозиції 20 хвилин склала 34%, 40 хвилин – 58% та 60 хвилин – 59%.

5. Ультрафіолетове опромінення рекомендується використовувати для дезінфекції пташників проти патогенних грибів роду *Mucor* та *Aspergillus* за експозиції не менш ніж 60 хвилин та в поєднанні з іншими протигрибковими засобами, оскільки жодна з культур не виявила достатньої чутливості.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідити вплив режимів ультрафіолетових опромінювачів на патогенні гриби роду *Mucor* та *Aspergillus* в умовах виробництва, а також чутливість грибів до про біотичних культур мікроорганізмів та натуральних ефірних олій.

DETERMINATION OF ULTRAVIOLET RADIATION EXPOSURE ON A CAUSATIVE AGENTS OF MUCORMYCOSIS AND ASPERGILLOSIS

Zon G.

Sumy National Agrarian University

Kinash O.

Poltava State Agrarian Academy

SUMMARY

Ultraviolet radiation is one of the safest and the most affordable means of struggle with pathogens. It is a promising way to fight against bacterial, fungal and viral contaminants of indoor air. The sensitivity of pathogenic micromycetes *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* to ultraviolet radiation was studied. It was established that the different types of fungi have a different sensitivity to ultraviolet radiation. Its effect is demonstrated not only by number of survived colony forming units (spores), but also in further development of cultures. Discovered marked fungistatic effect of ultraviolet radiation in regard to fungi of the genus *Aspergillus*.

Keywords: ULTRAVIOLET RADIATION, MICROMYCETES, FUNGICIDAL DOSE, FUNGICIDAL EFFICIENCY, MUCOR RAMOSISSIMUS, ASPERGILLUS NIGER, ASPERGILLUS FLAVUS, ASPERGILLUS FUMIGATUS, SPORES.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МУКОМИКОЗА И АСПЕРГИЛЛЕЗА

Зон Г.А., канд.вет.наук, профессор

Сумской национальной аграрный университет

Кинаш О.В., аспирант,

Полтавская государственная аграрная академия

АННОТАЦИЯ

Ультрафиолетовое излучение остается одним из самых безопасных и доступных средств в борьбе с патогенными микроорганизмами. Оно является перспективным средством борьбы с бактериальными, грибковыми и вирусными контаминантами воздуха закрытых помещений. Исследована чувствительность патогенных микромицетов *Mucor ramosissimus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* к воздействию ультрафиолетового облучения. Установлено, что различные виды грибов имеют различную чувствительность к ультрафиолетовому облучению, причем действие его проявляется не только в количестве выживших колоние образующих единиц (спор), но и в дальнейшем развитии культуры. Выявлено выраженное фунгиостатическое действие ультрафиолетового облучения на грибы рода *Aspergillus*.

Ключевые слова: УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ОБЛУЧЕНИЕ, МИКРОМИЦЕТЫ, ФУНГИЦИДНАЯ ДОЗА, ФУНГИЦИДНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ, MUCOR RAMOSISSIMUS, ASPERGILLUS NIGER, ASPERGILLUS FLAVUS, ASPERGILLUS FUMIGATUS, СПОРЫ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Четина О.А. Исследование помещений стационара инфекционного профиля на предмет контаминации условно-патогенными грибами / О.А.Четина, С.Ю.Баландина // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – №1.- С.327.
2. Інструкція з проведення санітарної обробки – дезінфекції, дезінсекції та дератизації об'єктів птахівництва. Режим доступу: http://vet.in.ua/menu/legislation.php?id_article=315.
3. Кулешова Л.И. Инфекционная безопасность в лечебно-профилактических учреждениях / Л.И.Кулешова, Е.В.Пустоветова. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. – 316 с.
4. Барабой В.А. Структура, биосинтез меланинов, их биологическая роль и перспективы использования / В.А.Барабой // Успехи современной биологии, 2001. – Т.121.- №1. – С. 36–46.
5. Кряжев Д.М. Экологические основы диагностики процессов биодеструкции природных и синтетических полимерных материалов в условиях воздействия ряда абиотических факторов внешней среды : дис. докт. біол. наук : 03.02.08 – экология (биология) / Д. М. Кряжев – Нижний Новгород, 2014. – 305 с.
6. Методы экспериментальной микологии. Справочник / И.А.Дудка, С.П.Вассер, И.А.Элланская и др.; Под ред. В.И. Билая. – К.: Наук. думка, 1982. – 551 с.
7. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях. Методические рекомендации [Электронный ресурс] / [Р. Д. Клебанов, С. Л. Итпаева, Т. А. Стельмах та ін.] // Минск. – 2001. – Режим доступа до ресурсу: file:///E:/УФ/1318786561473789199.pdf.