



**INSTITUTE OF  
AGROPHYSICS**  
P A S

**Badanie skuteczności wybranych ekstraktów roślinnych  
wobec grzybów z rodzaju  
*Neosartorya* z wykorzystaniem mikroplątek MT2 Biolog™ -  
intensywność oddechowa  
oraz przyrost biomasy**

Wiktorija Maj, Giorgia Pertile, Magdalena Frąc

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk

Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Polska

e-mail: [m.frac@ipan.lublin.pl](mailto:m.frac@ipan.lublin.pl)

# Wprowadzenie

## Omawiane grzyby

*Neosartorya* (anamorfa: *Aspergillus*) to rodzaj grzybów strzępkowych i jeden z najczęstszych czynników powodujących psucie żywności [1]. Owoce i produkty owocowe wydają się być najbardziej podatne na jego wpływ, co skutkuje pojawianiem się zgnilizny i gromadzeniem mykotoksyn. Obecność grzybów z rodzaju *Neosartorya* jest udokumentowana głównie w glebie i materii roślinnej, co pozwala na szybką kontaminację owoców. Ponadto grzyby te charakteryzuje wysoka odporność na ciepło, dzięki czemu mogą przetrwać oraz zarodnikować po procesie pasteryzacji [2].

## Europejski Zielony Ład

Europejski Zielony Ład ma na celu uczynienie z Unii Europejskiej pierwszego kontynentu neutralnego dla klimatu do 2050 roku. Komisja Europejska przedstawiła pakiet środków m.in. Strategię „Od pola do stołu” i europejskie prawo klimatyczne, w tym działania na rzecz ochrony gleb. Strategia „Od pola do stołu” koncentruje się między innymi na problemach związanych z zanieczyszczeniem gleb, zakładając redukcję użycia chemicznych pestycydów o 50% do 2030 roku i ma na celu zmniejszenie zużycia nawozów o 20% oraz zmniejszenie strat składników odżywczych o co najmniej 50% [3].

## Cel badań

Celem badań jest nie tylko poszerzenie wiedzy na temat samych grzybów z rodzaju *Neosartorya*, ale także zaimplementowanie ich do rozwoju rolnictwa zgodnego z najnowszymi strategiami i celami UE. Test mikroplótkowy MT2 pozwolił zbadać odpowiedź grzybów na kilka czynników, rzucając światło na metabolizm grzybów z rodzaju *Neosartorya* i odpowiedź na naturalne biofungicydy.



Fig.1 Wzrost *Neosartorya* sp.  
na podłożu PDA

# Metodyka

Na podstawie wcześniejszych testów przeprowadzonych za pomocą metody dyfuzyjno-krażkowej oraz pomiarów stref zahamowania wzrostu wyselekcjonowano ekstrakty roślinne oraz ich rozcieńczenia wykazujące najlepsze właściwości przeciwgrzybicze. Wytypowane ekstrakty obejmowały: suchy wyciąg z nagietka lekarskiego, suchy wyciąg z kwiatów lawendy, olejek lawendowy, olejek rozmarynowy, olejek z drzewa herbacianego, olejek goździkowy. Każdą substancję badano w czterech stężeniach: 1000  $\mu\text{g/ml}$ ; 150  $\mu\text{g/ml}$ ; 50  $\mu\text{g/ml}$ ; 5  $\mu\text{g/ml}$ . Czyste kultury 10 szczepów grzybów hodowano w temperaturze 30°C przez 10 dni na pożywce PDA z antybiotykami (tetracyklina, streptomycyna). Po 10 dniach zebrano askospory i grzybnię z powierzchni płytek ze wzrostem grzybów i przeniesiono do sterylnego worka z filtrem (BagPage®) z płynem inokulacyjnym FF. Zawiesinę poddano homogenizacji, a następnie inokulum przeniesiono do probówek zawierających jałowy płyn FF, doprowadzając do transmitancji 75%.

Przygotowane w ten sposób inokulum przeniesiono w objętości 50  $\mu\text{l}$  do poszczególnych dołków płytki MT2 Biolog™. Następnie dodano po 100  $\mu\text{l}$  odpowiednich rozcieńczeń ekstraktów roślinnych. Eksperyment założono w trzech powtórzeniach. Odczyty płytek przeprowadzono z wykorzystaniem mikrostacji Biolog™ w odstępach 24-godzinnych przez 10 dni inkubacji przy długości fal 490nm i 750nm. Dodatkowe odczyty wykonywano na urządzeniu Biolog OmniLog™ co 15 minut.

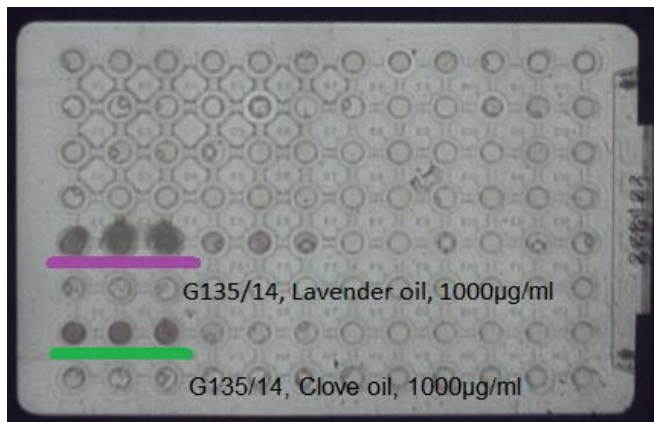
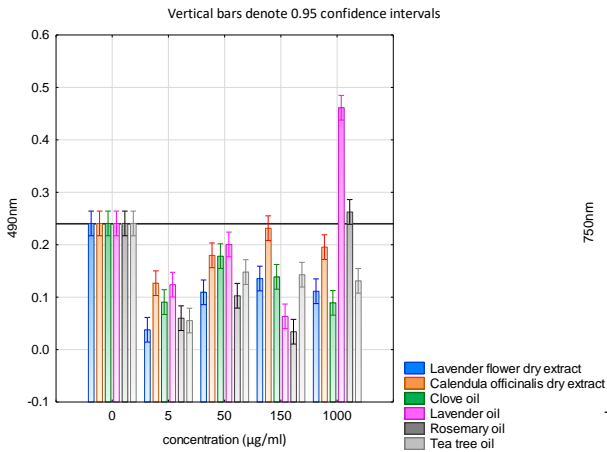


Fig. 2 Odczyt OmniLog™

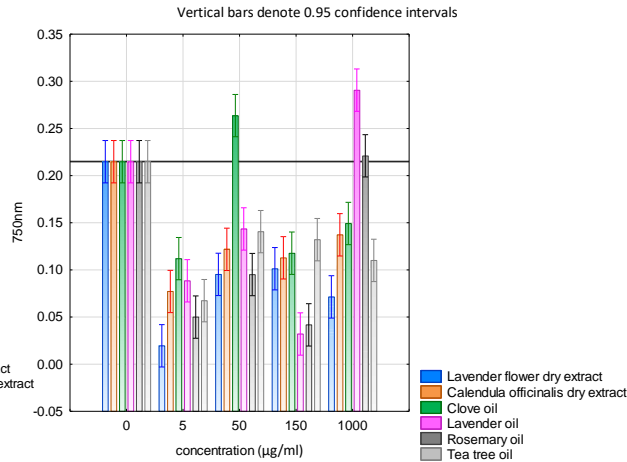


Fig. 3 Ilustracja odczytu Biolog™

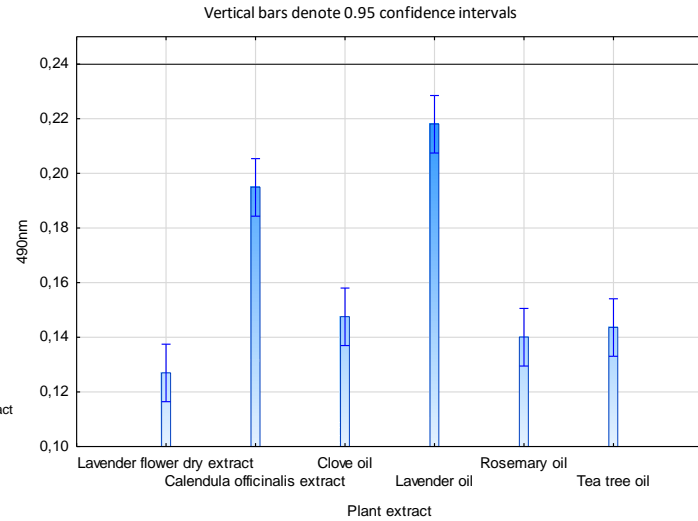
Wygenerowano w BioRender



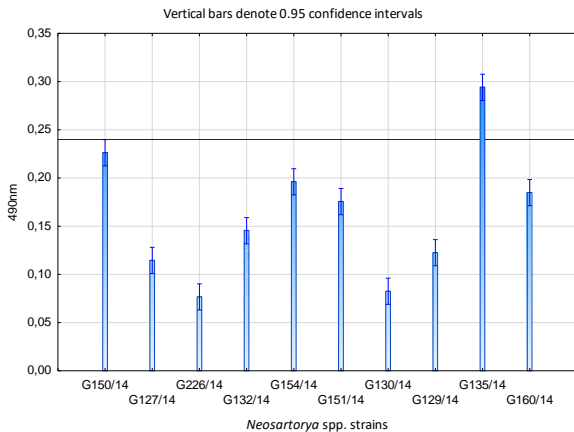
**Fig. 4 Wykorzystanie różnych stężeń ekstraktów roślinnych przez grzyby z rodzaju Neosartorya, 490 nm**



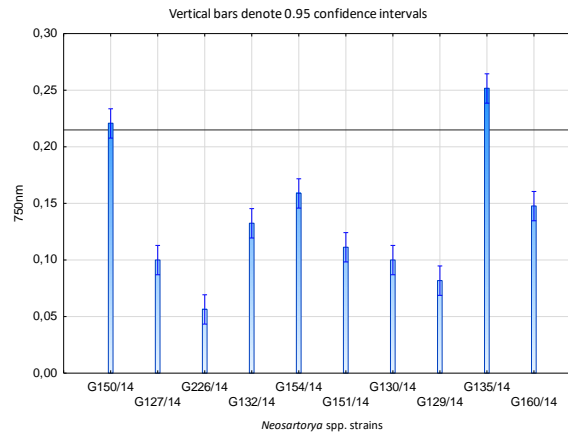
**Fig. 5 Wpływ różnych stężeń ekstraktów roślinnych na produkcję biomasy przez grzyby z rodzaju Neosartorya, 750 nm**



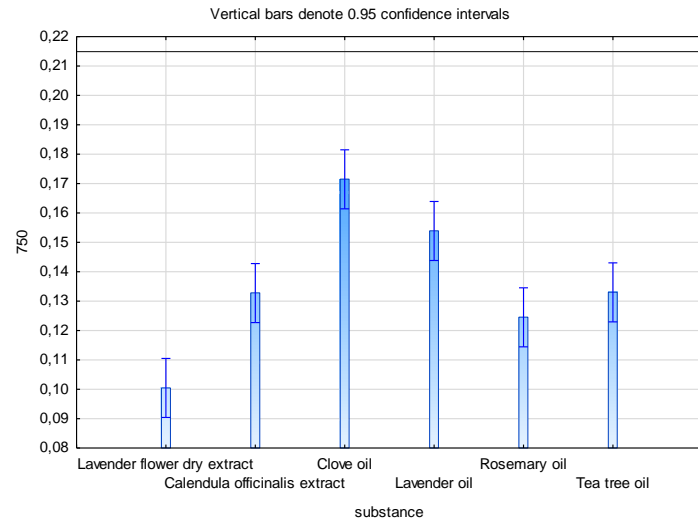
**Fig. 6 Wykorzystanie ekstraktów roślinnych przez grzyby z rodzaju Neosartorya, 490 nm**



**Fig. 7 Wrażliwość grzybów z rodzaju Neosartorya na ekstrakty roślinne, 490 nm**



**Fig. 8 Wrażliwość grzybów z rodzaju Neosartorya na ekstrakty roślinne, 750 nm**



**Fig. 9 Wpływ ekstraktów roślinnych na produkcję biomasy przez grzyby z rodzaju Neosartorya, 750nm**

## Podsumowanie

- Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ ekstraktów roślinnych na produkcję biomasy (750 nm) przez grzyby z rodzaju *Neosartorya*.
- Wykazano różny poziom wykorzystania (katabolizmu) (490 nm) ekstraktów roślinnych przez grzyby z rodzaju *Neosartorya*.
- Przeprowadzone badania wskazują na istnienie różnego poziomu tolerancji na te same ekstrakty roślinne wśród izolatów grzybów z rodzaju *Neosartorya*.
- Wszystkie spośród testowanych ekstraktów roślinnych wykazały hamujące działanie na grzyby z rodzaju *Neosartorya*.
- Najbardziej efektywne działanie inhibicyjne stwierdzono dla suchego ekstraktu z kwiatu lawendy (5 µg/ml), a najmniej dla olejku lawendowego (1mg/ml) i goździkowego (50µg/ml).
- Z ekonomicznego punktu widzenia, uzyskane wyniki są korzystne dla procesów produkcyjnych – mniejsze dawki generują mniejsze koszty produkcji oraz w mniejszym stopniu będą wpływać na walory produkowanej żywności.

## Literatura

[1] B.C. Sutton, FUNGI | Overview of Classification of the Fungi, Editor(s): Carl A. Batt, Mary Lou Tortorello, Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), Academic Press, 2014, Pages 1-10, ISBN 9780123847331, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00134-8>.

[2] Pertile, G., Frąć, M., Fornal, E., Oszust, K., Gryta, A., & Yaguchi, T. (2020). Molecular and metabolic strategies for postharvest detection of heat-resistant fungus *Neosartorya fischeri* and its discrimination from *Aspergillus fumigatus*. *Postharvest Biology and Technology*, 161, 111082. doi:10.1016/j.postharvbio.2019

[3] Montanarella, L., & Panagos, P. (2021). The relevance of sustainable soil management within the European Green Deal. *Land use policy*, 100, 104950.

[4] Flavia Pinzari, Andrea Ceci, Nadir Abu-Samra, Loredana Canfora, Oriana Maggi, Annamaria Persiani, Phenotype MicroArray™ system in the study of fungal functional diversity and catabolic versatility, *Research in Microbiology*, Volume 167, Issues 9–10, 2016, Pages 710-722, ISSN 0923-2508, <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.05.008>.

**Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu Preludium Bis-2, 2020/39/O/NZ9/03421.**