



**UNIwersytet
Przyrodniczy
we Wrocławiu**

Wydział Przyrodniczo-Technologiczny

mgr inż. Maciej Rdzanek

**Wpływ wyciągów roślinnych na wzrost wybranych
grzybów strzępkowych**

Effect of plant extracts on the growth selected filamentous fungi

Praca doktorska

wykonana pod kierunkiem:

Promotor: prof. dr. hab. inż. Elżbieta Płaskowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Elżbieta Gębarowska

Wrocław, 2023

*Składam serdeczne podziękowania Pani Promotor **prof. dr. hab. Elżbiecie Płaskowskiej** oraz Pani Promotor Pomocniczej **dr inż. Elżbiecie Gębarowskiej** za kierownictwo naukowe, życzliwość, cenne wskazówki i pomoc w realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej.*

*Dziękuję **wszystkim pracownikom** Katedry Ochrony Roślin za wszelką okazaną pomoc.*

*Szczególne podziękowania kieruję do swojej **żony Magdaleny** za wsparcie, motywację, okazaną pomoc i wyrozumiałość.*

Spis treści

1.	WSTĘP	6
2.	CEL BADAŃ I HIPOTEZY BADAWCZE	8
3.	PRZEGLĄD LITERATURY	9
3.1.	Grzyby strzępkowe i ich znaczenie	9
3.2.	Rośliny i zawarte w nich związki aktywne.....	19
3.3.	Wykorzystanie naturalnych substancji w ochronie roślin	29
4.	MATERIAŁ I METODY BADAŃ	33
4.1.	Aktywność wybranych wyciągów roślinnych wobec <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	33
4.1.1.	Przygotowanie materiału roślinnego i ekstraktu do badań.....	33
4.1.2.	Izolacja i identyfikacja grzyba <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	35
4.1.3.	Badanie aktywności przeciwgrzybiczej wyciągów	35
4.2.	Wpływ wyciągów roślinnych na wybrane grzyby strzępkowe – metoda zatrutego podłoża	36
4.2.1.	Przygotowanie materiału roślinnego i ekstraktu do badań.....	36
4.2.2.	Izolacja i identyfikacja grzybów strzępkowych	37
4.2.3.	Ocena aktywności przeciwgrzybiczej	38
4.3.	Wpływ wyciągów z psianki czarnej na grzyby strzępkowe, bakterie i drożdże	39
4.3.1.	Przygotowanie materiału roślinnego i wyciągu	39
4.3.2.	Ocena aktywności przeciwgrzybiczej	39
4.3.3.	Ocena aktywności przeciwbakteryjnej	39
4.3.4.	Analiza chemiczna składu wyciągów z psianki czarnej	41
4.3.5.	Ocena aktywności biologicznej na kulturach komórkowych.....	42
5.	WYNIKI BADAŃ.....	45
5.1.	Wpływ wybranych wyciągów roślinnych na wzrost <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	45
5.2.	Wpływ wyciągów na wybrane grzyby strzępkowe - ocena metodą zatrutego podłoża	47
5.3.	Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane grzyby strzępkowe, bakterie i drożdże	58
5.3.1.	Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane grzyby strzępkowe.....	58
5.3.2.	Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane bakterie i drożdże	65

5.3.3. Analiza chemiczna związków psianki czarnej i ocena cytotoksyczności.....	67
6. DYSKUSJA.....	71
7. WNIOSKI	81
8. LITERATURA	82
9. SPIS TABEL I WYKRESÓW	94

Wykaz stosowanych skrótów

- DMSO** – dodecylosiarczan sodu
- H** – współczynnik zahamowania wzrostu grzybni
- j.t.k.** – jednostki tworzące kolonie;
- MBC** – minimalne stężenie bakteriobójcze (Minimal Bactericidal Concentration)
- MHA** – agarowa pożywka Muellera-Hinton
- MHB** – płynna pożywka Muellera-Hinton
- MIC** – minimalne stężenie hamujące (Minimal Inhibitory Concentration)
- PDA** – pożywka ziemniaczana (potato dekstroze agar);
- SDA** – agarowa pożywka Sabourauda;
- T** – współczynnik tempa wzrostu grzybni

1. WSTĘP

Postępująca intensyfikacja produkcji roślinnej i związana z nią uprawa w monokulturach niesie ze sobą zwiększone ryzyko porażenia roślin przez różne czynniki chorobotwórcze. Wśród nich szczególnie istotną grupę stanowią grzyby strzępkowe. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy ponad 90% chorób roślin na świecie wywoływanych jest przez grzyby (*Mycota*) oraz organizmy grzybopodobne (*Pseudomycota*). Szacuje się, że corocznie straty plonu przez nie powodowane wahają się od 10 do 20% [Ons i in 2020]. Obniżają one nie tylko ilość uzyskanego plonu, ale również przyczyniają się do pogorszenia jego jakości i skażenia płodów rolnych mykotoksynami [Fleurat-Lessard, 2017]. Niektóre gatunki grzybów mogą być alergizujące lub patogenne dla ludzi i zwierząt.

Duży udział zbóż w strukturze zasiewów, uproszczenia uprawowe, uprawa odmian podatnych oraz nadmierne stosowanie pestycydów sprzyjają nagromadzeniu się w glebie szkodliwych dla roślin grzybów i bakterii chorobotwórczych. Za jedne z najgroźniejszych uważa się grzyby rodzajów: *Fusarium*, *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia* i *Bipolaris* oraz bakterie: *Pectobacterium*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Xylella* czy *Clavibacter* [Smith i in 2009, Dean i in. 2012]. Wymienione patogeny porażają wiele gatunków roślin uprawnych, w różnych strefach klimatycznych przynosząc się do dużych strat ekonomicznych zarówno w produkcji rolniczej, jak ogrodniczej. W okresie przechowywania płodów rolnych duże znaczenie mają też grzyby saprotroficzne z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*, przyczyniające się do gnicia przechowywanych surowców i skażenia ich mykotoksynami [Fleurat-Lessard 2017].

Podstawową metodą ograniczania strat powodowanych przez grzyby strzępkowe jest ochrona chemiczna z wykorzystaniem syntetycznych fungicydów. Chronią one rośliny przed porażeniem przez patogeny, ale równocześnie stanowią duże zagrożenie dla środowiska naturalnego oraz zdrowia ludzi i zwierząt. Pestycydy, w tym fungicydy mogą migrować w środowisku glebowo-wodnym, doprowadzając do skażenia wód powierzchniowych i gruntowych szkodliwymi substancjami chemicznymi. Mogą też łatwo wnikać do organizmów żywych drogą łańcuchów pokarmowych. Wiele z tych substancji podlega wtedy przekształceniom w inne, często bardziej toksyczne dla nich od pierwotnych. Pestycydy są również bardzo toksyczne dla pszczół oraz innych pożytecznych owadów. Niektóre z pestycydów są związkami trudnodegradowanymi, długo zalegającymi w środowisku [Kumar i in. 2013]. Narastającym problemem w

produkcji rolniczej jest również nabywanie odporności przez grzyby na stosowane dotychczas fungicydy, co jest spowodowane częstym korzystaniem z środków chemicznych o tych samych substancjach czynnych do ich zwalczania [Kalia i Gosal 2011, Frąc i in. 2015].

Obecnie Unia Europejska znacznie ogranicza możliwość korzystania z syntetycznych pestycydów (art. 14 Dyrektywy 2009/128/WE oraz Rozporządzenie WE nr 1107/2009). Część substancji czynnych wchodzących w skład środków ochrony roślin zostanie z rynku wycofana do końca 2030 roku. Ponadto, od 1 stycznia 2014 roku obowiązuje wszystkie państwa członkowskie prowadzenie integrowanej ochrony roślin (IPM, Integrated Pest Management) [www 1]. Daje to pierwszeństwo naturalnym, nie chemicznym metodom ochrony roślin. Zwiększa to możliwości korzystania z alternatywnych metod ochrony roślin i produktów pochodzenia naturalnego, takich jak: olejki eteryczne, ekstrakty z roślin, czy supernatanty mikroorganizmów.

Nowoczesne rolnictwo zmierza w stronę produkcji wysokiej jakości żywności w sposób opłacalny, ale zarazem przyjazny środowisku naturalnemu. Związane jest to z coraz większymi wymaganiami stawianymi produktom żywnościowym przez konsumentów. Dlatego w ostatnich latach wielu badaczy [Yazdani i in. 2011, Shuping i Jacobus 2017, Gębarowska i in. 2021] poszukuje alternatywnych do fungicydów substancji pochodzenia roślinnego, które można zastosować w ochronie roślin. Pozwoli to na ograniczenie zużycia chemicznych środków ochrony roślin oraz zmniejszenie zagrożeń związanych z występowaniem pestycydów w żywności.

Substancje pochodzenia roślinnego mogą być pozyskiwane nie tylko z ziół i roślin leczniczych, ale również z chwastów (np. owsa głuchego, bylicy pospolitej i in.) i roślin inwazyjnych (np. nawłoc kanadyjska, rdestowiec sachaliński i in.). Wiele gatunków roślin, oprócz podstawowych produktów fotosyntezy zdolnych jest do syntezy specyficznych metabolitów wtórnych, które nie są bezpośrednio niezbędne do wzrostu i rozwoju organizmu, ale pełnią ważne funkcje, takie jak: sygnalizacja międzykomórkowa, wabienie owadów, obrona przed roślinożercami czy też patogenami. Do związków tych zalicza się: garbniki, glikozydy, kwasy organiczne, alkaloidy, saponiny, związki fenolowe, terpenoidy, czy flawonoidy. Wiele z tych związków cechuje się właściwościami bakteriostatycznymi i fungistatycznymi, a nawet biobójczymi w stosunku do patogenów roślinnych i zwierzęcych. Z tego względu mogą stanowić materiał wyjściowy w procesie wytwarzania środków bakteriobójczych i naturalnych pestycydów.

2. CEL BADAŃ I HIPOTEZY BADAWCZE

Celem pracy było poznanie wpływu wyciągów roślinnych pozyskiwanych z powszechnie występujących chwastów, roślin inwazyjnych oraz ziół i roślin leczniczych na wzrost wybranych gatunków grzybów strzępkowych w warunkach *in vitro*. Wyselekcjonowanie do dalszych badań najlepiej rokujących wyciągów, które mogą zostać wykorzystane w ochronie roślin, ale także w przechowalnictwie lub ograniczaniu występowania mikroorganizmów niebezpiecznych dla ludzi i zwierząt. Dodatkowo zbadano wpływ wyciągów z liści, owoców i korzeni psianki czarnej na grzyby i bakterie chorobotwórcze dla roślin, ludzi i zwierząt oraz grzyby saprotroficzne o właściwościach alergizujących oraz mogących występować na przechowywanych płodach rolnych.

Hipotezy badawcze:

1. Z uwagi na wycofywanie z rynku przez Unię Europejską do 2030 roku najbardziej toksycznych dla środowiska oraz negatywnie oddziałujących na układ endokryny zwierząt fungicydów, wyciągi roślinne mogą stanowić alternatywne źródło substancji aktywnych.
2. Niektóre wyciągi roślinne z powszechnie występujących chwastów, roślin inwazyjnych oraz ziół i roślin leczniczych mogą wykazywać właściwości predestynujące je do wykorzystania w ochronie roślin.
3. Oddziaływanie wyciągów roślinnych na grzyby strzępkowe zależy od gatunku rośliny, części, z której sporządzono wyciąg oraz użytego stężenia.
4. Grzyby strzępkowe oraz bakterie różnią się wrażliwością na wyciągi roślinne i ich stężenia, a ich wzrost może być hamowany lub stymulowany.

3. PRZEGLĄD LITERATURY Grzyby strzępkowe i ich znaczenie

Grzyby (*Fungi*) to organizmy mające zorganizowane jądro, w ramach Domeny *Eucaryota*, obok *Protozoa*, *Plantae* i *Animalia*, tworzą odrębne królestwo. Wśród nich wyróżniamy drożdże (jednokomórkowe) i grzyby strzępkowe (wielokomórkowe), zróżnicowane pod względem budowy i przystosowania do środowiska. Grzyby są wszechobecne w środowisku, występują zarówno w ekosystemach lądowych (leśnych, łąkowych, rolniczych), jak i wodnych (mórz, jezior, rzek). Typowe grzyby strzępkowe (potocznie nazywane pleśniami) zbudowane są z cienkich, nitkowatych strzępek o średnicy 5-10 μm (łac. *hyphae*). Zbiór tych strzępek tworzy grzybnię (łac. *mycelium*), której budowa wewnętrzna jest różna u poszczególnych typów grzybów. Wyróżnia się grzybnię rozgałęzioną lub nierozgałęzioną, substratową (wgłębną) lub powietrzną oraz komórkową (podzieloną przegrodami) lub cenocytyczną (niepodzieloną przegrodami). Grzybnia może być bezbarwna lub zabarwiona melaniną (od koloru jasnobrązowego do czarnego). Ściana komórkowa grzybów zbudowana jest z aminopolisacharydów (chityna, chitozan) i polisacharydów: β -glukanów, celulozy, kalozy. Ważniejszymi substancjami zapasowymi w protoplazmie są tłuszcze i cukry (glikogen). Grzyby rozmnażają się bezpłciowo (wegetatywnie) i płciowo (generatywnie). Rozmnażanie wegetatywne odbywa się poprzez pączkowanie lub rozszczepienie (drożdże), fragmentację grzybni oraz wytwarzanie zarodników wegetatywnych (łac. *sporis*), które są najczęściej spotykane w przyrodzie. Zarodniki wegetatywne wytwarzane są na końcach trzonków konidialnych lub sporangialnych, tzw. konidioforach lub sporangioforach. Kształt, wielkość, barwa, struktura powierzchni zarodników oraz sposoby ich tworzenia zależą od gatunku grzyba. Cechy te umożliwiają ich prawidłową identyfikację. Zarodniki te służą grzybom do rozprzestrzeniania się i zakażania roślin uprawnych. Niektóre grzyby mogą tworzyć grubościenne komórki, tzw. chlamydospory, które tworzą się zwykle w trudnych warunkach środowiskowych. Z kolei rozmnażanie płciowe przebiega z wytwarzaniem zarodników generatywnych charakterystycznych dla różnych grup grzybów. Do zarodników generatywnych zaliczane są zygospori, askospori, czy też bazydiospori. Spori wytwarzane są w procesie płciowym, w którym wyróżnia się: plazmogamię, kariogamię i mejozę. Zarodniki płciowe powstają w specjalnych strukturach, takich jak sporangia (sporangiospori), worki (askospori), bazydia (bazydiospori). Struktury te są wykorzystywane do celów taksonomicznych [Powers-Fletcher i in. 2016].

Grzyby charakteryzują się zdolnością do wydzielania enzymów hydrolitycznych. Z tego względu wiele gatunków grzybów strzępkowych wykorzystywanych jest w biotechnologii, ochronie środowiska, ochronie roślin i produkcji żywności. W przemyśle biotechnologicznym do produkcji antybiotyków (penicyliny) używa się *Penicillium chrysogenum* Thom (syn. *Penicillium notatum* Westling), a do biosyntezy kwasu cytrynowego szczepy *Aspergillus niger* Tiegh. i *Aspergillus wentii* Wehmer. Zdolność grzybów strzępkowych do degradacji związków pochodzenia naturalnego i wytwarzanych w technologiach przemysłowych jest wykorzystywana w procesie bioremediacji gleby oraz oczyszczania ścieków. Mają też zastosowanie w rolnictwie – w ochronie roślin. Jako naturalni wrogowie organizmów szkodliwych wchodzi w skład biofungicydów (np. Triatum-P na bazie *Trichoderma harzianum* T-22) lub bioinsektycydów (np. Naturalis na bazie *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.). W przemyśle spożywczym wykorzystywane są *Penicillium camemberti* Thom i *Penicillium roqueforti* Thom do produkcji serów, szczep PTA-2684 *Fusarium venenatum* do produkcji Quorn (substytutu białka – Chicken Nuggets), a *Botrytis cinerea* Pers. w produkcji win botrytyzowanych (Tokaj) [www 2]. Ponadto, są też wykorzystywane do bezpośredniego spożycia, ponieważ są źródłem białka, tłuszczu, witamin i składników mineralnych [Ferreira i in. 2020].

Grzyby są liczną grupą mikroorganizmów glebowych. Stanowią 1,33% objętości gleby i 0,2% jej ciężaru. Szacuje się, że w 1 g gleby znajduje się do 10 mln komórek mikroorganizmów, w tym 75000 do 1500000 zarodników grzybów. Każda warstwa gleby ma swój własny zespół makro- i mikroorganizmów (tzw. edafon). Najwięcej jest ich na głębokości 5–20 cm w warstwie ornej. Na powierzchni 100 m² znajduje się około 70 kg masy bakterii, 70 kg promieniowców i 10–15 kg masy grzybowej. Liczba gatunków grzybów glebowych wynosi 1800-2000 [Watanabe 2002].

Różnorodność gatunkowa grzybów w glebie jest ogromna. Typowymi przedstawicielami glebowych grzybów strzępkowych są rodzaje: *Absidia*, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Cylindrocarpon*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stemphylium*, *Verticillium* i *Zygorhynchus* [Behnke-Borowicz i Kwaśna 2010]. Pełnią one w glebie różne funkcje. Jako organizmy cudzożywne rozkładają martwą materię organiczną (błonnik, pektyny, związki aromatyczne, ligniny i in.), przyczyniając się do obiegu pierwiastków w przyrodzie. Uwalniają z niektórych minerałów składniki pokarmowe potrzebne roślinom. Uczestniczą w wielu procesach biochemicznych. Mineralizując resztki organiczne

wytwarzają próchnicę glebową. Strzępki grzybów, dzięki polisacharydom obecnym w ich ścianach komórkowych łączą ze sobą elementy mineralne gleby. Mają zdolność do wytwarzania antybiotyków i innych wtórnych metabolitów ograniczających wzrost i rozwój innych organizmów w glebie [Behnke-Borowczyk i Kwaśna 2010].

W zależności od gatunku mogą prowadzić różny tryb życia. Są wśród nich: saprotrofy, pasożyty, nadpasożyty, symbionty, drapieżcy. Saprotrofy czerpią energię z martwej, złożonej materii organicznej, uwalniając i udostępniając np. roślinom proste związki organiczne. Kiedy rozwijają się na żywności lub przechowywanych w magazynach i przechowalniach płodach rolnych (owoce i warzywa, bulwy ziemniaka czy ziarno zbóż) powodując ich psucie. Mogą też powodować alergie, w szczególności u pracowników magazynów i przechowalni oraz mogą zanieczyszczać żywność i pasze dla zwierząt wytwarzając metabolity wtórne. Z kolei grzyby symbiotyczne współżyją z korzeniami drzew i roślin zielnych lub żyją też w symbiozie z plechami porostów np. *Corella* spp., *Dictyonema* spp. Grzyby drapieżne np. *Atrobotrys*, mogą atakować małe owady lub pierwotniaki [Rathod 2022]. Nadpasożyty pasożytują na grzybach patogennych dla roślin np. *Ampelomyces* spp. na mączniakach prawdziwych. Izolaty *Ampelomyces* spp. zostały opracowane jako komercyjne produkty biofungicydowe i stosowane są jako środki kontroli biologicznej przeciwko mączniakom w różnych uprawach. Najczęściej wykorzystywane preparaty to: AQ10 (Ecogen Inc., Langhorne, PA, USA), Q-fect (Green Biotech, Paju, Korea Południowa) i Powderycare (AgriLife, Medak, Indie) [Kimura i in. 2023]. Duże zainteresowanie w biologicznej ochronie roślin wzbudzają nadpasożyty z rodzaju *Trichoderma*, a w szczególności gatunki takie jak: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens*, czy *T. hamatum*. Biopreparaty na bazie tych grzybów stosowane są do zwalczania patogenów z rodzajów *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* [Wojtkowiak-Gębarowska, 2006]. Obecnie na rynku dostępnych jest szereg preparatów opartych na grzybach pożytecznych. Należą do nich między innymi: Asperello lu Xilon oparte na szczepie *T. asperellum* T34, Trianum G i Trianum P oparte na szczepie *T. harzianum* T22, Vintec, oparty na szczepie *T. atroviride* SC1.

Bardzo ważną grupę stanowią grzyby pasożytnicze dla roślin uprawnych, które mogą przyczynić się do znacznych strat gospodarczych. Do grupy tej zalicza się np. *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. i wiele innych. W celu kolonizacji roślin, zarodniki grzybów przenoszone są przez wiatr, wodę lub owady. W warunkach sprzyjających infekcji rozpoczyna się etap kiełkowania zarodników i tworzenia strzępek penetracyjnych (łac. *haustoria*), które doprowadzają do przeprogramowania

metabolizmu komórek gospodarza na swoją korzyść. Grzyby fitopatogenne stanowią duże zagrożenie dla roślin mimo, stosowania we współczesnym rolnictwie środków ochrony roślin. Na świecie wciąż występują masowe epidemie różnych chorób, które doprowadzają do znacznych strat w plonach [Doehlemann i in. 2017].

W celu podejmowania interakcji z gospodarzem grzyby pasożytnicze wykształciły wiele strategii kolonizacji roślin. Patogeny roślin stanowią prawdopodobnie jedną z najbardziej zróżnicowanych grup zagrożeń o znaczeniu gospodarczym i ekologicznym. Grzyby będące patogenami roślin można podzielić na trzy grupy: biotrofy, nekrotrofy i hemibiotrofy. Biotrofy są to grzyby wykorzystujące żywe tkanki gospodarza do odżywiania. Należą do nich rdze roślin (*Pucciniales*) lub mączniaki prawdziwe (*Erysiphales*) i mączniaki rzekome (*Peronosporales*). Grzyby te ewoluowały, aby dopasować się do cyklu życiowego żywiciela. Nekrotrofy to grzyby, które zasiedlają żywe organizmy, a następnie zabijają tkanki otaczające miejsce ich rozwoju, np. za pomocą mykotoksyn i dopiero z takich obumarłych tkanek czerpią pokarm (*Botrytis*.spp. i *Fusarium* spp. Hemibiotrofy to grzyby początkowo wykazujące cechy biotrofów a później zmieniają strategię w kierunku nekrotrofów. Do grupy tej zaliczany jest grzyb *Pyricularia oryzae* Cavara, wywołujący zarazę ryżu. Patogen po wniknięciu do komórek gospodarza wytwarza strzępki, a następnie przechodzi do fazy nekrotycznej. Przejście to związane jest ze zróżnicowaniem nowego typu strzępek [Peng i in. 2021].

Nekrotrofy wytwarzają toksyny o wysokiej szkodliwości dla roślin. Są to głównie metabolity wtórne o niskiej masie cząsteczkowej, które mogą wywoływać, takie objawy jak: więdnienie liści, plamistość liści, czy zahamowanie wzrostu roślin. Fitotoksyny działają głównie na błonę komórkową, mitochondria i chloroplasty roślin żywicielskich, zakłócając ich metabolizm i często doprowadzając do więdnienia, a nawet zamierania rośliny. Prowadzenie badań nad mechanizmami działania toksyn oraz infekcji grzybami patogennymi jest kluczowe dla zrozumienia interakcji grzyb-żywiciel a także dla zwalczania choroby [Peng i in. 2021].

Rośliny w sezonie wegetacyjnym mogą być porażane przez wiele grzybów chorobotwórczych. Spośród nich duże znaczenia mają gatunki polifagiczne żyjące w glebie, atakujące wiele różnych gatunków roślin. Do tych ostatnich należą m.in. grzyby rodzaju *Fusarium*, a w szczególności gatunki, takie jak: *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. (st. work. *Gibberella avenacea* R.J. Cook), *F. culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc., *F. graminearum* Schwabe (st. work. *Gibberella zae* (Schwein.) Petch, *F. oxysporum*

Schldl. i *F. poae* (Peck) Wollenw. Większość wymienionych gatunków występuje powszechnie na całym świecie. Do najczęściej występujących w Europie zalicza się następujące gatunki *Fusarium* spp.: *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. poae*, *F. equiseti*, *Microdochium nivale* [Doohan i in. 2003, Summerell i in. 2019]. Do najgroźniejszych patogenów glebowych na obszarze Europy zaliczane są dwa gatunki: *F. culmorum* i *F. graminearum* [Maiorano i Blandino 2008]. Grzyby te wywołują szereg jednostek chorobowych, takich jak: zgorzel siewek, fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła, fuzaryjne więdnienie, fuzarioza kłosów, fuzarioza kolb kukurydzy. Szczególnie niebezpieczne jest zasiedlenie ziarna zbóż przez te grzyby ze względu na wytwarzane przez nie mykotoksyny mogące pojawiać się w żywności i paszach [Hahn 2014, Bawa 2016, Moretti i in. 2017, Shivam i in. 2019 Alayande i in. 2023]. Grzyby z rodzaju *Fusarium* wytwarzają niebezpieczne mykotoksyny, takie jak: deoksyniwalenol (DON), niwalenol (NIV), fumonizyny, zearalenon (ZEN), trichoteceny, bowerycyny i moniliforminy. Doprowadzają one do zahamowania wzrostu roślin, kiełkowania nasion, nekrozy tkanek prowadzące do obumierania roślin, zaburzają pobieranie składników pokarmowych i biosyntezę skrobi i białek. Kumulując się w ziarnie zbóż, w paszach, czy produktach żywnościowych oddziałują szkodliwie na zdrowie ludzi i zwierząt. Trichoteceny wykazują działanie krwotoczne, cytotoksyczne i dermatotoksyczne, zearalenon ma właściwości estrogenne, a fumonizyny są rakotwórcze i neurotoksyczne [Ji i in. 2019]. Zarodniki tych grzybów atakują układ oddechowy i oczy, a następnie rozprzestrzeniać się mogą do układu nerwowego i innych narządów. Leczenie jest utrudnione z powodu oporności grzybów na wiele dostępnych środków przeciwgrzybiczych. Śmiertelność osób chorujących na fuzariozę szacowana jest na około 43-67% i jest szczególnie wysoka w przypadku zakażenia przez *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. i *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg. Szacuje się, że *Fusarium* spp. są drugimi, co do powszechności zakażenia ludzi w Stanach Zjednoczonych i Europie, zaś w Australii większość zakażeń wywoływana jest przez *Scedosporium* spp. [WHO 2022].

Innymi polifagami o dużym znaczeniu gospodarczym, występującymi pospolicie na całym świecie są *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, *Botrytis cinerea* Pers., *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn i *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Wymienione patogeny porażają wiele gatunków roślin uprawnych, w różnych strefach klimatycznych przynosząc duże straty ekonomiczne zarówno w produkcji rolniczej, jak ogrodniczej [Savary i in. 2012, Hahn 2014, De Simone i in. 2020].

Alternaria alternata jest sprawcą czerni zbóż i czerni krzyżowych oraz jednostek chorobowych nazywanych alternariozami wielu gatunków roślin. Występuje powszechnie na całym świecie. Patogen może powodować zgorzel siewek. Częściej jednak występuje w późniejszych fazach rozwojowych roślin, w okresie dojrzewania. Na porażonych organach pojawiają się czarnobrunatne lub czarne, drobne plamy, które zlewają się ze sobą. Na liściach mogą też pojawić się większe plamy, koncentrycznie strefowane. Największe znaczenie dla plonu mają zmiany chorobowe na łuszczynach rzepaku, ponieważ przyczyniają się do przedwczesnego pęknięcia łuszczyn i osypywanie nasion. Grzyb jest pasożytem fakultatywnym, zasiedla powierzchniową warstwę gleby i martwą materię organiczną. Staje się patogenem tylko w sprzyjających warunkach dla jego rozwoju. Szczególnie podatne na infekcję są rośliny starsze i osłabione [Kodama 2019]. *Alternaria* spp. wytwarzają alternariol, eter monometylowy alternariolu i kwas tenuazonowy. Komisja Europejska wydała w 2022 w zalecenia w sprawie monitorowania obecności toksyn *Alternaria* spp. w żywności [www. 3]. *Alternaria alternata* jest też uważany za jednego z najczęstszych grzybów alergizujących, szczególnie w okresie letnim w czasie zbioru zbóż i rzepaku. Alergia najczęściej objawia się katarem i drapaniem w gardle [Elkhateeb i in. 2021].

Kolejnym patogenem stwarzającym zagrożenie w uprawie zbóż jest *B. sorokiniana*. Jest on jednym z patogenów pszenicy i jęczmienia, który może atakować różne organy rośliny - nasiona, korzenie, pędy i liście. Grzyb ten jest sprawcą zgnilizny korzeni, zgorzeli siewek, czarnej plamistości liści, helmintosporiozy i czernienia kłosów [Al.-Sadi 2021]. Zgnilizna korzeni jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób pszenicy i występuje na wszystkich obszarach uprawy pszenicy [Acharya i in 2011]. Straty pszenicy spowodowane zgnilizną korzeni i zarazą siewek są różne. W ciepłych regionach uprawy pszenicy *B. sorokiniana* może powodować znaczne straty, z reguły 15-25%, ale Smiley i in. [2005] oszacowali 35% utratę plonów pszenicy z powodu tego gatunku na północno-zachodnim wybrzeżu Pacyfiku.

Polifagiem o szerokim zakresie roślin żywicielskich stanowiącym duże zagrożenie zarówno w sezonie wegetacyjnym, jak i w przechowalniach jest *B. cinerea* (gronowiec szary), powodujący szarą pleśń. Jest to grzyb kosmopolityczny występujący na całym świecie, jednak największe straty odnotowuje się w rejonach klimatu umiarkowanego i tropikalnego. *Botrytis cinerea* został sklasyfikowany jako drugi najważniejszy patogen roślin na świecie. Globalny wpływ *B. cinerea* na rośliny

i produkty roślinne jest bardzo ważny ze względu na jego szerokie spektrum żywicieli i możliwość infekowania roślin w trakcie wegetacji, jak i po zbiorze [Abbey i in 2019].

Botrytis cinerea jest pasożytem fakultatywnym, z reguły prowadzi saprotroficzny tryb życia w glebie i na resztkach roślin, w postaci grzybni i form przetrwalnikowych (sklerocjów). W sprzyjających warunkach łatwo przechodzi w pasożytniczy tryb życia. Powoduje chorobę szarą pleśń wielu gatunków roślin rolniczych i ogrodniczych. Choroba ta występuje na roślinach we wszystkich fazach rozwojowych i może porażać wszystkie organy. Najczęściej prowadzi do zgorzeli siewek, kwiatów oraz zgnilizn różnych organów roślin, szczególnie owoców. Na gnilnych plamach będących efektem działalności enzymów grzyba degradujących ściany komórkowe w sprzyjających warunkach wilgotnościowych pojawia się obfity szary nalot składający się z grzybni, trzonek konidialnych i zarodników. Zarodniki rozprzestrzeniane z wiatrem i wodą są źródłem infekcji wtórnych [Williamson i in. 2007, Abbey i in. 2019, Bi i in. 2022]. Ze względu na szeroki wachlarz porażanych przez *B. cinerea* roślin, poszukuje się nowych naturalnych rozwiązań mogących pomóc w ograniczeniu szarej pleśni. Niektóre zarejestrowane produkty handlowe do zwalczania *B. cinerea* oparte na ekstraktach roślinnych np. Milsana z rdestowca sachalińskiego (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai) i Timorex Gold z drzewa herbacianego (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel).

Innym patogenem porażającym wiele gatunków zbóż jest *R. solani*. Grzyb ten jest sprawcą rizoktoniozy i występuje na wielu roślinach uprawnych. Może powodować duże straty ekonomiczne np. w uprawie ziemniaka. Powoduje zgorzel kielków, próchnienie podstawy łodygi i ospowatość bulw ziemniaka. Posadzenie chorych sadzeniaków skutkuje zgnilizną kielków, opóźnieniem wzrostu i nierównomiernością wschodów [Tsrör 2010]. W sezonie wegetacyjnym grzyb wywołuje próchnienie podstawy łodygi, na której w sprzyjających warunkach tworzy się opilsń łodygowa. Próchnienie utrudnia przewodzenie wody i soli mineralnych w roślinie. Skutkuje to więdnieniem roślin ziemniaka. W stadium strzępkowym, w którym grzyb spędza większość swojego życia tworzy formy przetrwalnikowe - sklerocja, które można obserwować na powierzchni porażonych bulw ziemniaka, w postaci ciemno brunatnych grudek. Ze sklerocjów wyrastają strzępki grzybni będące źródłem zakażenia roślin w kolejnym sezonie wegetacyjnym. Rezerwuarem sklerocjów jest zanieczyszczona gleba, dlatego zwalczanie *R. solani* jest bardzo trudne [Tsrör 2010].

Grzyb strzępkowy *S. sclerotiorum* (twardnica pasożytnicza) jest sprawcą zgnilizny twardzikowej. To groźny polifag, który poraża ok. 400 gatunków roślin należących do 60 różnych rodzin botanicznych [Bolton et al. 2006]. W Polsce patogen jest szczególnie groźny dla rzepaku oraz marchwi, kapusty, ogórka i pomidora. Może porażać także sałatę, groch, paprykę, słonecznik, tytoń, konopie i rośliny ozdobne. W innych rejonach świata poraża cytrusy, melona, soję i wiele innych ważnych ekonomicznie gatunków roślin. W uprawie rzepaku może powodować straty sięgające 30–40% [Kora et al. 2003, Hedgeus i Rimmer 2005]. Z powodu chorób wywołanych przez *S. sclerotiorum* średni spadek plonu może sięgać 20-30%, choć w sprzyjających warunkach mówi się o redukcji plonu o ponad 50%. W wielu krajach świata, co roku straty spowodowane wystąpieniem *S. sclerotiorum* szacuje się na setki milionów dolarów [Bolton et al. 2006, Pukacka 2012, Willbur i in 2019]. W okresie przechowywania patogen jest groźny dla warzyw korzeniowych, szczególnie np. marchwi zwyczajnej (*Daucus carota* L.). Może rozwijać się w niższych temperaturach. Choroba ujawnia się pod koniec okresu wegetacji, ale najczęściej występuje w trakcie przechowywania korzeni. Pojawia się na nich biała watowata grzybnia, na której powstają czarne sklerocja, długości 2-5 mm). W przypadku warzyw korzeniowych, takich jak: marchew czy seler choroba może doprowadzić do masowego gnicia korzeni, przyczyniając się do ogromnych strat gospodarczych, szczególnie w dużych przechowalniach [Baruah i in 2022].

Grzybem żyjącym głównie saprotroficznie, ale mogącym w odpowiednich warunkach stać się patogenem roślin jest *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link. Wspólnie z *A. alternata* i *Epicoccum nigrum* Link może powodować czerń zbóż i czerń krzyżowych. Ze względu na saprotroficzny tryb życia patogena i słabe zdolności pasożytnicze rozwija się przed zbiorem, na osłabionych roślinach w których naturalne mechanizmy odpornościowe przestały spełniać swoje funkcje. Grzyb może też stwarzać poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Z porażonych kłosów w trakcie zbioru zbóż uwalniane są zarodniki konidialne tego grzyba. Zarodniki *C. herbarum*, podobnie jak zarodniki *A. alternata* i *E. nigrum* są silnymi alergenami i mogą wywoływać reakcje alergiczne, na które szczególnie narażeni są pracownicy pracujący z porażonym ziarnem, np. podczas procesu suszenia.

Oprócz wymienionych wcześniej grzybów z rodzajów *Alternaria*, *Cladosporium* i *Epicoccum*, w uprawie polowej, a szczególnie w okresie przechowywania płodów rolnych występują grzyby z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*. Grzyby *Penicillium*

chrysogenum Thom, *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus niger* Tiegh., *Emericella versicolor* (Vuill.) Pitt & A.D. Hocking (syn. *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tirab. i *Aspergillus fumigatus* Fresen. żyją saprotroficznie w glebie, gdzie przekształcają i mineralizują materię organiczną (resztki roślinne, zwierzęce) i nieorganiczną [Hedayati i in 2007, El-Mahdy 2021]. W okresie przechowywania ziarna zbóż, nasion rzepaku w magazynach i silosach mogą prowadzić do ich psucia, powodując znaczne szkody gospodarcze. Grzyby z rodzaju *Aspergillus* są również niebezpieczne dla człowieka. *Aspergillus fumigatus* odpowiedzialny jest za zdecydowaną większość przypadków astmy alergicznej. Inne gatunki również mogą uczulać np. *A. niger*, *A. flavus*. Scharakteryzowano ponad 20 alergenów *A. fumigatus* i dwa z *A. flavus* [Mari i Riccioli, 2004]. Astma wywołana przez *A. flavus* może występować jako choroba zawodowa. Wiele raportów z Japonii [Hedayati i in 2007] wykazało, że narażenie pracowników na wysokie stężenia zarodników *A. flavus* podczas produkcji produktów sojowych może prowadzić do astmy. To samo zagrożenie dotyczy pracowników magazynów, silosów, suszarni zbóż, słodowni i innych miejsc gdzie w powietrzu mogą znajdować się duże ilości zarodników grzybów uczulających. Gatunki *Aspergillus* spp. stanowią też znaczne ryzyko dla osób o obniżonej odporności. Najczęstszymi miejscami zakażeń tymi grzybami są drogi oddechowe, jednakże możliwe jest rozprzestrzenienie się go na układ nerwowy, nerki, serce czy układ pokarmowy. WHO [2022] podaje, że *A. fumigatus* jest najczęściej izolowanym gatunkiem od pacjentów i cechuje się wysoką infekcyjnością. Jest to grzyb termotolerancyjny, mogący przetrwać w temperaturze do 70°C. Zaliczany jest przez WHO do krytycznej grupy pod względem patogenności. Patogenne gatunki z rodzaju *Aspergillus* dla ludzi to: *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* (Eidam) G. Winter i *A. terreus* Thom [Powers-Fletcher i in. 2016].

Alergie to tylko jedno z zagrożeń płynących z obecność grzybów strzępkowych w najbliższym otoczeniu człowieka. W ostatnich latach różnego rodzaju alergie przybrały masową skalę, że można je uznać za narastający problem XXI wieku. Już ok. 25% populacji cierpi na alergie oczu, z tego 80% przed 30 rokiem życia. Alergia na zarodniki grzybów strzępkowych stanowi jedną z najczęstszych alergii wziewnych. Może również zwiększać ryzyko wystąpienia astmy. Zarodniki grzybów unoszące się w powietrzu, szczególnie latem w okresie zbioru zórz i rzepaku są jedną z podstawowych grup uznawanych za alergeny inhalacyjne. Alergeny grzybów to najczęściej białka wydzielnicze, cytoplazmatyczne lub strukturalne. Większość białek należy do klas: proteaz, glikozydaz, białek wydzielania, białek odpowiedzi na stres czy białek

glukoneogenezy. Reaktywność krzyżowa pomiędzy alergenami grzybów może skutkować otrzymaniem wyników fałszywie dodatnich w testach uczuleniowych, co może przyczyniać się do zaostrzenia objawów alergii. Spektrum nadwrażliwości wywołanej przez grzyby jest bardzo szeroka. Oprócz alergii typu I, która zależna jest od immunoglobuliny IgE grzyby wywołują reakcje typu II, III, IV. Kliniczną cechą reakcji alergicznej organizmu jest produkcja swoistych przeciwciał IgE skierowanych przeciwko konkretnemu alergenowi. Uczulenie zależne od grzybów najczęściej objawia się alergicznym nieżytem nosa, zapaleniem zatok, napadowym kichaniem, alergiczną astmą, swędzeniem spojówek, czy atopowym zapaleniem skóry [Rick i in. 2016]. Jednym z takich grzybów alergizujących jest też *Chaetomium globosum* Kunze. Jest to organizm saprotroficzny, który bytuje przede wszystkim w glebie, słomie i odchodach zwierząt. Zarówno strzępki oraz zarodniki *Ch. globosum* zawierają antygeny indukujące produkcję przeciwciał IgE i IgG u alergików. Chociaż wzrost poziomu IgE jest przejściowy, podwyższone poziomy IgG utrzymują się we krwi długi czas. Ten stan może prowadzić do astmy nieatopowej, zapalenia zatok i układu oddechowego zwłaszcza u osób narażonych na długotrwały kontakt z grzybnią lub zarodnikami *Ch. globosum* np. mieszkańców budynków skażonych grzybami [Hussein i in. 2020]

Spośród szacunkowej liczby 6 milionów gatunków grzybów występujących na świecie część jest uważana za grzyby chorobotwórcze dla ludzi [Powers-Fletcher i in. 2016]. Od kilkunastu lat obserwowany jest rosnący trend w liczbie zakażeń grzybiczych wśród ludzi na całym świecie. Szacuje się, że około miliard ludzi zмага się z powierzchniowymi infekcjami grzybiczymi, obejmującymi paznokcie, włosy czy skórę. Zakażenia grzybicze są szczególnie niebezpieczna u osób chorych z obniżoną odpornością i po przeszczepach narządów a także chorych na AIDS i z nowotworami [Salah i in. 2022]. Grzyby posiadają zdolność do wywoływania chorób u osób immunokompetentnych i immunosupresyjnych. Większość chorobotwórczych grzybów strzępkowych odpowiedzialnych za wywoływanie chorób u ludzi uznawana jest za mikroorganizmy oportunistyczne [Powers-Fletcher i in. 2016]. Sposób wzrostu grzybów jest też jednym z czynników warunkujących potencjalną zjadliwość patogennych grzybów. Badania Salah i in. [2022] wykazały, że zarówno tworzenie biofilmu przez grzyby, jak i atakowanie bezpośrednie tkanek gospodarza przyczyniają się do rozwoju chorób.

Grzyby strzępkowe stanowią obszar zainteresowania w medycynie. Infekcje grzybicze są jednymi z najtrudniejszych do opanowania chorób na świecie ze względu

na oporność grzybów na znaczną część antymykotyków. Większość grzybów strzępkowych wywołujących infekcje należy do patogenów oportunistycznych. W przeszłości infekcje wywoływane były głównie przez drożdżaki *Candida* spp., jednak w ciągu kilkunastu ostatnich lat obserwuje się wzrost zakażeń grzybami dymorficznymi, które mogą przyjmować zarówno formy nitkowate, jak i kuliste (*Coccidioides* spp., *Blastomyces* spp., *Histoplasma* spp. i *Paracoccidioides* spp.), a także grzyby strzępkowe należące do *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. czy klasy *Zygomycetes* [Cighir i in. 2023].

3.2. Rośliny i zawarte w nich związki aktywne

Szacuje się, że na Ziemi żyje około 500 tysięcy gatunków roślin z czego tylko część konsumowana jest przez ludzi i zwierzęta. Odkrycie, iż surowce roślinne zawierają biologicznie aktywne związki okazało się kluczowe dla rozwoju branży farmaceutycznej, spożywczej i rolniczej. Biologicznie aktywne związki znajdujące się w roślinach mogą odgrywać kluczową rolę w ograniczaniu rozwoju patogenów. Udowodniono, że niektóre ze związków aktywnych zawartych w roślinach nawet w niewielkich ilościach wpływają pozytywnie na zdrowie ludzi i zwierząt [Szosland-Faltyn i in. 2016].

Roślinne związki bioaktywnie czynne powstają w roślinach na skutek przemian metabolicznych. Substancje te mogą być syntetyzowane jako metabolity pierwotne lub wtórne. Związki bioaktywne określane jako metabolity pierwotne są powszechne dla roślin i mają charakter podstawowy, gdyż pełnią kluczowe funkcje w utrzymaniu procesów fizjologicznych roślin a także stanowią źródło energii. Do grupy tej zalicza się aminokwasy, węglowodany, lipidy i nukleotydy. Związki aktywne będące metabolitami wtórnymi są unikalne dla roślin i nie pełnią podstawowych funkcji fizjologicznych, lecz służą do ochrony rośliny przed innymi organizmami. Do grupy związków bioaktywnych jako metabolitów wtórnych zalicza się hormony, związki sygnałowe, allelozwiązki i inne [Chandran i in. 2020]. Ze względu na zróżnicowaną budowę chemiczną, szlaki metaboliczne, które prowadzą do ich powstania oraz funkcje biologiczne, związki bioaktywnie czynne klasyfikowane są według zróżnicowanych kryteriów na grupy. Jednym z popularniejszych kryteriów jest podział zaproponowany przez Croteau w 2000 roku, który dzielił je na trzy kategorie: terpeny i terpenoidy, alkaloidy oraz związki fenolowe [Stuper-Szablewska i in. 2020].

Do grupy związków bioaktywnie czynnych pochodzenia roślinnego o najistotniejszym znaczeniu zalicza się: glikozydy, alkaloidy, terpeny, polifenole,

saponiny, garbniki, lignany, śluzy, żywice, kwasy organiczne. Związki te oddziałują również przeciwgrzybiczo, antybakteryjnie, przeciwtleniająco czy immunomodulacyjnie [Zhao i in. 2017].

Rośliny wytwarzają szeroką gamę biologicznie czynnych substancji w tym związków o charakterze przeciwgrzybiczym i antybakteryjnym. Peptydy antybakteryjne wytwarzane są dopiero w odpowiedzi na infekcje patogenów, gdyż jest to proces kosztowny energetycznie dla rośliny. Defensyny roślinne zaliczane są do jednych z najlepiej scharakteryzowanych peptydów antybakteryjnych. Związki te zostały określone mianem defensyn ze względu na strukturalną i funkcjonalną homologię roślinnych peptydów do ludzkich i owadzych defensyn. Defensyny roślinne najczęściej zbudowane są z jednej helisy α i trzech antyrównoległych nici β , które połączone są 4 wiązaniami disiarczkowymi. Mimo iż, defensyny roślinne posiadają wspólną strukturę trzeciorzędową, to istnieje duża zmienność w sekwencjach aminokwasów a także długości peptydów, co wpływa na zmienność aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Ze względu na ich silne działanie przeciwgrzybicze, defensyny roślinne są wykorzystywane w rolniczych zastosowaniach biotechnologicznych do generowania upraw odpornych na choroby [Sathoff i Samac 2019]. Działanie antybakteryjne defensyny roślinnej nie jest aktualnie dobrze poznane, jednakże dotychczasowe badania *in vitro* wskazują, że peptydy mogą wiązać się z DNA i wpływać na hamowanie replikacji DNA lub translokacji genów drobnoustrojów. Mechanizm działania defensyn może opierać się również na indukcji przepuszczalności błony komórkowej bakterii, co wpływa na morfologię komórek, powodując śmierć komórkową *Ensifer meliloti* (Dangeard) Young, (syn. *Sinorhizobium meliloti* Dangeard. Defensyny roślinne mogą stanowić w przyszłości rezerwuar substancji biologicznie czynnych o charakterze antybakteryjnym i antygrzybiczym [Sathoff i Samac 2019].

Roślinne substancje o działaniu przeciwdrobnoustrojowym należą do takich grup związków jak: garbniki, olejki eteryczne, surowce śluzowe i glikozydy saponinowe. Garbniki należą do grupy polifenoli o masie cząsteczkowej w zakresie 500-30 000 kDa. Są jedną z grup związków roślinnych o korzystnym działaniu zdrowotnym. Garbniki można wyizolować z takich roślin, jak: kasztanowiec, klon, akacja, dąb, eukaliptus czy z owoców żurawiny, jeżyny. Odgrywają one znaczącą rolę w mechanizmach obronnych roślin wobec drapieżników, owadów jak i patogenów. Garbniki hamują wzrost drobnoustrojów bakteryjnych, grzybiczych w tym drożdży. Wzrost bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych oraz grzybów jest hamowany

przez garbniki, jednakże większość związków wykazuje działanie bakterio- i fungistatyczne niż bójcze. Badania wykazują, że garbniki hamują wzrost mikroorganizmów za pomocą zróżnicowanych mechanizmów do których zalicza się m.in. chelatację żelaza, hamowanie syntezy składników ściany komórkowej, zakłócanie przepuszczalności błony komórkowej a także hamowanie szlaków syntezy kwasów tłuszczowych. Garbniki mogą wpływać na ekspresję genów warunkujących wirulencję (biofilmy, enzymy, adhezyny, ruchliwość bakterii) [Farha i in. 2020].

Olejki eteryczne to grupa środków pochodzenia roślinnego, która została szeroko zbadana pod kątem wykazywania działania na mikroorganizmy. Do olejków eterycznych wykazujących działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze zalicza się olejki uzyskiwane m.in.: z eukaliptusa, mięty, kuminu, lawendy, rozmarynu. Aktywność antybakteryjną olejków eterycznych przypisuje się w znacznej mierze zawartości terpenów. Ze względu na zróżnicowanie budowy chemicznej terpenów cechują się one różnymi mechanizmami oddziaływania. Mechanizm oddziaływania na mikroorganizmy może być powiązany z interakcjami ze składnikami wchodzącymi w skład błony komórkowej, wywoływania polaryzacji błony i przyczyniania się do jej pęknięcia a także poprzez zakłócanie procesów związanych z syntezą DNA. Olejek uzyskiwany z drzewa herbacianego jest uznawany za jeden z najpopularniejszych olejków eterycznych o działaniu przeciwgrzybiczym i antybakteryjnym [Alvarez-Martinez i in. 2021].

Saponiny to jedna z grup bioaktywnych substancji, która ceniona jest ze względu na pozytywne i różnorodne działanie biologiczne. Saponiny to klasa związków amfifilowych o dużej masie cząsteczkowej, zawierające w budowie część cukrową oraz aglikonową, powiązanych wiązaniem glikozydowym. Jest to niejednorodna grupa metabolitów wtórnych roślin dzieląca się na dwie grupy: saponiny steroidowe i saponiny terpenoidowe. Saponiny występują zarówno w gatunkach roślin uprawnych (szpinak, soja, komosa ryżowa, cebula, owies, herbata), jak i w roślinach dzikich [Zaynab i in. 2021]. Saponiny wiążą się z cholesterolem wewnątrz komórki, tworząc kompleks saponina-cholesterol, który ostatecznie powoduje lizę komórek. Saponiny wiążą się również z błoną zewnętrzną i wywołując zaburzenia w przepuszczalności błon a także wpływają na zwiększenie produkcji lizozymu [Khan i in. 2018]. Wysokie stężenie różnego rodzaju substancji bioaktywnych wykazujących zróżnicowane działanie funkcjonalne u roślin, w tym substancji antybakteryjnych może stanowić źródło do pozyskania nowych związków o znaczeniu klinicznym.

Badania wykazują, że około 44 gatunki roślin wyróżniają się silnym działaniem wobec mikroorganizmów. Rośliny te należą do siedmiu rodzin: *Lamiaceae* (Jaskrowate), *Fabaceae* (Bobowate), *Lamiaceae* (Astrowate), *Myrtaceae* (Mirtowate), *Anacardiaceae* (Nanerczowate), *Rubiaceae* (Marzanowate) i *Apiaceae* (Selerowate) [Chassagne i in. 2021]. Wśród przedstawicieli rodziny jaskrowatych wyróżnić można kilka gatunków roślin o bardzo silnych właściwościach antybakteryjnych: rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis* L., lebidka pospolita = oregano (*Origanum vulgare* L.), słodki majeranek (*Origanum majorana* L.), tymianek czerwony (*Thymus zygis* L.), tymianek właściwy (*Thymus vulgaris* L.), mięta pieprzowa (*Mentha x piperita* L.), bazylika pospolita (*Ocimum basilicum* L.). Rośliny te bogate są w monoterpeny, takie jak: karwakrol, tymol, α -terpineol, α -terpinen, γ -terpinen, terpinen-4-ol, które działają synergistycznie, co wpływa na zwiększenie ich skuteczności przeciwdrobnoustrojowej w porównaniu do siły pojedynczych związków [Chassagne i in. 2021].

Lukrecja gładka (*Glycyrrhiza glabra* L.) to roślina szeroko stosowana w lecznictwie. Działanie antygrzybiczne i antybakteryjne lukrecji przypisywane jest głównie flawonoidom w tym glabrydynie. Badania dowodzą, że ekstrakt metanolowy pozyskiwany z łodygi lukrecji wykazuje, że jej minimalne stężenie hamujące (MIC) wynosi $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ przeciwko *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula, [Chakotiya i in. 2016]. Podczas gdy ekstrakt etanolowy z korzenia wykazał MIC na poziomie $62,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ przeciwko *Streptococcus pyogenes* Rosenbach i $31,5$ przeciwko dermatofitowi *Candida albicans*. Inne gatunki o podobnych właściwościach należące do tej rodziny to *Albizia myriophylla* Benth., *Vachellia karroo* (Hayne) Banfi & Galasso (syn. *Acacia karroo* Hayne), *Alantsilodendron pilosum* Villiers (syn. *Dichrostachys cinerea* R. Vig.) [Wijesunara i Rupasinghe 2019].

Liście eukaliptusa gałkowego (*Eucalyptus globulus* Labill.) wykorzystywane są do utrzymywania olejku eukaliptusowego, który został zatwierdzony do użytku przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) i znajduje się w składzie wielu preparatów leczniczych. Główne związki bioaktywnie czynne odpowiedzialne za działanie antybakteryjne i przeciwgrzybicze rośliny to eukaliptol i α -pinen. Ekstrakt etanolowy uzyskiwany z liści wykazuje wartości MIC odpowiednio 125 i $250 \mu\text{g ml}^{-1}$ przeciwko *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann & Neumann i *Mycobacterium ulcerans* MacCallum et al. [Tsouh Fokou i in. 2016]. Badania dowodzą, że liście eukaliptusa hamują wzrost również, takich bakterii jak: *Escherichia coli* (Migula) Castellani & Chalmers., *Streptococcus iniae* Pier & Madin i *Staphylococcus*

aureus Rosenbach [Thielmann i in. 2019]. Badania Aali [2013] wykazały również wysoką skuteczność olejków z eukaliptusa w redukcji wzrostu grzybów z rodzaju *Aspergillus*, w tym *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*.

Pospolicie występujące chwasty są również roślinami o potencjalnym działaniu przeciwgrzybicznym i przeciwbakteryjnym. Owies głuchy należący do rodziny traw (*Poaceae*) jest rośliną jednoroczną uznawaną za uciążliwy chwast głównie w zbożach jarych, jego ziarniaki dojrzewają szybciej niż ziarna zbóż, przez co osypuje się, a jego nasiona zasilają glebowy bank nasion. Jest to roślina blisko spokrewniona z owsem siewnym, z którym może tworzyć mieszańce [Koroluk i in. 2022]. W mechanizmie biernej odporności przed patogenami owsa głuchego biorą udział produkowane przez tę roślinę saponiny. Są to awenacyna A-1 i B-1 należące do saponin triterpenowych oraz awenokozyd A i B – saponiny steroidowe. Awenacyna kumulowana jest głównie przez korzenie roślin i jest ona związkiem aktywnym. Awenokozyd natomiast znajduje się w nadziemnych częściach rośliny i jest nieaktywny, zostaje aktywowany w wyniku uszkodzenia tkanek wywołanego np. przez patogeny [Płażek 2011]. Dzięki zawartości tych związków owies może wykazywać potencjalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, co nie było do tej pory obszarem zainteresowań naukowców.

Rodzaj *Artemisia* jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych i największych rodzajów z rodziny *Asteraceae* Dumort, obejmującym około 500 taksonów. Wiele gatunków z tego rodzaju rośnie w Afryce Północnej, Ameryce Północnej i Środkowej oraz Eurazji. *Artemisia vulgaris* Linn., powszechnie znany jako bylica pospolita, jest kłączową wieloletnią byliną i jest szeroko stosowana w leczeniu niestrawności, bólów reumatycznych, gorączki, biegunki, pasożytów, wymiotów, zaparć, skurczów, kolki, wzdęć, problemów menstruacyjnych, poprawiające krążenie oraz jako środek uspokajający. W naszych warunkach klimatycznych jest chwastem ruderalnym [Malik i in. 2019, Aulakh 2020]. Olejki eteryczne z tej rośliny stosuje się ze względu na ich właściwości przeciwskurczowe, wiatropędne, przeciwpasożytnicze, przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwracze i owadobójcze. Aktywność biologiczną tych olejków eterycznych przypisuje się głównie związkom lotnym, takim jak: α -pinen, kamfora, kariofilen, kamfen, germakren D, 1,8-cyneol i α -tujon. Analiza GC/MS olejku eterycznego z liści *Artemisia vulgaris* wykazała obecność 38 związków, z których głównymi oprócz wymienionych wyżej są izopulegol, borneol, β -kariofilen, chavicol i myrtenol. Pod tym względem różne genotypy bylicy rosnące w różnych regionach

geograficznych wykazywały zróżnicowany udział składników [Malik i in. 2019, Munda i in. 2019].

Solanum nigrum L., należący do rodziny *Solanaceae* Juss., jest powszechnie znany jako psianka czarna i uznawany za uciążliwy chwast segetalny. Roślina ta pochodzi z regionu Eurazji i została sprowadzona do obu Ameryk, Australazji i Południowej Afryki [Zhang i in. 2022]. Związkami oznaczonymi w *S. nigrum* są alkaloidy (solanina, soladulcyna, solasodyna, chakonina), saponiny steroidowe, żywice, oleje terpenowe m.in. barwniki: brązowy, zielony, niebieski. Roślina ta jest bardzo bogata w składniki odżywcze, minerały, witaminę C i białka [Mandal i in. 2023]. Psianka czarna jest uważana za roślinę trującą ze względu na wysoką zawartość solaniny [Mohy-ud-dint i in. 2010]. Spożywanie psianki może prowadzić do zaburzeń układu oddechowego, krążenia i przewodu pokarmowego (biegunka, nudności, wymioty). W tradycyjnej medycynie psiankę używano do leczenia ran, wrzodów i biegunek oraz jako lek na bóle zębów i krwotoki z nosa. Niektórzy ludzie nakładają psiankę czarną bezpośrednio na skórę w przypadku łuszczycy, hemoroidów i głębokimi infekcjami skóry (stany ropnie). Nie ma wystarczających informacji, aby stwierdzić, czy psianka czarna może działać jako lek. Jej skład wskazuje jednak na duży potencjał bioaktywny tej rośliny [Mandal i in. 2023].

Współczesne agroekosystemy znacznie zmieniają produkcję specyficznych metabolitów wtórnych, m.in. u roślin ekspansywnych, które agresywnie zdomowały się w nowych siedliskach. Poziom metabolitów wtórnych w takich roślinach często jest silnie uzależniony od dostępności azotu w glebie. Rośliny rosnące na siedliskach ubogich w przyswajalność azot wytwarzają związki zawierające węgiel, cukry i inne związki niezawierające azotu, w tym terpenoidy, fenole, niektóre pigmenty i witaminy [Gould i Lister 2006, Wu i in. 2007]. Jednak w intensywnie zagospodarowanych siedliskach uprawnych zasobnych w przyswajalny azot, metabolizm roślin jest zmieniony w kierunku produkcji związków azotu, takich jak wolne aminokwasy, białka i alkaloidy [Brandt i in. 2001]. Wpływ na produkcję metabolitów roślin mogą mieć także czynniki abiotyczne, w tym temperatura, dostępność wody, stosowanie pestycydów lub zanieczyszczenie metalami ciężkimi. Dlatego te same gatunki rosnące w innych warunkach mogą różnić się obecnością wspomnianych metabolitów [Niinemets 2016].

Echinocystis lobata (Michx.) Torr. et A. Gray jest gatunkiem naturalizowanym, występującym w środkowej i południowej Europie i Ameryce Północnej najczęściej na

glebach wilgotnych, w lasach i terenach otwartych. Jest to gatunek inwazyjny, samoistny we florze wielu krajów europejskich, w tym Polski. Jednocześnie jest to gatunek, który jest używany w etnomedycynie na bóle głowy lub przy zaburzeniach miesiączkowania, reumatyzmie, dreszczach, chorobach nerek lub problemach żołądkowych. Jest on słabo poznany pod kątem obecności związków aktywnych. Istniejące badania powołują się na obecność flawonoidów: kwercetyny i pochodnych izoramnetyny [Ielciu i in. 2018]. Inne badania mówią o obecności izokwercytryny, rutyny, kemferolu, kwasu p-kumarowego i ferulowego, przy czym kwercetyna była stwierdzona jedynie w próbce pobranej pod koniec okresu wegetacji [Ielciu 2017, 2018]. Słowackie badania [Vinogradova i in. 2021] wykazały, że suszone owoce zawierają więcej flawonoidów niż nasiona, a ich zawartość różni się w zależności od populacji. Wyniki wykazały, że *E. lobata* może być dobrym źródłem naturalnych przeciwutleniaczy i chociaż jest to gatunek mało zbadany, wykazuje duży potencjał jako roślina lecznicza.

Solidago canadensis L. (Asteraceae), powszechnie znany jako nawłóć kanadyjska, to wieloletnia roślina kłaczowa pochodząca z Ameryki Północnej. Jest szeroko rozpowszechniona w Azji (Chiny, Rosja, Japonia, Tajwan), Europie i Australii, gdzie uważana jest za chwast inwazyjny. Jeśli chodzi o metabolity wtórne, kilka grup związków dominuje w gatunkach z rodzaju *Solidago*, głównie flawonoidy, fenolowe kwasy, diterpeny, saponozydy i olejki eteryczne. W niektórych publikacjach opisano charakterystykę chemiczną olejków eterycznych *S. canadensis* w szczególności germakren D, α -pinen i limonen zostały zidentyfikowane jako związki dominujące. Główne składniki *S. canadensis* stosowane są w fitoterapii w leczeniu przewlekłego zapalenia nerek, zapalenia pęcherza moczowego, kamicy nerkowej, reumatyzmu oraz jako lek przeciwzapalny. Różne rodzaje ekstraktów *S. canadensis* z części nadziemnych i podziemnych przetestowano pod kątem ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Szczególnie α -pinen, germakren D i 6-epi-b-cubeben mogą przyczyniać się do ograniczania rozwoju *Listeria monocytogenes* (Murray et al.) Pirie i *Staphylococcus aureus* Rosenbach. Powszechne stosowanie ekstraktu z nawłoci jako leku ziołowego ze względu na jego działanie przeciwutleniające zachęca do badania jego działania przeciwdrobnoustrojowego, gdzie zawarte związki mogą przyczynić się do szybkiego zniszczenia ściany komórkowej mikroorganizmów i zwiększenia przepuszczalności komórek, co prowadzi do śmierci komórki [Benelli i in. 2019, Elshafie i in. 2019].

Reynoutria sachalinensis (F. Schmidt) Nakai z rodziny *Polygonaceae* L., pochodzi z Sachalinu, Wysp Kurylskich, Korei, Tajwau, Chin i Japonii. Ze względu na zamieszanie w taksonomii, roślina ta ma kilka nazw nomenklaturowych, m.in. najbardziej znanym z nich jest rdestowiec sachaliński lub rdest olbrzymi (*Polygonum sachalinensis* F. Schmidt i *Fallopia sachalinensis* (F.Schmidt) Ronse Decr.). Roślina została sprowadzona do Europy w XIX wieku ze względu na szybkie rozprzestrzenianie się i odporność wobec niekorzystnych czynników środowiskowych *R. sachalinensis* stał się rośliną inwazyjną. Stanowi zagrożenie dla rodzimej fauny i flory ze względu na zdolność do wytwarzania substancji hamujących wzrost innych roślin. Dziś często można znaleźć ten chwast wzdłuż dróg, w pobliżu torów kolejowych i opuszczonych budynków. Uprawiany jest też jako roślina ozdobna, pastewna i miododajna. Według danych literaturowych wszystkie części *R. sachalinensis* gromadzi olejki eteryczne i sterole, korzenie – antrachinony (emodyna, reina, citreroseina, falacinol, wanikozydy A i B), korzenie, łodygi i liście – procyjanidyny, katechiny, epikatechinę, kwas chlorogenowy i kawowy, a także chlorofile i karotenoidy (α - i β -karoten, β -kryptoksantyna, ksantofil, luteina, zeaksantyna) kwiaty – flawonoidy i polifenole: luteolina, kwercetyna, kemferol i resweratrol. Pomimo swojego inwazyjnego charakteru jest powszechnie stosowany w fitoterapii. Jadalny korzeń jest używany w Korei do produkcji napojów. Ziele jest również wykorzystywane w celach leczniczych, choć rzadziej. Jego spożycie może mieć szerokie spektrum działania: neuroleptyczne (choroba Alzheimera), przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, antymutagenne, przeciwalergiczne. Hamują także gromadzenie się trójglicerydów i cholesterolu w wątrobie. Roślina ta ma również potencjał hamowania boreliozy [Nawrot-Hadzik i in 2019, Lachowicz i Oszmiański 2019, Nawrot-Hadzik i in 2020, Yasir Hussain Alrikabi i in. 2021].

Helianthus tuberosus L. nazywany topinamburem (rodzina *Asteraceae*) jest inwazyjnym, wieloletnim gatunkiem chwastu pochodzącym z Ameryki Północnej i został wprowadzony do Europy i Azji jako roślina uprawna. Gatunek ten jest uprawiany w Europie, Azji i wielu innych regionach świata [Laiva i in 2021]. Topinambur ma wiele zastosowań ponieważ zarówno nadziemna, jak i podziemna część rośliny zawiera różne składniki chemiczne, takie jak białka, glukoza, fruktoza, sacharoza i inulina. Badania wykazały, że topinambur ma wiele pozytywnych właściwości wpływ na zdrowie ze względu na swoje właściwości przeciw otyłości, przeciwcukrzycowe, przeciwwłóknieniowe i przeciwzapalne [De Santis i Frangipane 2018]. *Helianthus*

tuberosus, znany również jako karczoch jerozolimski, ma szerokie zastosowanie w medycynie ze względu na swoje działanie farmakologiczne, takie jak: działanie przeciwbólowe, przeciwgorączkowe, przeciwzapalne, przeciwskurczowe, przyśrodkowe, żółciopędne, moczopędne, spermatogenne, żołądkowe i tonizujące. Związkami aktywnymi w *H. tuberosus*, które wywołują takie efekty, są: kumaryny, nienasycone kwasy tłuszczowe, pochodne poliacetylenowe, związki fenolowe, seskwiterpeny itp. [Sawicka i in 2020]. Fenole, głównie flawonoidy, są związkami bioaktywnymi o możliwym działaniu przeciwgrzybiczym na fitopatogenne grzyby. Wcześniejsze badania wykazały, że surowe ekstrakty (CE) z liści topinamburu, główne związki fenolowe [w tym kwas kawowy (CA) itp.] wykazują działanie przeciwgrzybicze przeciwko fitopatogennym grzybom, takim jak: *Phytophthora capsici* Leonian i *Rhizoctonia cerealis* D.I. Murray & Burpee [Chen i in. 2020]

Cistu incanus L., należący do rodziny *Cisteceae* Juss. powszechnie znany jako czystek szary, uważany jest za doskonałe źródło przeciwutleniaczy dla przemysłu spożywczego i farmaceutycznego. Od 2010 roku Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) zaleca wodne napary z *C. incanus* jako naturalne źródło przeciwutleniaczy, które poprawiają status antyoksydacyjny organizmu i wspomagają układ odpornościowy [Bernecka i in 2022]. Ziele czystka zapewnia korzystne działanie przeciwbakteryjne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne i silnie chroniące żołądek. Wiele badań naukowych wykazało, że głównymi składnikami liści różnych gatunków czystka są związki polifenolowe z flawonoli, rodziny flawan-3-oli, takich jak katechiny, kwas galusowy, rutyna, aglikony flawonoidowe na bazie kwercetyny, kemferolu i mirycetyna. Powszechnie wiadomo, że zawartość związków fenolowych w roślinach jest głównie odpowiedzialna za ich działanie przeciwutleniające i zdolność wymiatania [Dimcheva i Karsheva 2018, Fecka i in. 2020, Gaweł-Bęben i in 2020] Badania nad działaniem wyciągów z czystka prowadzono głównie pod kątem jego właściwości leczniczych dla człowieka. Jednak liczne przykłady działania na drobnoustroje (antybakteryjne, antygrzybicze a nawet antywirusowe) wskazują, że istnieje potencjał dla jego wykorzystania w ochronie roślin [Rebensburg i in. 2016]. Lahcen i in. [2020] wykazali, że ekstrakt z czystka skutecznie hamuje wzrost *Coniophora puteana* (Schumach.) P. Karst., *Penicillium expansum* Link i *Aspergillus niger*.

Hyssopus officinalis L., powszechnie znany jako roślina lecznicza i należący do rodziny *Lamiaceae*, to dziko bardzo ważna wieloletnia roślina uprawiana w Azji, Europie i umiarkowanych regionach Ameryki [Tahir i in. 2018]. Roślina jest używana

od wieków w medycynie ludowej Indii do różnych celów, takich jak wiatropędny, wykrztuśny i przeciwkaszlowy. Był stosowany w leczeniu wielu chorób u pacjentów, takich jak wrzody, astma, żółtaczka, trąd, puchlina, zapalenie oskrzeli, POChP, cukrzyca, AIDS, infekcje bakteryjne i grzybicze jako lek ziołowy ze względu na mniej skutków ubocznych i większą skuteczność niż inna medycyna tradycyjna. Literatura [Fathiazad i Hamedeyazdan 2011, Kumar i in. 2023] donosi, że główne składniki biologicznie aktywne *H. officinalis* obejmują kilka związków polifenolowych, głównie flawonoidy (apigenina, kwercetyna, diosmina, luteolina) i ich glukozydy oraz związki fenolowe a także związki kwasu chlorogenowego, protokatechowego, ferulowego, syringowego, p-hydroksybenzoesowego i kawowego. Główne klasy związków chemicznych występujących w oleju eterycznym *H. officinalis* to bicykliczne monoterpény, monoterenoidy, acykliczne monoterpény, monoterenoidy fenolowe, monocykliczne monoterpény, monocykliczne seskwiterpény, trójcykliczne seskwiterpény, bicykliczne seskwiterpény, trójcykliczne seskwiterpény, nasycone węglowodory o prostym łańcuchu. Niektóre z głównych składników chemicznych obecnych w *H. officinalis* to β -pinen, α -pinen, 1,8-cyneol, apigenina, diosmina, kwas kawowy, kwas rozmarynowy, cis-pinokamfon, trans-pinokamfon, izo-pinokamfon, pinokarwon, które odpowiadają za jego różnorodne działanie farmakologiczne.

Mesembryanthemum crystallinum L. – przypołudnik kryształowy to sukulenty, halofit naturalnie występujący w basenie morza śródziemnego. Należy do rodziny *Aizoaceae* Martinov (przypołudnikowate) i w tradycji lokalnej jest to roślina lecznicza o właściwościach antyoksydacyjnych. Działa łagodząco i moczopędnie. Stosowany jest w leczeniu stanów zapalnych błon śluzowych płuc i dróg moczowo-płciowych. Liście stosuje się w leczeniu wodobrzusza, czerwonki oraz chorób wątroby i nerek. Może być stosowany zewnętrznie w celu złagodzenia swędzenia, bólu, obrzęku i zaczerwienienia skóry [Bouftira i in. 2009, Kang i Joo 2023]. Przypołudnik kryształowy jest dobrze znane ze swojej enzymatycznej aktywności przeciwutleniającej betacyjaniny i innych flawonoidów, które mogą usuwać reaktywne formy tlenu Ponadto roślina ta posiada zdolność do szybkiego gromadzenia fitochemikaliów i metabolitów wtórnych, takich jak: beta-karoten, pinitol, betacyjanina, związki fenolowe i koniugaty flawonoli [Weeplian i in. 2018]. Cechą charakterystyczną rośliny jest to, że tworzy komórki pęcherzykowe na powierzchni liści i łodyg. Komórki te mają przydatne dla ludzi składniki fitochemiczne, takie jak: związki fenolowe, mio-inozytol, pinitol i kilka

minerałów. Mio-inozytol bierze udział w różnych procesach komórkowych, w tym w kontroli wzrostu, transdukcji sygnału i odpowiedzi błonowej u roślin [Kim i in. 2021].

Agrimonia eupatoria L. (rzepik pospolity) to zioło z rodziny *Rosaceae* Juss., szeroko stosowane w medycynie tradycyjnej (ludowej) ze względu na swoje dobroczynne działanie. Do celów leczniczych wykorzystuje się najczęściej ziele rzepiku. Pod względem bioaktywności ekstrakty lub frakcje otrzymane z tego gatunku roślin wykazały m.in. właściwości przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwcukrzycowe, przeciwbólowe i przeciwzapalne. Jak dotąd dwa badania kliniczne z naparem *A. eupatoria* potwierdziły właściwości hepatoprotekcyjne, a także rolę ochronną w chorobach układu krążenia, zaburzeniach metabolicznych i cukrzycy [Malheiros i in. 2022]. Skład fitochemiczny *A. eupatoria* jest bogaty w kwasy fenolowe, flawonoidy i garbniki. Najczęściej identyfikowanymi związkami są astragalina, cynarozyd, hiperozyd, izokwercytryna, izowitekryna, rutyna, katechiny, procyjanidyna B3 i agrimonia [Al-Snafi 2015, Paluch i in. 2020, Malheiros i in. 2022].

3.3. Wykorzystanie naturalnych substancji w ochronie roślin

Biorąc pod uwagę ogromny potencjał metabolitów roślinnych a także badań przesiewowych możliwe jest wykorzystanie roślin w ochronie roślin oraz zdrowia ludzi i zwierząt, jako alternatywne źródło substancji aktywnych, o określonym i pożądanym działaniu. Oporność bakterii i grzybów na istniejące antybiotyki i fungicydy uznawana jest za element naturalnej adaptacji, prowadząca do przetrwania szczepów bakteryjnych.

W obliczu niedoboru skutecznych środków przeciwdrobnoustrojowych istnieje konieczność poszukiwania nowych substancji bioaktywnych, które mogłyby hamować namnażanie się bakterii i grzybów a przy tym obchodzić mechanizmy oporności. Metabolity z ziół, liści i owoców krzewów i drzew mogą być stosowane jako środki przeciwgrzybicze i antybakteryjne. Związki pochodzenia roślinnego wykazują możliwość tłumienia zjadliwości szczepów, synergizm z antybiotykami a także bezpośrednią aktywność przeciwdrobnoustrojową [Ahmadi i in. 2022].

Patogeny roślin przyczyniają się do znacznych szkód w rolnictwie, mogących sięgać od 10 do nawet 40% w zależności od uprawy, powodując ogromne straty ekonomiczne. Zarówno choroby, jak i szkodniki są głównymi problemami zrównoważonego rolnictwa na świecie. W celu ochrony roślin szeroko stosowane są pestycydy. Jednak z uwagi na ich szkodliwy wpływ na zdrowie ludzi a także stan

środowiska wprowadzane są regulacje, które ograniczają ich stosowanie do minimum [Savary i in. 2019].

Głównym powodem zainteresowania się ramnolipidami i lipopeptydami określanymi mianem biopestycydów w zwalczaniu chorób była ich biodegradowalność, przyjazność dla środowiska. Ramnolipidy należą do grupy glikolipidów wytwarzanych przez bakterie w tym *Pseudomonas* spp. i *Burkholderia* spp. Działanie ramnolipidów przeciwko patogenom roślinnym skoncentrowane jest przeciwko chorobotwórczym grzybom np. z rodzajów: *Botrytis*., *Alternaria*., *Pythium*., *Rhizoctonia*., *Fusarium*., *Phytophthora*., i *Plasmopara*. W związku na amfifilowy charakter ramnolipidy posiadają możliwość bezpośredniego reagowania z błonami plazmatycznymi drobnoustrojów. Sposób działania tych glikolipidów przeciwko grzybom wytwarzającym zarodniki polega na bezpośredniej lizie zoospor poprzez interpolację glikolipidów w błonach plazmatycznych. Ramnolipidy mogą również oddziaływać wobec komórek budujących grzybnię powodując ich destabilizację lub lizę [Crouzet i in. 2020).

Lipopeptydy to substancje wytwarzane przez bakterie i grzyby, głównie w postaci cyklicznej. Związki te składają się z ogonka lipidowego, który połączony jest z krótkim liniowym lub cyklicznym oligopeptydem. Lipopeptydy wykazują działanie antibakteryjne, cytotoksyczne i immunosupresyjne. Są to związki wykazujące silne właściwości biosurfaktantów wpływają na destabilizację błon komórkowych fitopatogenów. Związki te wpływają na zakłócenie procesu tworzenia się biofilmu bakteryjnego *Pseudomonas syringae* van Hall i *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. [Xiu i in. 2017]. Właściwości przeciwgrzybicze lipopeptydów powiązane są ze zdolnością do naruszania powierzchni i funkcjonowania błony komórkowej grzybów, co finalnie skutkuje wyciekaniem cytoplazmy z komórek i obumieraniem strzępek a także hamowaniem kiełkowania zarodników [Qian i in. 2016].

Chityna i chitozan to naturalnie występujące w środowisku związki, które wykazują potencjał w zastosowaniu ich w rolnictwie w zwalczaniu chorób roślinnych. Oba związki wykazują zarówno działania przeciwbakteryjne jak i przeciwgrzybicze a dodatkowo również przeciwwirusowe. W przypadku działania antywirusowego wykazano, że chitozan wpływa na hamowanie propagacji wirusów w roślinie. Poziom tłumienia infekcji wirusowej zależy od masy cząsteczkowej chitozanu. Związek ten hamuje również wzrost szerokiej gamy bakterii. Minimalne stężenie hamujące wzrost jest zróżnicowane w zależności od szczepu bakteryjnego ale wynosi od 10 do 1000

ppm. W przypadku grzybów minimalne stężenie hamujące wzrost waha się między 10 a 5000 ppm w zależności od gatunku patogennych grzybów. Badania dowodzą, że dodatek chitozanu do podłoża wpływa korzystnie na wzrost roślin a także działa zapobiegawczo w stosunku do niektórych chorób przenoszonych przez glebę. W pomidorach bezglebowych zgnilizna korzeni spowodowana przez *Fusarium oxysporum* Schltdl. została stłumiona przy użyciu chitozanu [Stasińska-Jakubas i Hawrylak-Nowak 2022]. Chitozan wykazuje oprócz potencjału zwalczania chorób roślin także potencjał przeciw owadom. Substancja wykazuje aktywność owadobójczą w stosunku do larw, które karmione były pokarmem z dodatkiem chitozanu. Antocyjany i fitoaleksyny wykazują działanie inhibitujące wzrost owadów poprzez wpływanie na ograniczenie przyswajania białek pokarmowych i hamowanie pracy enzymów trawiennych. Wykazują one również działanie repelentów, które po przekroczeniu dawki odstraszałającej wywołują śmierć owadów [Tlak Gajder i Dar 2021]. Metabolity wtórne zapewniają trwałe zwalczanie szkodników, dlatego też niektóre gatunki roślin mogą stanowić źródło potencjalnych substancji, które mogą mieć zastosowanie w zwalczaniu szkodników roślin przy tym będą przyjazne dla środowiska.

Ze względu na zakaz stosowania w wielu krajach syntetycznych pestycydów rolnictwo wymaga intensywnego poszukiwania naturalnych środków ochrony roślin przed szkodnikami, które będą biodegradowalne a także nie będą wpływać niekorzystnie na środowisko czy zdrowie ludzi. Utrata plonów w związku z inwazją roślinożernych owadów może wywołać straty nawet rzędu 15% upraw. [Lybrand i in. 2020]. Pyretryna wytwarzana przez wrotycz starcolistny (*Tanacetum cinerariifolium* (Trevis.) Sch. Bip.) stanowi naturalny insektycyd i bezpieczną alternatywę dla syntetycznych insektycydów. Związek ten, stanowiący wtórny metabolit roślinny stosowany był jako domowy środek owadobójczy już w XIX wieku. Naturalne pyretryny powodują śmierć owadów poprzez oddziaływanie na napięcie kanałów sodowych w układzie nerwowym owadów, co skutkuje ich trwałą aktywacją [Lybrand i in. 2020]. Alkaloidy roślinne, takie jak: chinina, kolchicina, ergolina, strychnina czy skopolamina mogą wpływać na przewodnictwo nerwowe u owadów, zaburzając funkcjonowanie błony komórkowej oraz cytoszkieletu, co przyczynia się do utraty kształtu przez komórki owadzie i wyciek cytoplazmy a w konsekwencji śmierć komórkową. Alkaloidy pirolizydynowe pośredniczą w obronie roślin przeciwko owadom jako repelenty pokarmowe. Wykazują one toksyczność dla drobnoustrojów jelitowych owadów roślinożernych. Najbardziej skuteczne alkaloidy pirolizydynowe to

jakobina i erucyfolina. Po przedostaniu się do organizmów szkodników związku z tej grupy alkaloidów ulegają przekształceniu w toksyczne pirole [Tlak Gajger i Dar 2021]. W przypadku większości drzew iglastych obrona przeciwko szkodnikom owadzi opiera się na związkach zaliczanych do terpenoidów i polifenoli, które magazynowane są w kanałach żywicznych ksylemu [Bpncat i in. 2020].

Największe światowe koncerny, takie jak: BASF, Bayer Crop Science czy Syngenta wykazują coraz większe zainteresowanie rynkiem biopestycydów. Spowodowane jest to kolejnymi zakazami w stosowaniu tradycyjnych pestycydów i koniecznością poszukiwania bezpieczniejszych alternatyw. Syngenta posiada rozbudowany dział produkcji pestycydów mikrobiologicznych [Azizbekyan 2019].

Dostępne na zagranicznych rynkach biopestycydy, to: Brandt Nema-Q (Brandt Consolidated) – preparat na bazie saponin, działający przeciwko nicieniom węzłów korzeniowych cytrusów i winorośli; Regalia MAXX (Marrone Bio Innovations) – zawierający ekstrakt z rdestowca sachalińskiego (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai), działający przeciwko grzybom i bakteriom atakującym pomidory, jabłonie, konopie; Timorex Gold (STK Stockton) – na bazie olejku z drzewa herbacianego, działa zakłócająco na ścianę komórkową grzybów, wykorzystywany do zwalczania plamistości liści truskawek, bananów i pomidorów; Cordalene (Agrichem) – preparat zawierający szczep *Bacillus thuringiensis* Berliner, wywołujący śmierć komórek jelita za pomocą toksyny Cry poprzez transdukcję sygnału u szkodników owadzi z rzędu *Lepidoptera* (motyle, łuskoskrzydłe), będących szkodnikami kukurydzy, trzciny cukrowej i soi; Daman (International Panaacea Ltd) – preparat zawierający szczep *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., działający na stadia larwalne i poczwarkowe owadów *Spodoptera* spp., żerujących na ryżu, kukurydzy i sorgo. Działanie oparte na hamowaniu wzrostu owadów i działaniu larwobójczym [Fenibo i in. 2022]. Stosowanie biopestycydów do zwalczania szkodników oraz chorób roślin jest obecnie dynamicznie rozwijającą się dziedziną.

4. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania nad wpływem wyciągów roślinnych prowadzone były w latach 2013-2017 w Katedrze Ochrony Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (w Zakładzie Fitopatologii i Mykologii oraz w Zakładzie Biogeochemii i Mikrobiologii Środowiskowej) we współpracy z Zakładem Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach. Badania dotyczące analizy chemicznej składu wyciągów z różnych organów psianki czarnej wykonano we współpracy z Katedrą Chemii Żywności i Biokatalizy oraz analizy aktywności biologicznej na kulturach komórkowych z Katedrą Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

4.1. Aktywność wybranych wyciągów roślinnych wobec *Sclerotinia sclerotiorum*

Celem badań była ocena działania przeciwgrzybiczego chwastów segetalnych (bylica pospolita - *Artemisia vulgaris* L., owies głuchy - *Avena fatua* L.) i roślin inwazyjnych (kolczurka klapowana - *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & A. Gray, nawłoc kanadyjska - *Solidago canadensis* L. rdestowiec sachalijski - *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, słonecznik bulwiasty - *Helianthus tuberosus* L.) wobec patogenu *Sclerotinia sclerotiorum*. Badania przeprowadzono we współpracy z Zakładem Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach.

4.1.1. Przygotowanie materiału roślinnego i ekstraktu do badań

Chwasty segetalne zebrano w sezonie letnim z pól uprawnych w Jelczu-Laskowicach należących do Zakładu Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu. Rośliny inwazyjne zebrano jesienią z nieużytków w południowej części Wrocławia (51.054387, 17.099201). Identyfikację roślin przeprowadzono za pomocą Flory Polski [Cieślak i in. 1995]. W zależności od rośliny do badań wykorzystywano liście, pędy, korzenie lub całe rośliny. Wykaz roślin wraz z badanym organem podano w tabeli 1.

W badaniach wykorzystano również owocniki podgrzybka brunatnego (*Imleria badia* (Fr.) Vizzini) – z rodziny borowikowatych (*Boletaceae* Chevall.). Wysuszone owocniki grzyba zostały zakupione w Fungopol Sp. z o.o. Sp.k. (Brusy).

Rośliny były zbierane w całości (korzenie i części nadziemne), a następnie przewożone do laboratorium Zakładu Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu. Po oczyszczeniu i wypłukaniu korzeni z gleby, w zależności od rośliny, zostały pozostawiane w całości lub podzielone na części nadziemne i korzenie. Materiał roślinny został pocięty na drobne fragmenty, następnie wysuszony (suszarnia szafka Nabertherm TR 450) w zakresie temp. 25-30°C przez 48 do 60 godzin, w zależności od wilgotności materiału. Wilgotność względna zmielonego materiału mierzona była wagosuszarką (Radwag WPS 210S) i wynosiła od 4 do 6%. Wysuszony materiał został zmielony (młynek rotacyjny IKA POL M20, firmy Werke), zabezpieczony w papierowej torebce z dokładnym opisem (nazwa gatunkowa, lokalizacja, data zbioru) i przechowywany w temp. 4°C do czasu wykonania analizy.

Wyciągi metanolowe z analizowanych roślin sporządzano zalewając 50 g sproszkowanego suszu roślinnego 150 ml metanolu o czystości 99,8% (POCH SA). Natomiast do przygotowania wyciągu z podgrzybka brunatnego użyto 100 g świeżych rozdrobnionych owocników i 100 ml metanolu. Całość wytrząsano na wytrząsarce rotacyjnej przez 60 minut. Następnie zawiesinę przesączano przez sączonek laboratoryjny z wykorzystaniem pompy próżniowej. Tak przygotowany wyciąg posłużył do dalszych etapów badań.

Tab. 1. Rośliny wykorzystane do oceny aktywności przeciwgrzybiczej wobec *Sclerotinia sclerotiorum*

Rodzina	Gatunek rośliny	Liście	Pędy	Korzenie	Całe rośliny
Chwasty segetalne					
Astrowate <i>Asteraceae</i> Dumort.	Bylica pospolita <i>Artemisia vulgaris</i> L.			+	+
Wiechlinowate <i>Poaceae</i> (R. Br.) Barnh.	Owies głuchy <i>Avena fatua</i> L.				+
Rośliny inwazyjne					
Dyniowate <i>Cucurbitaceae</i> Juss.	Kolczurka klapowana <i>Echinocystis lobata</i> (Michx.) Torr. & A. Gray				+
Astrowate <i>Asteraceae</i> Dumort.	Nawłóć kandyjska <i>Solidago canadensis</i> L.				+
Rdestowate <i>Polygonaceae</i> Juss.	Rdestowiec sachaliński <i>Reynoutria sachalinensis</i> (F. Schmidt) Nakai	+	+		
Psiankowate <i>Solanaceae</i> Juss.	Słonecznik bulwiasty <i>Helianthus tuberosus</i> L.	+	+		

4.1.2. Izolacja i identyfikacja grzyba *Sclerotinia sclerotiorum*

Grzyb *Sclerotinia sclerotiorum* został wyizolowany z korzeni marchwi pochodzących z przechowalni przedsiębiorstwa Carota sp. z o.o. z siedzibą w Bardzie Śląskim (ul. Przemysłowa 4, 57-256 Przyłęk), które miało problem z tym patogenem w okresie przechowywania marchwi. Z korzeni wykazujących objawy chorobowe w laboratorium Zakładu Fitopatologii i Mykologii Katedry Ochrony Roślin zostały wycięte korkoborem z pogranicza tkanki zdrowej i chorej fragmenty tkanki, które następnie pocięto na inokula. Inokula wykładano na szalki Petriego z podłożem PDA (Potato Dextrose Agar, Difco). Szalki inkubowano w temp. 28°C, a wyrastające kolonie grzyba reizolowano na skosy z pożywką PDA. Patogen został zidentyfikowany do gatunku na podstawie cech morfologicznych [Kora i in. 2005]. Do dalszych badań wyselekcjonowano szczep *S. sclerotiorum* Ss5 charakteryzujący się najlepszą dynamiką wzrostu i największym wigorem spośród wyizolowanych szczepów osiągający średnicę szalki po 5 dniach od inokulacji w temp. 25°C.

4.1.3. Badanie aktywności przeciwgrzybiczej wyciągów

Badania nad aktywnością przeciwgrzybiczą wyciągów z chwastów segetalnych i roślin inwazyjnych przeciwko *S. sclerotiorum* wykonano metodą zatrutego podłoża (Poisoned Food Technique) [Dhingra i Sinclair 2017]. Wyciągi wprowadzano do podłoża PDA, schłodzonego do temp. 55°C uzyskując stężenia 0,1% oraz 1%, następnie zatrute podłoże rozlewano na szalki Petri'ego. Po zestaleniu podłoża na środek płytki wykładano 7-dniowej kultury inokulum grzyba średnicy 10 mm. Po 24 godzinach inokula usunięto, aby zapobiec czerpaniu składników pokarmowych przez grzyba z krążka z pożywki PDA. Średnicę kolonii mierzono w odstępach 24 godz. z dokładnością do 1 mm do całkowitego przerośnięcia szalki. Kontrolę pozytywną stanowiły płytki bez metanolu, a negatywną z fungicydem (tiuram, 50 µg·ml⁻¹) Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach. Otrzymane wyniki z badań wyrażono jako współczynnik zahamowania wzrostu radialnego grzybni H [%] obliczonego na podstawie wzoru Abbota [Gleń i Boligłowa 2011]:

$$H = \frac{K_0 - F}{K_0} \times 100\%$$

gdzie:

H – współczynnik zahamowania rozrostu radialnego grzybni,

K_0 – średnica grzybni na szalce kontrolnej,

F – średnica grzybni na szalce zawierającej określone stężenia wyciągu roślinnego.

Wyliczono również współczynnik tempa wzrostu radialnego grzybni wg wzoru Abbota [Gleń i Boligłowa 2011]:

$$T = \frac{A}{D} + \frac{b_1}{d_1} + \dots + \frac{b_x}{d_x}$$

gdzie:

T – współczynnik wzrostu radialnego grzybni,

A – średnia z pomiarów średnicy grzybni [mm],

D – ilość dni od założenia kolonii od ostatniego pomiaru [mm],

b_1, b_x – przyrost średnicy grzybni od ostatniego pomiaru [mm],

d_1, d_x – ilość dni od ostatniego pomiaru.

Analizę istotności różnic pomiędzy wzrostem grzybni na pożywkach z dodatkiem wyciągów i bez dodatku wykonano po stwierdzeniu istotności różnic na podstawie przeprowadzonej jednoczynnikowej analizy wariancji testem HSD Tukey'a na poziomie istotności $p \geq 0,05$, za pomocą programu Statistica 13.0, firmy StatSoft.

4.2. Wpływ wyciągów roślinnych na wybrane grzyby strzępkowe – metoda zatrutego podłoża

4.2.1. Przygotowanie materiału roślinnego i ekstraktu do badań

Badaniami nad wpływem wyciągów metanolowych na grzyby strzępkowe zostały objęte pospolicie występujące chwasty, oraz zioła i rośliny lecznicze. Przeprowadzono je wspólnie z Zakładem Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu. Zebrane do doświadczenia rośliny to: owies głuchy – *Avena fatua* L., psianka czarna – *Solanum nigrum* L., rzepik pospolity – *Agrimonia eupatoria* L., czystek szary – *Cistus x incanus* L., przypołudnik kryształowy – *Mesembryanthemum crystallinum* L. i hyzop lekarski – *Hyssopus officinalis* L. Wykaz badanych roślin wraz z organem, z którego wykonano wyciąg podano w tabeli 2. Chwasty zostały zebrane w sezonie letnim z pól uprawnych (chwasty segetalne) lub ze stanowisk ruderalnych w fazie kwitnienia w Jelczu-Laskowicach. Przypołudnik kryształowy pochodził z uprawy doniczkowej z nasion otrzymanych z Departamento de Biología, Universidad de La Laguna z San Cristóbal de La Laguna na Teneryfie w Hiszpanii. Czystek szary został zakupiony w formie suszu

(*Plantago Bogdan Łukaszewicz*). Rośliny były poddane takiemu samemu procesowi jak w pkt 4.1.1.

Tab. 2. Gatunki roślin użyte w doświadczeniu do sporządzania wyciągów roślinnych

Rodzina	Gatunek rośliny	Całe rośliny
Pospolite chwasty		
Wiechlinowate <i>Poaceae</i> (R. Br.) Barnh.	Owies głuchy <i>Avena fatua</i> L.	+
Psiankowate <i>Solanaceae</i> Juss.	Psianka czarna <i>Solanum nigrum</i> L.	+
Różowate <i>Rosaceae</i> Juss.	Rzepik pospolity <i>Agrimonia eupatoria</i> L.	+
Ziola i rośliny lecznicze		
Czystkowate <i>Cistaceae</i> Juss.	Czystek szary <i>Cistus x incanus</i> L.	+
Jasnotowate <i>Lamiaceae</i> Lindl.	Hyzop lekarski <i>Hyssopus officinalis</i> L.	+
Pryszczynicowate <i>Aizoaceae</i> Martinov	Przypołudnik kryształowy <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L.	+

Wyciągi otrzymywano metodą ekstrakcji ciągłej, w temp. pokojowej. Ekstrakty sporządzono w proporcji 1:5 (1 część surowca : 5 części rozpuszczalnika). Jako ekstrahent zastosowano metanol 99,8% (POCH SA). Materiał roślinny po 24 godzinach od zadania rozpuszczalnikiem wytrząsano (125 rpm) przez 60 minut, a następnie odwirowano (MPW-260R, MPW) i przesączano przez sączek jakościowy (Pol-Aura sp. z o.o.) z wykorzystaniem pompy próżniowej (P4Z, Conbest). Następnie metanol odparowano (wyparka rotacyjna próżniowa RV 21M, Being) w temp. 40°C. Surowe ekstrakty były ważone, szczelnie zamykane w ciemnych, szklanych butelkach i przechowywane w temp. 4°C do czasu przeprowadzenia analiz.

4.2.2. Izolacja i identyfikacja grzybów strzępkowych

W badaniach wykorzystano szczepy fitopatogenów, takie jak: *Alternaria alternata* Aa14, *Botrytis cinerea* Bc7, *Cladosporium herbarum* Ch5, *Fusarium* spp. (*F. oxysporum* Fo10, *F. culmorum* Fc3, *Fusarium poae* Fp6, *F. graminearum* Fg11, *F. avenaceum* Fa15), *Rhizoctonia solani* Rs10, *Sclerotinia sclerotiorum* Sc9 oraz grzybów potencjalnie alergizujących i pleśni magazynowych: *Aspergillus flavus* Af1, *A. niger* An4, *A. versicolor* Av4, *Penicillium chrysogenum* Pc7.

Grzyby patogeniczne zostały wyizolowane z roślin, które spełniały podstawowe postulaty Kocha i wykazywały charakterystyczne objawy chorobowe. Patogena *A. alternata* wyizolowano ze strąków papryki z objawami alternariozy, *B. cinerea* z

owoców winorośli z szarą pleśnią, grzyby rodzaju *Fusarium* z podstawy źdźbła zbóż i kolb kukurydzy, *R. solani* z bulw ziemniaka z ospowatością bulw, *S. sclerotiorum* z korzeni marchwi ze zgnilizną twardzikową. Fragmenty porażonych roślin, z pogranicza tkanki zdrowej i chorej zostały odkażone w 0,5% podchlorynie sodu przez 1 minutę, a następnie pocięte na inokula, które wykładano na pożywkę PDA. Do badań wybrano szczepy charakteryzujące się najszybszym wzrostem na szalkach Petriego.

Pozostałe grzyby zostały wyizolowano z powietrza magazynu zbożowego z przechowywaną pszenicą ozimą w Łagiewnikach (50.792294, 16.849993), metodą zderzeniową (Air Ideal, Biomerieux) stosując podłoże PDA z antybiotykiem (tetracyklina $30 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Po inkubacji kolonie grzybów reizolowano na podłoże PDA. Kolekcję przechowywano na podłożu PDA, na skosach w temp. 4°C . Wyizolowane grzyby zostały zidentyfikowane do gatunku na podstawie dostępnych monografii: Raper i Fennell [1965], Ellis [1971, 1976], Nelson i in. [1983], Leslie i Summerell [2006], Watanabe [2010]. Do badań wybrano szczepy, które charakteryzujące się najszybszym tempem wzrostu.

4.2.3. Ocena aktywności przeciwgrzybiczej

Badania przeprowadzono w laboratorium Zakładu Fitopatologii i Mykologii Katedry Ochrony Roślin UP we Wrocławiu. Aktywność przeciwgrzybiczą zbadano stosując technikę zatrutego podłoża [Dhingra i Sinclair 2017]. Metanolowe ekstrakty rozpuszczono w 10% roztworze DMSO (dimetylosulfotlenek) i dodawano do upłynnionej pożywki PDA (schłodzonej do temp. 45°C) do uzyskania stężeń 50, 100, 250 i $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, dokładnie wymieszano i rozlewano na szalki Petriego. Na zestalone podłoże wykładano krążki (średnica 8 mm) badanych grzybów wycięte z brzegów 7-mio dniowej kolonii i umieszczone centralnie na podłożu. Codziennie mierzono wzrost radialny grzybni do czasu przerośnięcia płytki. Inkubację prowadzono w temp. 24°C . W badaniach kontrolę pozytywną stanowił rozpuszczalnik DMSO w odpowiednich stężeniach, kontrolę negatywną fungicyd tiuram (zaprawa nasienna T 75) w dawce 50, 100, 250 i $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i rozpuszczalnik oraz kontrola neutralna (czysta pożywka PDA). Wszystkie testy przeprowadzono w trzech powtórzeniach, w dwóch niezależnych seriach. Uzyskane wyniki wyrażono współczynnikiem tempa wzrostu radialnego (T) oraz współczynnikiem hamowania lub stymulacji (H) wzrostu kolonii. Współczynnik tempa wzrostu radialnego oraz współczynnik zahamowania wzrostu radialnego obliczono według wzorów Abbota [Gleń i Boligłowa 2011] podanych w pkt 4.1.3.

4.3. Wpływ wyciągów z psianki czarnej na grzyby strzępkowe, bakterie i drożdże

4.3.1. Przygotowanie materiału roślinnego i wyciągu

Materiał roślinny do sporządzania bioaktywnych frakcji metanolowych z różnych organów psianki czarnej (korzenie, część nadziemna, owoce) pozyskiwano z agrofitocenozy kukurydzy (Malin, 51.220534, 17.059176). Materiał roślinny zebrany w fazie owocowania został przygotowany analogicznie jak w pkt 4.2.1. Natomiast do sporządzenia wyciągu z owoców psianki czarnej wykorzystano świeży materiał, zaraz po zbiorze. Wilgotność owoców tej rośliny wynosiła 83%.

Ekstrakty metanolowe z różnych części psianki czarnej były przygotowane tą samą metodą ekstrakcji ciągłej co w doświadczeniu opisanym w pkt 4.2.1. Przygotowano je w laboratorium Zakładu Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu.

4.3.2. Ocena aktywności przeciwgrzybiczej

Do oceny działania przeciwgrzybiczego wyciągów z różnych organów psianki czarnej wykorzystano tę samą kolekcję grzybów, którą użyto w doświadczeniu opisanym w pkt 4.2.2. W badaniu wpływu wyciągów metanolowych z korzeni, części nadziemnych i owoców psianki czarnej na wybrane grzyby strzępkowe wykorzystano metodę zatrutego podłoża podobnie jak w pkt 4.2.3. Wyciągi zbadano w zakresie stężeń od 50 do 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

4.3.3. Ocena aktywności przeciwbakteryjnej

Ekstrakty metanolowe z *Solanum nigrum* przetestowano wobec szerokiego spektrum drobnoustrojów, w tym ziarniaków Gram-dodatnich: *Micrococcus luteus* PCM 1944 (ATCC 10240), *Staphylococcus aureus* PCM 2054 (ATCC 25923), *Staphylococcus pseudintermedius* PCM 2741, *Streptococcus agalactiae* PCM 2683, *Streptococcus canis* KW-Sac1, *Bacillus subtilis* PCM 1949 (ATCC 6633) oraz pałeczek Gram-dodatnich tworzących endospory: *Bacillus cereus* PCM 2019 (ATCC11778) i pałeczek Gram-ujemnych: *Escherichia coli* PCM 2057 (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* PCM 2058, *Serratia marcescens* PCM 501. W badaniach wykorzystano również patogeniczne dla roślin bakterie: *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora* IOR szczepy 1815 i 1822; *Pectobacterium atrosepticum* IOR 1825; *Erwinia chrysanthemi* IOR 1452 oraz drożdże: *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* KW-Cp1.

Szczepy te pochodziły z następujących kolekcji: PCM – Polska Kolekcja Mikroorganizmów (Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Wrocław), IOR – Kolekcja Kultur Patogenów Roślin Instytutu Ochrony Roślin (Poznań), KW – kolekcja własna Zakładu Biogeochemii i Mikrobiologii Środowiskowej Katedry Ochrony Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Hodowle bakterii utrzymywano na podłożu TSA (Tryptic Soy Agar, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), drożdży na podłożu PDA (Potato Dextrose Agar, Biocrop). Szczepy przechowywano na skosach w temp. 4°C.

Badania przeprowadzono w Zakładzie Biogeochemii i Mikrobiologii Środowiskowej Katedry Ochrony Roślin UP we Wrocławiu. Aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów metanolowych określono metodą dyfuzji krążkowej [Matushek i in. 2014]. W tym celu 100 µl zawiesiny bakteryjnej o stężeniu $1,5 \cdot 10^8$ jtk·ml⁻¹ lub zawiesiny drożdży zawierającej $1,5 \cdot 10^6$ jtk·ml⁻¹ rozprowadzono na agarze Muellera Hinton (MHA, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) lub na podłożu agarowym z dekstrozą Sabouraud (SDA, BTL, Łódź, Polska). Zmętnienie badanych szczepów standaryzowano zgodnie ze skalą 0,5 McFarlanda (spektrofotometr VIS-723G, Rayleigh, Pekin). Następnie krążki papierowe (Whatman nr 1, Anglia, średnica 6 mm) umieszczano na powierzchni agaru i nasączono 30 µl roztworów podstawowych o stężeniu 100 µg·ml⁻¹. Jako kontrolę pozytywną zastosowano rozpuszczalnik (10% DMSO), a jako kontrolę negatywną zastosowano krążki z tetracykliną (Sigma-Aldrich) lub amfoterycyny B (Gibco, Life Technologies, USA), odpowiednio dla bakterii i drożdży. Płytki, pozostawiono w temp. 4°C przez 2 godz., a następnie inkubowano w temp. 36°C (24 godz.) dla szczepów bakteryjnych (*Pectobacterium* spp. w 28°C) i w temp. 30°C (48 godz.) dla drożdży. Aktywność przeciwdrobnoustrojową oceniano mierząc średnice stref inhibicji w milimetrach. Eksperyment przeprowadzono w trzech powtórzeniach i przedstawiono wartości średnie (tab 2).

Minimalne stężenia hamujące (MIC) określono metodą seryjnych rozcieńczeń [Dhingra i Sinclair 2017] w 96-studzienkowych płytkach titracyjnych (Tissue Culture Plates VWR European). Bakterie hodowano na agarze Mueller-Hinton (MHA, Sigma-Aldrich, USA) w temp. 36°C (*Pectobacterium* spp. w 28°C) przez 20 godzin. Zawiesiny bakteryjne sporządzano w bulionie Muellera-Hinton (MHB, Sigma-Aldrich, USA) i standaryzowano do skali 0,5 McFarlanda (spektrofotometr VIS-723G, Rayleigh, Pekin). Końcowa gęstość optyczna (OD) inokulum bakteryjnego wynosiła $\sim 5 \cdot 10^5$ komórek·ml⁻¹. Ekstrakty metanolowe rozpuszczano w 10% DMSO (dimetylosulfotlenk metylu) i

zastosowano w zakresie stężeń od 62,5 do 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Jako kontrolę pozytywną zastosowano rozpuszczalnik (10% DMSO), a jako negatywną tetracyklinę (30 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, Sigma-Aldrich). Płytki inkubowano w temp. 36°C (*Pectobacterium* spp. w temp. 28°C). Wzrost bakterii obserwowano po 20 godz., mierząc gęstość optyczną (OD) za pomocą spektrofotometru płytkowego (Thermo Scientific USA, Multiskan GO; $\lambda = 570$ nm). Doświadczenie wykonano w 4 powtórzeniach, w 3 niezależnych seriach. Minimalne stężenie hamujące (MIC_{90}) zdefiniowano jako najniższe stężenie badanych ekstraktów, które powodowało 90% zahamowanie wzrostu w porównaniu z kontrolą pozytywną. Określono je, obliczając procentowe zahamowanie wzrostu bakterii według następującego wzoru:

$$\% \text{ hamowania OD} = [(\text{OD}_{\text{PC}} - \text{OD}_{\text{S}}) / \text{OD}_{\text{PC}}] \times 100 \text{ [Prestinaci i in. 2015]}$$

gdzie:

OD_{PC} – jest średnią wartością zmierzonej gęstości optycznej kontroli pozytywnej;

OD_{S} – jest średnią wartością zmierzonej gęstości optycznej ekstraktów badanej próbki.

Minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) zdefiniowano jako najniższe stężenie wyciągów, które zabiło 99% komórek mikroorganizmów. Aby określić MBC, hodowle pobrano z każdego dołka bez widocznego wzrostu i inokulowano na podłoże MHA. Warunki hodowli takie same jak opisano powyżej.

4.3.4. Analiza chemiczna składu wyciągów z psianki czarnej

Analiza składu chemicznego wyciągów z różnych organów psianki czarnej została przeprowadzona w Katedrze Chemii Żywności i Biokatalizy UP we Wrocławiu. Całkowite stężenie związków flawonoidowych w ekstraktach z nadziemnych części i korzeni *S. nigrum* oznaczono według metody opisanej przez Aryala i in. [2019]. Do 1 ml ekstraktu roślinnego dodano roztwór chlorku glinu (10 % w/v) i octan potasu (1 M) w ilości 0,2 ml oraz wodę destylowaną w ilości 5,6 ml i mieszaninę pozostawiono na 30 min. Następnie próbki poddano odczytowi absorbancji za pomocą spektrometru Cintra 303 (GBC Scientific Equipment Ltd., Dandenong, Australia) przy 415 nm. Wyniki wyrażono w mg równoważników kwercetyny (QE)

Ekstrakty metanolowe z części nadziemnych i korzeni *S. nigrum* rozcieńczono metanolem klasy Chromasolv (Sigma Aldrich, Steinheim, Niemcy), odpowiednio 100 i 1000 razy. Następnie dodano 100 μg luteoliny (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy) jako standardu wewnętrznego. Następnie otrzymane rozcieńczenia filtrowano przez filtry strzykawkowe Phenex-RC (Phenomenex, Torrance, CA, USA) i poddano

profilowaniu chemicznemu w oparciu o Wu et al. [2013] kompleksowe badanie dotyczące chemii gatunków rodzaju *Solanum*. Do badań przesiewowych wybrano związki należące do grupy flawonoidów lub glikozydów steroidowych, glikoalkaloidów steroidowych lub alkaloidów steroidowych, ponieważ wykazują one największy potencjał działania przeciwdrobnoustrojowego lub przeciwutleniającego. Badanie przesiewowe przeprowadzono na aparacie LCMS-8045 (Shimadzu, Kyoto, Japonia) wyposażonym w kolumnę Kinetex 2.6u C18 100A 100 x 3,0 mm z SecurityGuard ULTRA 3 mm (Phenomenex, Torrance, CA, USA). Faza ruchoma stosowana do rozdzielania chromatograficznego składała się z 0,1% wodnego roztworu kwasu mrówkowego (A) i metanolu (B). Zastosowano następujące warunki gradientu rozpuszczalników: od 10% do 80% B przez 0-3 min, 80% B przez 3-15 min i od 80 do 10% B przez 15-20 min. Szybkość przepływu i objętość wstrzyknięcia wynosiły odpowiednio 0,3 ml/min i 10 µl. Temperaturę kolumny ustawiono na 40°C.

Spektrometrię mas przeprowadzono stosując jonizację przez elektrorozpylanie (ESI) w następujących warunkach: Q3 SIM (szczegółowe dane m/z podano w tabeli 1 w trybie dodatnim; azot do nebulizacji (przepływ 3 l/min) i desolwatacji (temperatura 526 °C) użyto; zarówno przepływ gazu grzewczego, jak i suszącego 10 l/min; temperatury interfejsu, DL i bloku grzejnego odpowiednio 300, 250 i 400 °C.

Oznaczenie ilościowe flawonoidów oparto na normalizacji powierzchni piku w oparciu o powierzchnię piku standardu wewnętrznego. Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

4.3.5. Ocena aktywności biologicznej na kulturach komórkowych

Analiza aktywności biologicznej na kulturach komórkowych została przeprowadzona w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt UP we Wrocławiu. W tym badaniu tym wykorzystano pięć ludzkich linii komórkowych, które stanowią dobry model do oceny cytotoksyczności i aktywności przeciwnowotworowej *in vitro*. Badania przeprowadzono również na linii monocytów, często używanej do badania stanów zapalnych. Prawidłowe fibroblasty skórne człowieka (NHDF) zakupiono od Lonza (Verviers, Belgia) i hodowano w zmodyfikowanej pożywce Eagle'a Dulbecco (DMEM) bez czerwieni fenolowej Biological Industries (Beit-Haemek Izrael). Pozostałe komórki zakupiono z The European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC). Komórki rakowe A549 (rak płuc), MCF7 (rak piersi) i HeLa (rak szyjki macicy) hodowano w pożywce MEM (Minimum Essential Medium, Biological Industries, Beit-

Haemek Izrael). Linie komórkową monocytów (THP-1) pochodzącą z ostrej białaczki monocytowej hodowano w zawiesinie w pożywce RPMI-1640 Biological Industries (Beit-Haemek Izrael). Wszystkie linie komórkowe hodowano w 95% nawilżonym inkubatorze, w 37°C i 5% CO₂, w kompletnej pożywce hodowlanej. Pożywki EMEM, RPMI-1640 i DMEM bez czerwieni fenolowej uzupełniono penicyliną (10000 U/ml), streptomycyną (10 mg·ml⁻¹), L-glutaminą (200 mM) i 10% płodową surowicą bydlęcą (FBS) Biological Industries (Beit-Haemek Izrael).

Każdą linię komórkową hodowano od rozmrożenia przez, co najmniej 2 tygodnie przed badaniem. W celu rozpoczęcia testu komórki oddzielono roztworem trypsyna/EDTA. Do zneutralizowania działania roztworu trypsyna/EDTA użyto podłoża zawierającego 10% FBS. Następnie komórki odwirowano (200 g), wybarwiono 0,4% roztworem błękitu trypanu, zliczono i oceniono ich żywotność w liczniku komórek Juli Br. Na koniec komórki wysiano na 24- lub 96-studzienkowe płytki i inkubowano w inkubatorze CO₂ przez 24 godziny w temp. 37°C. Liczba komórek była wysiewana w ilości 1·10⁴ lub 2·10³ komórek na studzienkę. Do komórek dodano badane związki w różnych stężeniach (25-500 µg·ml⁻¹). Hodowle inkubowano przez kolejne 24 godziny. Po tym czasie przeprowadzono dalsze badania [Arendt-Pindel 2019]. Test MTT zastosowano do określenia wpływu badanych związków na aktywność metaboliczną badanych linii komórkowych. Wyniki testu pozwalają określić wpływ badanych związków na żywotność lub wzrost kultur komórkowych. Komórki inkubowano z badanymi ekstraktami roślinnymi przez 24 godziny. Po usunięciu pożywki z badanymi związkami, do płytki dodano 1 mg·ml⁻¹ roztworu MTT w MEM bez czerwieni fenolowej i bez FBS (do każdej studzienki) i płytki inkubowano w temp. 37°C przez 2 godziny. Pożywkę ponownie usunięto i kryształy formazanu rozpuszczono w izopropanolu. Do pomiaru absorbancji przy 570 nm zastosowano czytnik mikropłytek MultiscanGo (Thermo Scientific, USA) [Piasny i in 2020].

Żywotność komórek oceniano po 24 godzinach inkubacji badanych ekstraktów z hodowlami komórkowymi. Po inkubacji w 24-dołkowych płytkach komórki zebrano do probówek, jak opisano wcześniej, stosując roztwór trypsyny do oddzielenia. Otrzymaną zawiesinę komórek wirowano przy 200 × g przez 5 min. Następnie osad ponownie zawieszono w PBS. Próbkę następnie przenoszono na chipy i analizowano w NucleoCounter® NC-200 (ChemoMetec A/S, Allerød, Dania). Żywotność i ilość mierzono przy użyciu kaset Via1-Cassette™ do pobierania próbek komórek i barwienia.

Do barwienia użyto fluoroforów oranżu akrydyny (AO) i 4',6-diamidyno-2-fenylindolu (DAPI), które są immobilizowane w kanałach kasety.

Badane ekstrakty roślinne dodawano do hodowli komórkowych i inkubowano z komórkami przez 4 godziny. Następnie komórki przemyto i inkubowano z DCFH-DA (substrat niefluorescencyjny) w ciemności w temperaturze 37°C przez 2 godziny w CO₂. Niefluorescencyjny, substrat DCFH-DA (dwuoctan 2'7'-dichlorodihydrofluoresceiny) w stężeniu 25 μM zastosowano jako marker stresu oksydacyjnego do określenia wewnątrzkomórkowych poziomów ROS. Po tym czasie komórki przemyto dwukrotnie PBS i dodano PBS z 100 μl H₂O₂ (do części płytek) na 30 minut. Podczas inkubacji DCFH-DA wewnątrz komórek ulega hydrolizie przez esterazy do polarnego, niefluorescencyjnego DCFH (2'7'-dichlorodihydrofluoresceina), a następnie utleniany w obecności ROS (reaktywnych form tlenu) do fluorescencyjnego DCF (2'7' -dichlorofluoresceina). DCF mierzono za pomocą czytnika mikropłytek Varioscan LUX przy λ_{ex} = 485 nm i λ_{em} = 535 nm. Wyniki przedstawiono jako E/E₀, gdzie E jest wartością próby badanej, a E₀ wartością kontrolną [Glomb i in. 2020].

Wyniki badań przedstawiono jako średnią względem kontroli (E/E₀). E to hodowla z badanym związkiem, a E₀ to kontrola negatywna bez związku. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji oraz test post-hoc Dunetta. Ustalono punkt istotności p<0,05. Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą programu Statistica v.13.

5. WYNIKI BADAŃ

5.1. Wpływ wybranych wyciągów roślinnych na wzrost *Sclerotinia sclerotiorum*

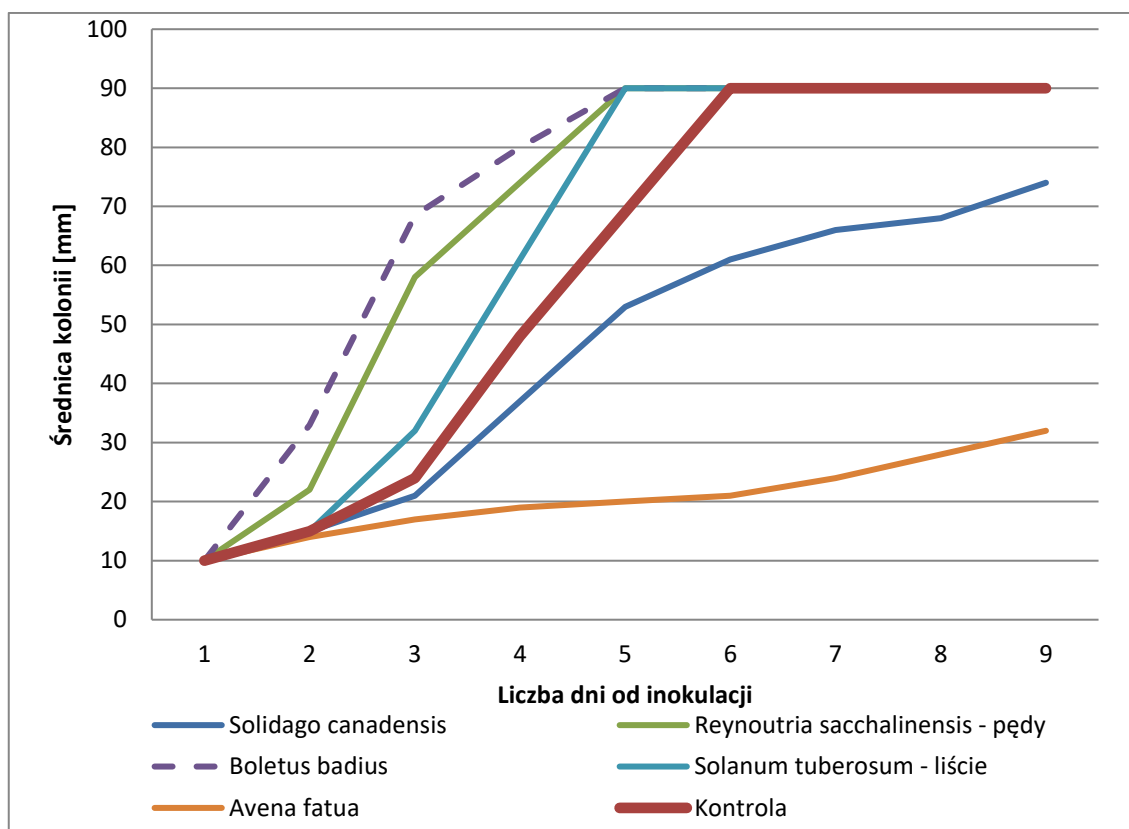
Wpływ ekstraktów z roślin inwazyjnych na wzrost grzybni *S. sclerotinia* przedstawiono w tabeli 3 za pomocą współczynnika wzrostu (T) oraz współczynnika zahamowania wzrostu (H w %). Zastosowany rozpuszczalnik w stężeniu 0,1% i 1,0% nie wpływał na tempo wzrostu grzybni i współczynnik T dla kontroli wynosił odpowiednio 92 i 87. Badania wykazały, że tempo wzrostu grzybni traktowanej różnymi ekstraktami było zróżnicowane. Badane wyciągi 0,1% i 1% działały hamująco lub stymulująco na testowany szczep grzyba. Spośród badanych wyciągów o stężeniu 1% najsilniejsze działanie grzybobójcze wykazywał ekstrakt z owsa głuchego i nawłoci kanadyjskiej. W porównaniu do kontroli, wyciągi te istotnie hamowały wzrost grzybni odpowiednio o 70% i 30%. Natomiast współczynnik tempa wzrostu radialnego wynosił 24 i 63, odpowiednio. Wyciąg 1% z podgrzybka brunatnego stymulował wzrost grzybni na poziomie 15%. Wyciągi o stężeniu 0,1% nie wykazywały istotnego oddziaływania na testowanego patogena. Jedynie wyciąg z nawłoci powodował hamowanie grzybni *Sclerotinia* spp. na poziomie 18%.

Tab. 3. Współczynnik tempa [T] i zahamowania [H] wzrostu *Sclerotinia sclerotiorum* z dodatkiem różnych wyciągów

Dawka	0,1%			1%		
	Kontrola	T	H	Kontrola	T	H
Kolczurka klapowana	92 ^a	92 ^a	-2%	87 ^b	86 ^b	3%
Nawłoc kanadyjska		77 ^b	18%		63 ^c	30%
Rdestowiec sachaliński – liście		92 ^a	-3%		88 ^b	5%
Rdestowiec sachaliński – pędy		92 ^a	-3%		90 ^a	-9%
Słonecznik bulwiasty – liście		92 ^a	2%		88 ^b	-7%
Słonecznik bulwiasty – pędy		92 ^a	-5%		86 ^b	7%
Bylica pospolita – całe rośliny		92 ^a	-5%		88 ^b	-5%
Bylica pospolita – korzenie		92 ^a	-2%		87 ^b	11%
Owies głuchy		91 ^a	2%		24 ^d	70%
Podgrzybek brunatny			92 ^a		3%	

Wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie według testu Dunetta ($p < 0,05$).

Na rysunku 1 przedstawiono dynamikę wzrostu grzybni *S. sclerotiorum* w obecności 1% ekstraktu z roślin inwazyjnych wykazujących największe działanie hamujące lub stymulujące. Grzyb *S. sclerotiorum* na podłożu kontrolnym osiągnął średnicę 90 mm w 6 dniu inkubacji. Zastosowanie ekstraktów z liści *H. tuberosus*, pędów *R. sachalinensis* i podgrzybka brunatnego zwiększyło dynamikę wzrostu grzybni. W obecności tych grzyb osiągnął średnicę 90 mm już po 5 dniach od inokulacji. Zastosowane wyciągi z *A. fatua* i *S. canadensis* zmniejszyły dynamikę wzrostu grzybni. Średnica grzybni na tych szalkach w 9 dniu trwania eksperymentu wynosiła odpowiednio 72 i 32 mm.



Rys. 1. Dynamika wzrostu grzybni *S. sclerotiorum* w obecności 1% wyciągów

5.2. Wpływ wyciągów na wybrane grzyby strzępkowe - ocena metodą zatrutego podłoża

Oddziaływanie wyciągów na grzyby strzępkowe patogeniczne dla roślin i alergizujące przedstawiono w postaci współczynnika tempa (T) i zahamowania (H) wzrostu grzybni w tabeli 4 - 13, w porównaniu do odpowiednich obiektów kontrolnych.

Wyniki współczynnika tempa (T) wzrostu testowanych grzybów po zastosowaniu wyciągu z czystka szarego przedstawiono w tabeli 4. Spośród badanych grzybów najszybszym tempem wzrostu (T=86) charakteryzował się szczep *S. sclerotiorum*, niezależnie od zastosowanej dawki. Podobne wyniki obserwowano w przypadku *B. cinerea* i *T. aggressivum*. Najwolniejszym tempem wzrostu radialnego (T=11) charakteryzował się szczep *C. globosum* rosnący na pożywce z dawką 250 µg ml⁻¹ wyciągu z czystka. Natomiast na podłożu kontrolnym wykazywał 3-krotnie szybsze tempo wzrostu (T=43).

Tab. 4. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z czystka szarego (*Cistus incanus* L.)

	Gatunek grzyba	Czystek szary (µg·ml ⁻¹)				Kontrola(µgml ⁻¹)			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	64	53	66	45	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	23	17	21	16	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	43	52	50	45	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	69	43	43	41	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	80	72	69	62	68	68	79	66
	<i>Alternaria alternata</i>	31	13	22	21	74	74	74	75
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	87	87	87	87	88	87	87	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	49	48	47	43	59	49	48	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	86	86	85	65	86	86	85	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	44	44	43	38	43	43	42	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	85	78	85	86	87	87	87	86
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	37	34	36	44	31	37	38	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	43	42	42	43	31	43	43	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	34	29	28	25	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	26	28	22	16	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	22	19	11	12	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	24	27	26	19	37	28	27	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	86	86	86	86	87	86	86	86

* Pp – patogen pieczarki

Wyniki współczynnika hamowania (H) wzrostu testowanych grzybów po zastosowaniu wyciągu z czystka szarego przedstawiono w tabeli 5. Spośród patogenów roślinnych wyciąg z czystka szarego najlepiej hamował wzrost grzybnii *A. alternata*, *F. oxysporum* i *F. culmorum*. Największe zahamowania wzrostu odnotowano w przypadku *A. alternata* (H=74%) przy dawce wyciągu 100 µg·ml⁻¹ w porównaniu do kontroli.. Zależnie od zastosowanej dawki wyciągu szczep *F. oxysporum* wykazał zahamowanie wzrostu w zakresie od 34 – 49%, a *F. culmorum* o 20-34% w stosunku do kontroli. Wyciąg stymulował wzrost szczepu *F. graminearum* (H= -15%) rosnącego na pożywce z dodatkiem 50 µg·ml⁻¹ wyciągu z czystka. Jednakże w obecności dawki 10-krotnie wyższej obserwowano 16% zahamowanie grzybnii. Wśród grzybów alergizujących najlepszy efekt przeciwwgrzybiczy obserwowano przy dawce 250 µg·ml⁻¹ dla *Ch. globosum* (H=60%), *P. chrysogenum* (H=38%) i *A. flavus* (H=27%). Przy zastosowaniu najniższej dawki wyciągu odnotowano stymulację *A. niger* i *A. versicolor* na poziomie -13 i -28%.

Tab. 5. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z czystka szarego (*Cistus incanus* L.)

	Gatunek grzyba	Czystek szary (µgml ⁻¹)			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	22	34	20	26
	<i>Fusarium oxysporum</i>	47	49	34	49
	<i>Fusarium poae</i>	-2	-2	2	2
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-1	-2	-2	4
	<i>Fusarium graminearum</i>	-15	-5	12	16
	<i>Alternaria alternata</i>	53	74	63	64
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	0	0
	<i>Epicoccum nigrum</i>	14	2	2	2
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	0
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	-2	-2	-2	-2
	<i>Rhizoctonia solani</i>	0	8	0	0
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	-13	7	4	-2
	<i>Aspergillus versicolor</i>	-28	2	2	0
	<i>Aspergillus flavus</i>	7	25	27	27
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	29	35	38	41
	<i>Chaetomium globosum</i>	40	46	60	58
	<i>Cladosporium herbarum</i>	27	3	3	28
Pp *	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	0

* Pp – patogen pieczarki

Wyniki współczynnika tempa (T) wzrostu testowanych grzybów po zastosowaniu wyciągu z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.) przedstawiono w tabeli 6. Spośród grzybów patogenicznych dla roślin najszybszym współczynnikiem tempa wzrostu charakteryzowały się szczepy *S. sclerotiorum*, *R. solani* i *T. aggressivum*. Ich średnie tempo wzrostu wyniosło T=86. Natomiast najwolniejszym wzrostem charakteryzował się szczep *B. sorokiniana*. Współczynnik T wahał się w zakresie od 40 do 45, ale nie różnił się od poziomu wzrostu kontroli. Wśród grzybów alergizujących *Ch. globosum* charakteryzował najwolniejszy współczynnik tempa wzrostu i w zależności od dawki wyciągu T wynosiło od 9 do 21. Natomiast tempo wzrostu tego grzyba na płytkach kontrolnych było 2-krotnie szybsze.

Tab. 6. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.)

	Gatunek grzyba	Hyzop lekarski (μgml^{-1})				Kontrola (μgml^{-1})			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	74	85	76	71	84	84	64	67
	<i>Fusarium oxysporum</i>	41	44	35	22	51	42	40	46
	<i>Fusarium poae</i>	43	50	52	47	42	51	42	52
	<i>Fusarium avenaceum</i>	70	43	41	45	68	42	45	50
	<i>Fusarium graminearum</i>	83	85	79	75	68	68	68	73
	<i>Alternaria alternata</i>	38	44	54	39	75	75	68	79
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	87	87	87	87	88	88	100	100
	<i>Epicoecium nigrum</i>	61	51	48	45	59	49	52	52
	<i>Botrytis cinerea</i>	86	87	86	65	87	87	83	75
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	42	44	45	40	43	43	41	45
	<i>Rhizoctonia solani</i>	87	87	87	86	87	87	100	100
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	26	38	40	28	31	37	39	51
	<i>Aspergillus versicolor</i>	33	41	42	42	32	43	39	45
	<i>Aspergillus flavus</i>	45	45	43	31	37	42	44	45
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	30	26	28	22	41	48	41	41
	<i>Chaetomium globosum</i>	21	18	20	10	43	43	41	49
	<i>Cladosporium herbarum</i>	32	30	26	34	37	29	28	38
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	87	86	86	86	87	86	100	100

* Pp – patogen pieczarki

Współczynnik zahamowania (H) wzrostu grzybów rosnących w obecności wyciągu z hyzopu lekarskiego wyrażony w % przedstawiono w tabeli 7. Wśród

patogenów roślin tylko szczep *A. alternata* wykazał wrażliwość na każdą z zastosowanych dawek. W zależności od dawki wzrost kolonii w odniesieniu do kontroli był zahamowany na poziomie 25 do 44%. Wykazano hamujący wpływ wyciągu na 2 gatunki *F. culmorum* i *F. oxysporum* spośród, których silniej (36%) hamowany był wzrost *F. oxysporum* przy zastosowaniu dawki 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W przypadku trzech zastosowanych dawek wykazano działanie stymulujące wyciągu z hyzopu lekarskiego na *F. graminearum*. Przy zastosowaniu dawki 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ wzrost tego grzyba był stymulowany najsilniej i wynosił 22% szybszy w porównaniu do kontroli. Wśród badanych grzybów alergizujących zahamowanie wzrostu w pełnym zakresie dawek odnotowano w przypadku *P. chrysogenum* i *C. globosum*. Wzrost pierwszego z gatunków został zahamowany na poziomie w zakresie od 21% do 28 % natomiast wzrost drugiego między 42%, a 64% i był to jednocześnie najwyższy współczynnik H spośród wszystkich badanych grzybów. W najwyższej zastosowanej dawce wyciągu wrażliwie były również grzyby *A. niger* i *A. flavus*. Współczynnik zahamowania wzrostu wynosił odpowiednio 28% i 16%.

Wyniki współczynnika zahamowania (H) wzrostu testowanych grzybów po zastosowaniu wyciągu z hyzopu lekarskiego wyrażono w % i przedstawiono w tabeli 7. Wśród patogenów roślin tylko *A. alternata* wykazał wrażliwość na każdą z zastosowanych dawek. W zależności od dawki wzrost kolonii w odniesieniu do kontroli był zahamowany na poziomie 25 do 44 %. Wykazano hamujący wpływ wyciągu na 2 gatunki rodzaju *Fusarium*: *F. culmorum* i *F. oxysporum*, spośród których silniej (36,2%) hamowany był wzrost *F. oxysporum* przy zastosowaniu dawki 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W trzech z czterech zastosowanych dawek wykazano działanie stymulujące wyciągu z hyzopu lekarskiego na *F. graminearum*. Przy zastosowaniu dawki 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ gatunek był stymulowany najsilniej, a jego wzrost był o 22% szybszy niż w przypadku kontroli. Wśród badanych grzybów alergizujących zahamowanie wzrostu w pełnym zakresie dawek odnotowano w przypadku *P. chrysogenum* i *Ch. globosum*. Wzrost pierwszego z gatunków został zahamowany na poziomie 21% do 28 % natomiast wzrost drugiego między 42%, a 64% i był to jednocześnie najwyższy współczynnik zahamowania wzrostu spośród wszystkich badanych grzybów. W najwyższej zastosowanej dawce wyciągu wrażliwie były również grzyby *A. niger* i *A. flavus*. Współczynnik zahamowania wzrostu wynosił odpowiednio 28 i 16%.

Tab. 7. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.)

	Gatunek grzyba	Hyzop lekarski ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	12	0	10	-9
	<i>Fusarium oxysporum</i>	17	-4	5	36
	<i>Fusarium poae</i>	-2	2	-2	-2
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-3	-2	2	-4
	<i>Fusarium graminearum</i>	-19	-22	1	-11
	<i>Alternaria alternata</i>	44	36	25	43
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	0	0
	<i>Epicoccum nigrum</i>	-3	-4	2	-2
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	0
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	2	-2	-4	-4
	<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	0	0
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	13	-2	-4	28
	<i>Aspergillus versicolor</i>	-3	4	2	2
	<i>Aspergillus flavus</i>	-18	-6	-2	16
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	21	38	25	29
	<i>Chaetomium globosum</i>	42	48	44	64
	<i>Cladosporium herbarum</i>	9	-6	3	-5
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	0

* Pp – patogen pieczarki

Wpływ wyciągów z owsa głuchego na grzyby patogeniczne dla roślin, alergizujące i patogena pieczarki wyrażony w formie współczynnika tempa wzrostu radialnego przedstawiono w tabeli 8. Najszybszym indeksem tempa wzrostu radialnego na poziomie >80 charakteryzowały się szczepy *S. sclerotiorum*, *R. solani* i *B. cinerea* rosnące na szalkach z dodatkiem wyciągu z owsa głuchego w zakresie dawek 50-250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Jednakże, w tym zakresie dawek tempo wzrostu grzybów nie różniło się od tempa wzrostu tych samych gatunków na szalkach kontrolnych. Najniższy współczynnik tempa wzrostu radialnego (5) odnotowano w przypadku *Ch. globosum* rosnącym na pożywkach z dodatkiem najwyższej dawki wyciągu z owsa. Współczynnik tempa wzrostu wszystkich badanych grzybów rosnących na pożywce z dodatkiem wyciągu z owsa w dawce 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ był niższy niż współczynnik tempa wzrostu tych samych gatunków na szalkach kontrolnych.

Tab. 8. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z owsa głuchego (*Avena fatua* L.)

	Gatunek grzyba	Owies głuchy ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)				Kontrola ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	81	75	61	48	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	51	37	42	32	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	41	50	50	45	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	69	44	44	41	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	62	67	58	60	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	69	67	59	37	75	75	75	75
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	87	87	87	35	88	88	88	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	62	50	50	39	59	49	49	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	86	86	87	86	87	87	86	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	45	44	45	33	43	43	43	38
Grzyby alergizujące	<i>Rhizoctonia solani</i>	87	86	87	43	87	87	87	86
	<i>Aspergillus niger</i>	27	31	39	39	31	37	38	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	33	44	42	x	32	43	43	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	22	21	24	23	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	41	27	22	x	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	12	11	6	5	43	43	43	43
Pp*	<i>Cladosporium herbarum</i>	38	28	22	28	37	29	22	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	87	86	56	48	87	86	86	86

* Pp – patogen pieczarki

Wpływ wyciągów z owsa głuchego na zahamowanie tempa wzrostu grzybów strzępkowych przedstawiono w tabeli 9. Spośród grzybów patogenicznych dla roślin tylko szczep *A. alternata* był wrażliwy na wszystkie zastosowane dawki wyciągu. Zahamowanie tempa wzrostu tego grzyba wynosiło od 6 do 41% i rosło wraz ze wzrostem dawki wyciągu. Wszystkie z badanych patogenów roślin zareagowały zahamowaniem wzrostu na obecność w podłożu najwyższej dawki wyciągu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Przy zastosowaniu tej dawki najbardziej hamowany był wzrost *S. sclerotiorum* na poziomie 62% a następnie *R. solani* na poziomie 56%. Oba gatunki nie zareagowały spowolnieniem wzrostu na niższe dawki wyciągu. *Fusarium culmorum* był wrażliwe w zakresie dawek $100\text{-}500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Zahamowanie wzrostu w stosunku do kontroli wynosiło w przypadku tego gatunku 11 – 34%. Spośród grzybów alergizujących wszystkie grzyby zareagowały zahamowaniem wzrostu po zastosowaniu najwyższej dawki wyciągu z owsa głuchego $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. *Chaetomium globosum* i *A. flavus* były

hamowane w pełnym zakresie dawek. Największy współczynnik zahamowania wzrostu odnotowano w przypadku *C. globosum* rosnącym na pożywce z dodatkiem 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ wyciągu z owsa. *Trichoderma aggressivum* zareagował hamowaniem wzrostu o 31 i 51% po zastosowaniu wyciągu z owsa, w dawce 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Tab. 9. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z owsa głuchego (*Avena fatua* L.)

	Gatunek grzyba	Owies głuchy ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	4	11	26	35
	<i>Fusarium oxysporum</i>	2	10	-11	28
	<i>Fusarium poae</i>	2	2	2	27
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-1	-4	-4	30
	<i>Fusarium graminearum</i>	8	1	25	38
	<i>Alternaria alternata</i>	6	9	19	41
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	0	62
	<i>Epicoccum nigrum</i>	-5	-2	-2	27
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	44
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	-4	-2	-4	25
	<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	0	56
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	13	14	-2	30
	<i>Aspergillus versicolor</i>	-3	-2	2	27
	<i>Aspergillus flavus</i>	32	41	35	26
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	36	38	22
	<i>Chaetomium globosum</i>	60	62	70	26
	<i>Cladosporium herbarum</i>	-2	3	x	22
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	31	51

* Pp – patogen pieczarki

Współczynnik tempa wzrostu grzybów (T) na podłożach z dodatkiem wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum*) przedstawiono w tabeli 10. Najwyższe wartości współczynnika > 80 odnotowano w przypadku grzybów *F. culmorum*, *B. cinerea* i *T. aggressivum*. Wyciąg nie wykazał wpływu na tempo wzrostu w zakresie dawek 50 – 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W przypadku *T. aggressivum*, żadna z zastosowanych dawek nie wpłynęła na dynamikę wzrostu grzybnii. Najwyższym współczynnikiem wzrostu na szalkach kontrolnych charakteryzował się *S. sclerotiorum*. Ten sam gatunek rosnący na szalkach z dodatkiem 100, 250 i 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

charakteryzował się najniższym współczynnikiem wzrostu wśród badanych grzybów, który wynosił odpowiednio 18,8 i 7.

Tab. 10. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

	Gatunek grzyba	Przypołudnik kryształowy (μgml^{-1})				Kontrola (μgml^{-1})			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	85	85	85	48	84	84	85	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	64	69	85	66	67	42	39	48
	<i>Fusarium poae</i>	41	52	50	45	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	68	43	44	45	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	57	67	67	52	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	72	77	56	38	75	75	75	74
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	86	18	8	7	87	87	87	88
	<i>Epicoccum nigrum</i>	74	40	55	41	55	49	48	42
	<i>Botrytis cinerea</i>	86	87	87	86	86	87	87	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	43	44	44	33	43	43	43	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	62	75	62	24	86	87	86	86
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	65	38	69	65	32	37	61	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	29	42	45	28	32	43	43	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	59	66	62	66	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	39	49	42	30	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	43	42	44	32	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	59	40	45	21	37	29	31	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	87	87	86	86	87	86	87	86

* Pp – patogen pieczarki

Hamujący wpływ wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) przedstawiono za pomocą współczynnika zahamowania wzrostu (H) w tabeli 11. Spośród patogenów roślin jedynie wzrost *R. solani* był hamowany przez wyciąg we wszystkich zastosowanych dawkach. Współczynnik zahamowania wzrostu w zależności od dawki wynosił 11 do 64 i był najwyższy przy dawce 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Najsilniejsze działanie inhibicyjne H=82% odnotowano wobec szczepu *S. sclerotiorum* na pożywce z 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ wyciągu z przypołudnika. Dawki 100 i 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ również hamowały wzrost tego gatunku na poziomie 71 i 81%. Wśród patogenów roślin zahamowanie wzrostu przy najwyższej dawce odnotowano także u szczepów *A. alternata* (43%), *F. culmorum* (21%) i *F. graminearum* (18%). Stwierdzono także silną stymulację wzrostu *F. oxysporum* w zakresie dawek 100 – 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W dawce 500

$\mu\text{g ml}^{-1}$ wyciąg stymulował także wzrost *B. cinerea* na poziomie 29%. Wśród grzybów alergizujących *A. niger* i *A. flavus* zareagowały na obecność wyciągu silną stymulacją wzrostu. *Aspergillus niger* w obecności wyciągu w dawce $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ rósł 82% szybciej w porównaniu do kontrol. Natomiast *Aspergillus flavus* przy dawce $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ przyspieszył swój wzrost o 60%. *Cladosporium herbarum* był stymulowany przez wyciąg w dawkach $50\text{-}250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, natomiast najwyższa dawka $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ hamowała wzrost grzybni o 26%.

Tab. 11. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

	Gatunek grzyba	Przypołudnik kryształowy ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	0	0	0	21
	<i>Fusarium oxysporum</i>	4	-53	-96	-31
	<i>Fusarium poae</i>	2	-2	2	2
	<i>Fusarium avenaceum</i>	0	-2	-4	-4
	<i>Fusarium graminearum</i>	14	1	14	18
	<i>Alternaria alternata</i>	4	-3	23	43
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	71	81	82
	<i>Epicoccum nigrum</i>	-30	16	-11	2
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	-29
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	-2	-2	11
	<i>Rhizoctonia solani</i>	24	11	24	64
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	-82	-2	-10	-40
	<i>Aspergillus versicolor</i>	8	2	-4	30
	<i>Aspergillus flavus</i>	-48	-47	-39	-60
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	-2	-2	10
	<i>Chaetomium globosum</i>	0	2	-2	22
	<i>Cladosporium herbarum</i>	-48	-31	-33	26
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	0

* Pp – patogen pieczarki

Współczynnik tempa wzrostu grzybów (T) na podłożach z dodatkiem wyciągu z rzepiku pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.) przedstawiono w tabeli 12. Najwyższymi wartościami współczynnika charakteryzowały się *S. sclerotiorum*, *T. aggressivum* i *R. solani*, współczynnik tempa wzrostu kolonii rosnących na szalkach z wyciągami i szalkach kontrolnych nie różnił się. Współczynnik tempa wzrostu grzybów szczepów *E. nigrum*, *B. sorokiniana*, *A. flavus*, *C. herbarum* rosnących na podłożu z dodatkiem

wyciągu z rzepiku był na poziomie kontroli. Najniższy współczynnik tempa wzrostu odnotowano u *h. globosum* rosnącym na podłożu z dodatkiem wyciągu z rzepiku. W zależności od dawki wyciągu współczynnik wahał się od 17 do 5.

Tab. 12. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z rzepiku pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.)

	Gatunek grzyba	Rzepik pospolity ($\mu\text{g ml}^{-1}$)				Kontrola ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	43	84	51	46	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	33	44	24	27	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	41	50	50	43	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	69	41	43	66	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	56	52	55	74	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	29	31	23	36	75	75	75	75
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	87	87	87	88	87	87	87	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	61	50	50	45	59	49	49	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	85	87	80	65	86	87	86	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	44	44	44	40	43	43	43	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	87	87	86	85	87	87	87	86
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	26	23	31	28	32	37	38	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	43	44	41	5	32	43	43	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	39	43	41	39	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	34	22	22	19	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	17	12	10	5	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	38	30	33	32	37	29	31	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	86	86	86	83	87	86	86	86

* Pp – patogen pieczarki

Hamujący wpływ wyciągu z rzepiku pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.) przedstawiono przedstawiono za pomocą współczynnika zahamowania wzrostu (H) w tabeli 13. Zastosowanie wyciągu z rzepiku wpłynęło na zahamowanie wzrostu 11 spośród 18 badanych gatunków grzybów (tab. 10). Spośród badanych patogenów roślin jedynie *A. alternata* wykazywał zahamowanie wzrostu przy wszystkich zastosowanych dawkach wyciągu. Współczynnik zahamowania wzrostu mieścił się w zakresie 46% do 63%, a najwyższą wartość osiągnął przy zastosowaniu wyciągu przy dawce 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Spośród grzybów z rodzaju *Fusarium* zahamowaniem wzrostu na różnym poziomie zareagowały *F. culmorum*, *F. oxysporum* i *F. graminearum*. Ten ostatni gatunek był jednak stymulowany przy zastosowaniu najwyższej dawki wyciągu podobnie jak

F. avenaceum. Spośród grzybów uczulających, wyciąg z rzepiku wpłynął hamująco na wzrost 4 gatunków. Wrażliwość na wyciąg we wszystkich zastosowanych dawkach wykazały: *Ch. globosum*, *A. niger* i *P. chrysogenum*. Najsilniej hamowanym gatunkiem był *Ch. globosum* (72%). Na takim samym poziomie najwyższa dawka wyciągu zahamowała również wzrost *A. versicolor*, jednak ten gatunek w przeciwieństwie do *Ch. globosum* nie wykazywał wrażliwości na niższe dawki wyciągu, co więcej wyciąg w najniższej dawce stymulował jego wzrost.

Tab. 13. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z rzepika pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.)

	Gatunek grzyba	Rzepik pospolity ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	44	0	37	26
	<i>Fusarium oxysporum</i>	31	-4	27	28
	<i>Fusarium poae</i>	2	2	2	6
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-1	2	-2	-44
	<i>Fusarium graminearum</i>	15	22	28	-11
	<i>Alternaria alternata</i>	55	53	63	46
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	0	0
	<i>Epicoccum nigrum</i>	-3	-2	-2	-2
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	6	-1
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	-2	-2	-2	-4
	<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	0	0
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	13	32	16	30
	<i>Aspergillus versicolor</i>	-28	-2	4	72
	<i>Aspergillus flavus</i>	-5	-2	2	-2
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	13	46	38	36
	<i>Chaetomium globosum</i>	50	60	64	72
	<i>Cladosporium herbarum</i>	-2	-3	-3	-3
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	2

* Pp – patogen pieczarki

5.3. Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane grzyby strzępkowe, bakterie i drożdże

5.3.1. Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane grzyby strzępkowe Tempo wzrostu kolonii grzybów strzępkowych na pożywkach z dodatkiem wyciągów z części nadziemnych psianki czarnej przedstawiono w tabeli 14, w postaci współczynnika tempa wzrostu radialnego (T). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że najslabszym tempem wzrostu w stosunku do kontroli charakteryzowały się kolonie grzybów rosnące na pożywkach z dodatkiem wyciągów z części nadziemnych w dawce $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Wyciąg w tej dawce wpłynął na tempo wzrostu 15 spośród 18 badanych izolatów grzybów, przy czym najniższymi wartościami w stosunku do kontroli charakteryzowały się kolonie *R. solani* (30) *A. alternata* (20) i *C. globosom* (10). W przypadku *A. flavus*, *F. poae*, *F. avenaceum*, *B. cinerea* i *C. herbarum* odnotowano wyższe wartości indeksu tempa wzrostu niż w kontroli, oznaczające stymulację tempa wzrostu.

Tab. 14. Współczynnik tempa wzrostu grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z części nadziemnej psianki czarnej (*Solanum nigrum* L.)

	Dawka [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	<i>Solanum nigrum</i>				Kontrola			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Patogeny roślin	Gatunek grzyba								
	<i>Fusarium culmorum</i>	80	84	85	66	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	50	43	37	28	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	43	53	41	57	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	66	60	57	65	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	67	70	62	45	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	55	47	56	19	74	75	75	74
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	88	88	87	63	88	88	88	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	59	50	50	33	59	49	49	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	86	87	85	76	87	87	86	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	41	43	42	20	43	43	43	38
<i>Rhizoctonia solani</i>	88	87	84	30	87	87	87	86	
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	31	24	22	28	36	38	31	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	31	25	30	30	38	41	39	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	37	42	42	43	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	40	48	43	37	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	43	26	22	9	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	38	34	31	26	37	28	31	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	87	87	87	66	87	86	86	86

Aktywność fungistatyczną wyciągów metanolowych z nadziemnych organów psianki czarnej przedstawiono w tabeli 15 w postaci współczynnika zahamowania wzrostu (T). Wykazano, że oddziałują one na grzyby strzępkowe. Najsilniejszą aktywność stwierdzono przy stężeniach 250 i 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. W tej ostatniej dawce wyciąg charakteryzował się najwyższą aktywnością w stosunku do *R. solani* i *Ch. globosum* spowalniając ich wzrost odpowiednio o 59 i 56%. W niższych stężeniach wyciąg z części nadziemnych najsilniej oddziaływał również na *A. alternata* i *Ch. globosum*, spowalniając tempo ich wzrostu o 23 i 20% już przy stężeniu 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Wyciąg z części nadziemnych wykazywał także działanie stymulujące w stosunku do niektórych grzybów. W najwyższej dawce najsilniej stymulował on wzrost *F. avenaceum* (50%) i *A. flavus* (29%), natomiast w dawce 100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ *F. avenaceum* (41%) i *C. herbarum* (14%). Oddziaływanie wyciągu na pozostałe gatunki grzybów było słabsze lub nieistotne statystycznie.

Tab. 15. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z części nadziemnych psianki czarnej *Solanum nigrum* L.

	Dawka [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	<i>Solanum nigrum</i>			
		50	100	250	500
Patogeny roślin	Gatunek grzyba				
	<i>Fusarium culmorum</i>	0	0	0	4
	<i>Fusarium oxysporum</i>	10	10	-7	5
	<i>Fusarium poae</i>	-4	10	17	-24
	<i>Fusarium avenaceum</i>	5	-41	-34	-50
	<i>Fusarium graminearum</i>	8	-4	20	17
	<i>Alternaria alternata</i>	23	33	35	55
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	15	24
	<i>Epicoccum nigrum</i>	2	0	-2	-5
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	-25
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	6	5	8	20
<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	17	59	
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	-5	13	17	13
	<i>Aspergillus versicolor</i>	3	34	24	-6
	<i>Aspergillus flavus</i>	7	-4	-6	-29
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	7	5	9	-7
	<i>Chaetomium globosum</i>	20	32	40	56
	<i>Cladosporium herbarum</i>	7	-14	-6	-10
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	22

* Pp - patogen pieczarki

Na podstawie współczynnika tempa wzrostu radialnego (tab. 14) stwierdzono, że wyciąg z korzeni psianki czarnej w różnych stężeniach spowolnił tempo wzrostu 16 z 18 izolatów grzybów, przy czym najsilniej oddziaływał na *A. alternata* oraz *C. globosum*. Współczynnik tempa wzrostu tych grzybów przy zastosowaniu dawki (500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) wyniósł odpowiednio 19 oraz 18.

Najwyższy współczynnik zahamowania wzrostu (tab. 16) grzybów rosnących na podłożu z wyciągiem z korzeni psianki czarnej w najwyższym stężeniu (500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) odnotowano dla grzyba *R. solani* (59%). Wzrost *A. alternata* i *C. globosum* został zahamowany odpowiednio o 55 i 50%.

Tab. 16. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z korzeni psianki czarnej (*Solanum nigrum* L.)

	Dawka [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	<i>Solanum nigrum</i>				Kontrola			
		50	100	250	500	50	100	250	500
Grzyby patogeniczne dla roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	74	68	65	19	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	47	38	41	23	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	44	45	40	31	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	66	67	63	25	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	62	72	57	45	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	47	48	55	19	74	75	75	74
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	88	88	61	65	88	88	88	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	57	51	30	54	59	49	49	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	87	86	84	63	87	87	86	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	22	21	19	12	43	43	43	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	70	60	52	29	87	87	87	86
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	34	29	25	26	36	38	31	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	31	24	31	33	38	41	39	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	33	29	24	31	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	30	25	29	17	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	34	21	25	17	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	34	34	22	18	37	28	31	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	85	86	85	73	87	86	86	86

* Pp - patogen pieczarki

Wrażliwością w pełnym zakresie dawek wykazały się również *P. chrysogenum*, i *F. culmorum*, których wzrost w zależności od zastosowanej dawki został zahamowany odpowiednio o 17-36% i 23-46%. Wśród pozostałych gatunków grzybów niewielką wrażliwością na wyciąg z korzeni psianki, zastosowany w najniższej dawce 50 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ wykazały *Epicoccum nigrum* (8%) *A. flavus* (7%) i *C. herbarum* (7%). W zakresie

dawek od 100 do 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ wrażliwość wykazywały *A. alternata*, *Ch. globosum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *B. sorokiniana*, *R. solani* i *A. flavus*. W przypadku wyciągu z korzeni w kilku kombinacjach odnotowano nieznaczną stymulację wzrostu 4 gatunków grzybów: *A. versicolor* (14%), *E. nigrum* (16%), *A. flavus* (9%) i *F. oxysporum* (7%).

Tab. 17. Współczynnik tempa wzrostu grzybów strzępkowych rosnących z dodatkiem wyciągu z owoców psianki czarnej (*Solanum nigrum* L.)

	Dawka [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	<i>Solanum nigrum</i>				Kontrola			
	Gatunek grzyba	50	100	250	500	50	100	250	500
Grzyby patogeniczne dla roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	85	85	85	75	84	84	84	64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	45	37	40	47	51	42	37	40
	<i>Fusarium poae</i>	44	45	41	37	42	51	51	46
	<i>Fusarium avenaceum</i>	65	67	63	64	68	42	42	43
	<i>Fusarium graminearum</i>	62	72	62	43	68	68	80	66
	<i>Alternaria alternata</i>	45	47	56	40	74	75	75	74
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	87	86	56	17	88	88	88	87
	<i>Epicoccum nigrum</i>	58	50	49	48	59	49	49	44
	<i>Botrytis cinerea</i>	87	86	85	65	87	87	86	65
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	22	22	19	20	43	43	43	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	86	85	69	72	87	87	87	86
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	34	28	25	43	36	38	31	43
	<i>Aspergillus versicolor</i>	30	25	30	26	38	41	39	43
	<i>Aspergillus flavus</i>	34	28	25	30	37	42	42	38
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	27	27	26	24	41	48	41	34
	<i>Chaetomium globosum</i>	33	22	26	11	43	43	43	43
	<i>Cladosporium herbarum</i>	34	34	23	30	37	28	31	31
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	86	86	86	50	87	86	86	86

* Pp - patogen pieczarki

Tab. 18. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z owoców psianki czarnej (*Solanum nigrum*)

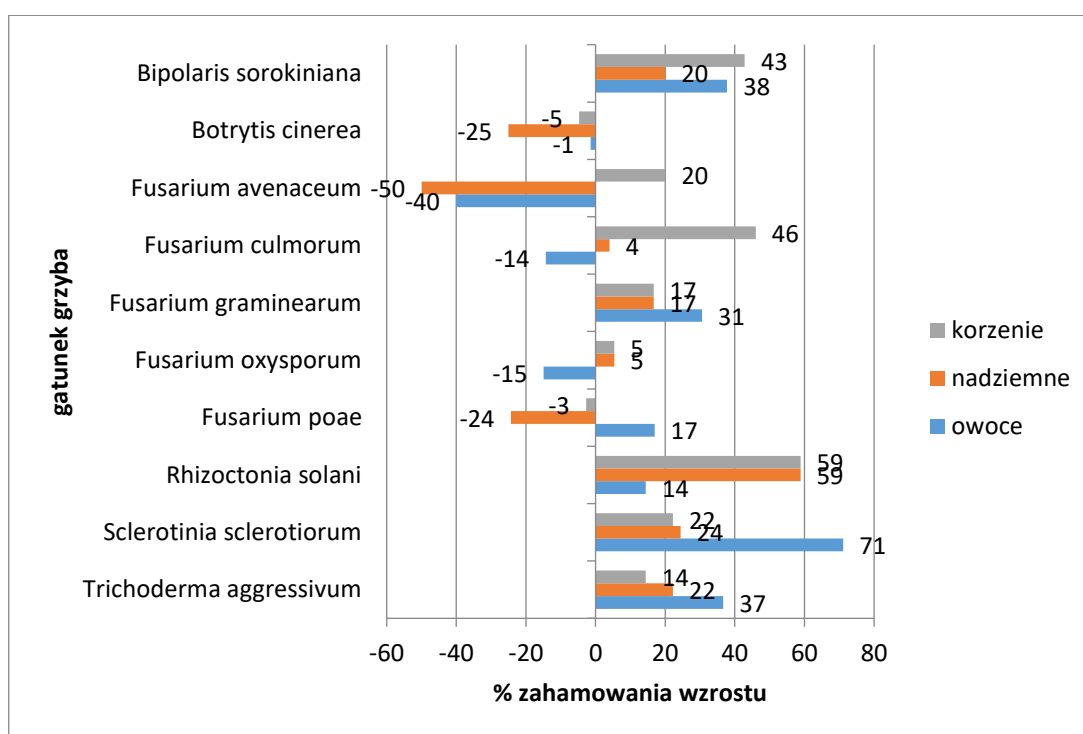
	Dawka [$\mu\text{g ml}^{-1}$]	<i>Solanum nigrum</i>			
		50	100	250	500
	Gatunek grzyba				
Grzyby patogeniczne dla roślin	<i>Fusarium culmorum</i>	0	0	0	-14
	<i>Fusarium oxysporum</i>	10	10	-7	-15
	<i>Fusarium poae</i>	-4	10	17	17
	<i>Fusarium avenaceum</i>	5	-47	-39	-40
	<i>Fusarium graminearum</i>	8	-4	20	31
	<i>Alternaria alternata</i>	35	33	23	41
	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0	0	30	71
	<i>Epicoccum nigrum</i>	2	0	-2	-8
	<i>Botrytis cinerea</i>	0	0	0	-1
	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	40	40	46	38
	<i>Rhizoctonia solani</i>	0	0	17	14
Grzyby alergizujące	<i>Aspergillus niger</i>	-5	18	27	0
	<i>Aspergillus versicolor</i>	3	34	24	32
	<i>Aspergillus flavus</i>	7	27	33	16
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	27	36	29	24
	<i>Chaetomium globosum</i>	20	40	32	54
	<i>Cladosporium herbarum</i>	7	-14	21	3
Pp*	<i>Trichoderma aggressivum</i>	0	0	0	37

* Pp - patogen pieczarki

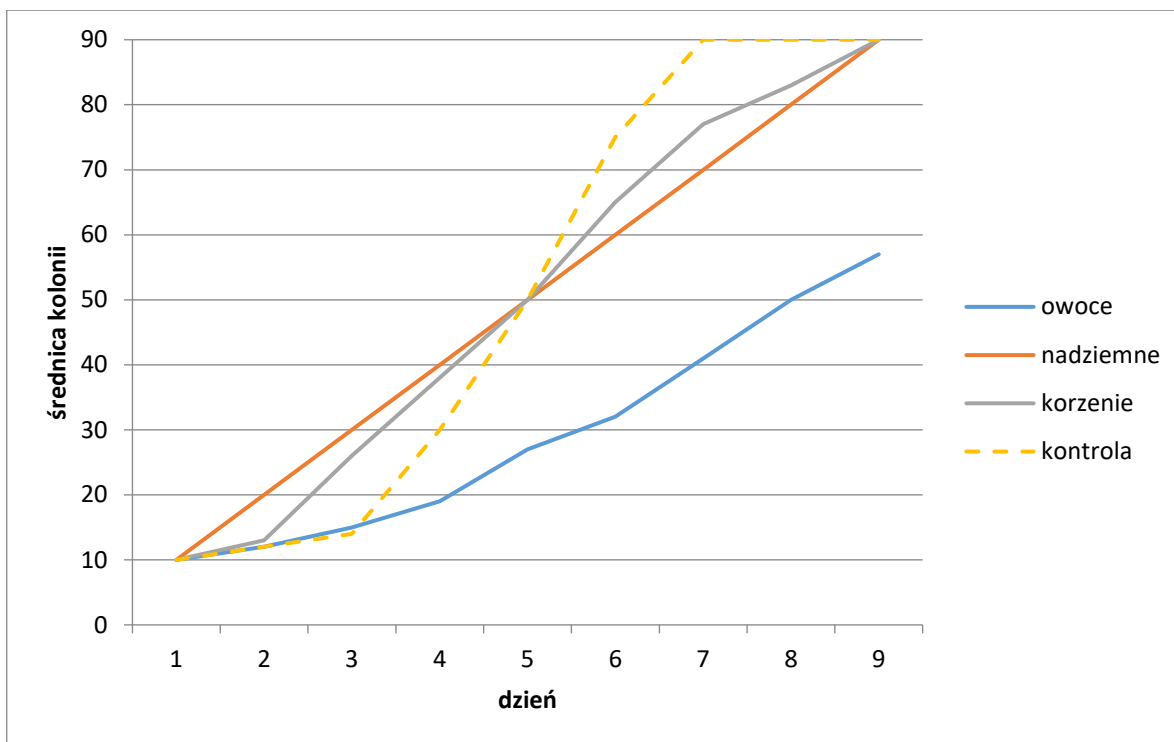
Efekt fungistatyczny wyciągów z wszystkich badanych części psianki czarnej obserwowano także wobec patogenu pieczarki *T. aggressivum*. Współczynnik zahamowania wzrostu H przy zastosowaniu wyciągów w najwyższym stężeniu 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ wynosił odpowiednio 14% dla korzeni, 22% dla części nadziemnych i 37% dla owoców psianki czarnej (Rys. 2). Na rysunku 3 przedstawiono dynamikę wzrostu kolonii *T. aggressivum* rosnącej na podłożu z dodatkiem 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ wyciągu z różnych organów psianki czarnej. Największą dynamiką wzrostu odznaczał się grzyb rosnący na szalkach kontrolnych, na których w 7 dniu od inokulacji osiągnął średnicę szalki. Kolonie rosnące na szalkach z dodatkiem wyciągów z części nadziemnych i korzeni, tę samą średnicę osiągnęły 2 dni później, a rosnące na szalkach z dodatkiem wyciągu z owoców w dniu zakończenia eksperymentu osiągnęły 57 mm.

Dynamikę wzrostu kolonii wybranych gatunków grzybów na podłożu z dodatkiem wyciągu z owoców psianki czarnej w stężeniu 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ przedstawiono na

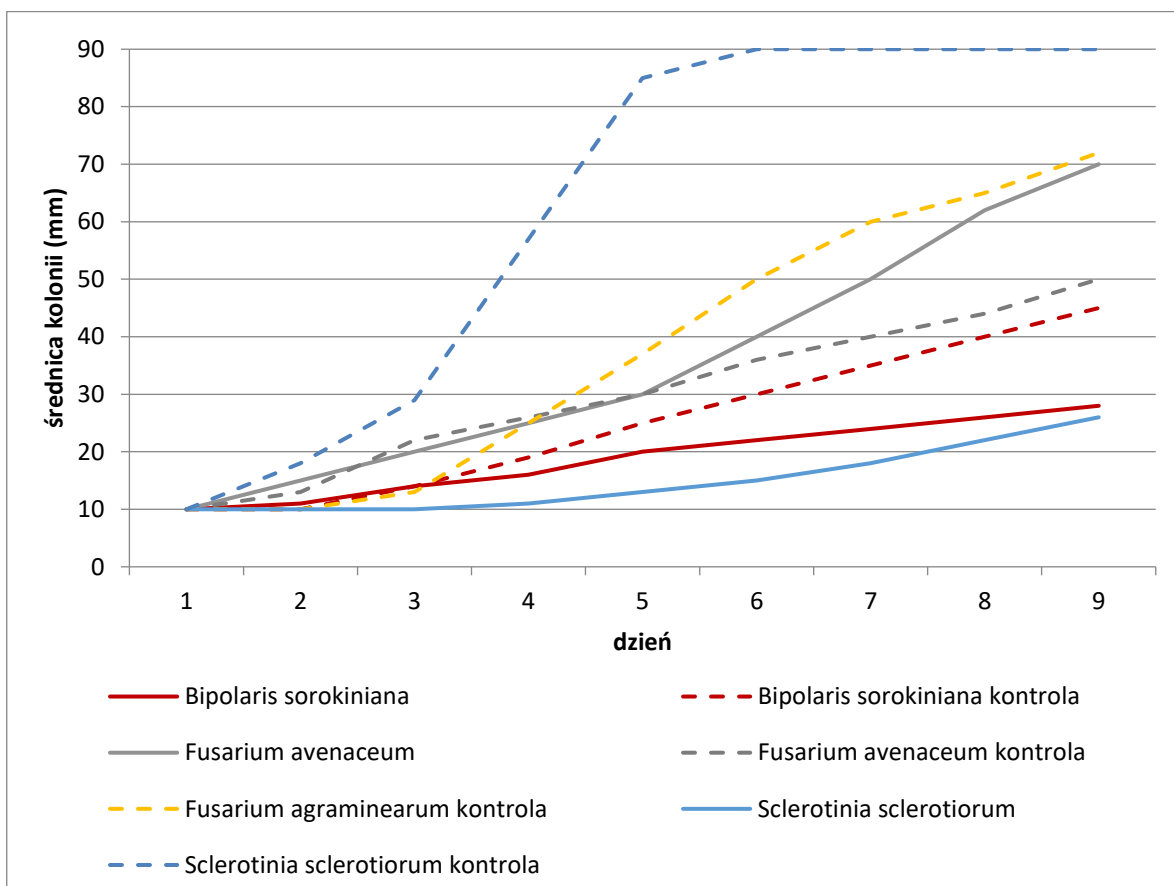
rysunku 4. Próby kontrolne *B. sorokiniana*, *F. graminearum* i *S. sclerotiorum* charakteryzowały się większą dynamiką wzrostu. Grzyb *S. sclerotiorum* bez dodatku wyciągów roślinnych osiągnął średnicę szalki w 6 dniu inkubacji. Ten sam gatunek rosnący na szalkach z dodatkiem wyciągu z owoców, charakteryzował się najslabszą dynamiką wzrostu, osiągając w 9 dniu trwania eksperymentu średnicę 26 mm. Próba kontrolna *F. avenaceum*, charakteryzowała się gorszą dynamiką wzrostu niż ten sam gatunek rosnący na pożywce z dodatkiem wyciągu. Grzyb ten był stymulowany przez obecność wyciągu. Średnica kolonii na szalce testowej w 9 dniu trwania eksperymentu wynosiła 70 mm, podczas gdy średnica kolonii testowych w tym samym dniu osiągnęła 50 mm.



Ryc. 2. Współczynnik zahamowania wzrostu kolonii polifagicznych grzybów patogenicznych dla roślin oraz pieczarki z dodatkiem wyciągów z różnych części *Solanum nigrum* w stężeniu 500 µg·ml⁻¹



Ryc. 3. Dynamika wzrostu kolonii *Trichoderma aggressivum* z dodatkiem wyciągów z różnych części *Solanum nigrum* w stężeniu $500 \mu\text{gml}^{-1}$



Ryc. 4. Dynamika wzrostu kolonii wybranych polifagicznych patogenów roślin na pożywcze z dodatkiem wyciągu z owoców *Solanum nigrum* w stężeniu $500 \mu\text{gml}^{-1}$

5.3.2. Wpływ wyciągów z psianki czarnej na wybrane bakterie i drożdże

Wstępne wyniki działania przeciwbakteryjnego i -drożdżowego wyciągów z psianki *S. nigrum* przeprowadzono przy użyciu metody krążkowo-dyfuzyjnej (tab. 19). Ekstrakty (100 µg/krążek) *S. nigrum* wykazywały różny stopień działania hamującego. Strefa zahamowania wzrostu badanych patogenów w obecności prób negatywnych (tetracyklina lub amfoterycynę B) wynosiła od 22,0 do 42,0 mm i była 2-4-krotnie większa w porównaniu do badanych ekstraktów (0,0-11,5 mm). Maksymalne zahamowanie zaobserwowano w stosunku do szczepów patogenicznych dla roślin z rodzaju *Pectobacterium* (hamowanie na poziomie ~ 7-11,0 mm). Wyciąg z części nadziemnych wykazywał lepsze działanie przeciwbakteryjne w porównaniu do ekstraktu z korzeni. Działanie hamujące ekstraktu z części nadziemnych zaobserwowano wobec 9 bakterii, natomiast ekstraktu z korzenia wobec 5. Oba ekstrakty nie wykazały działania hamującego wobec *B. cereus*, *P. aeruginosa* i *S. marcescens* oraz *Candida* spp. w zakresie badanych dawek.

Tab. 19. Ocena działania przeciwdrobnoustrojowego wyciągów z części naziemnych i korzeni psianki czarnej (*S. nigrum*) – metoda krążkowo-dyfuzyjna

Nr	Szczepy bakterii i drożdży	Wyciąg z części nadziemnej	Wyciąg z korzeni	Antybiotyki*
Strefa zahamowania w mm (%)				
1.	<i>M. luteus</i> PCM 1944	8±0.8 (36)	5±0.3 (23)	22.0±0.5
2.	<i>S. canis</i> KW-Sac1	4.0±1.0 (18)	3.7±1.5 (17)	22.3±0.3
3.	<i>S. agalactiae</i> PCM 2683	4.0±0.0 (13)	0.0±0.0 (0)	30.0±1.0
4.	<i>S. aureus</i> PCM 2024	6.0±0.0 (21)	4.0±0.0 (14)	28.7±0.6
5.	<i>S. pseudintermedius</i> PCM 2741	4.0±0.0 (13)	0.0±0.0 (0)	30.7±0.3
6.	<i>B. subtilis</i> PCM 1949	3.0±0.0 (14)	0.0±0.0 (0)	42.0±0.9
7.	<i>B. cereus</i> PCM 2019	0.0±0.0 (0)	0.0±0.0 (0)	39.7±0.8
8.	<i>E. coli</i> PCM 2057	4.8±0.0 (18)	0.0±0.0 (0)	26.0±0.5
9.	<i>P. aeruginosa</i> PCM 2058	0.0±0.0 (0)	0.0±0.0 (0)	25.0±0.6
10.	<i>S. marcescens</i> PCM 501	0.0±0.0 (0)	0.0±0.0 (0)	27.0±0.4
11.	<i>P. carotovora</i> IOR-1815	11.5±0.5 (41)	7.0±1.0 (25)	28.0±1.0
12.	<i>P. atrosepticum</i> IOR-1825	10.0±0.0 (40)	8.0±1.0 (32)	25.4±0.5
13.	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0.0±0.0 (0)	0.0±0.0 (0)	35.4±0.7
14.	<i>C. parapsilosis</i> KW-Cp1	0.0±0.0 (0)	0.0±0.0 (0)	33.3±0.5

* kontrola referencyjna – tetracyklina dla bakterii i amfoterycyna B dla *Candida* (30 µg/krążek) ± SD (odchylenie standardowe), () procentowe zahamowanie mikroorganizmów w porównaniu z odpowiednią kontrolą referencyjną (kontrola = 100%)

W tabeli 20 przedstawiono aktywność przeciwbakteryjną metanolowych ekstraktów z części nadziemnych i korzeni *S. nigrum* metodą seryjnych rozcieńczeń, oznaczając MIC/MCB. Drobnoustroje użyte w tym badaniu są związane z różnymi formami infekcji u ludzi, zwierząt i roślin. W badaniach ekstrakt z psianki wykazał skuteczność przeciwbakteryjną w różnym stopniu, przy wartościach MIC₉₀ wahających się od 125 do <500 µg·ml⁻¹. Ekstrakty z części nadziemnych wykazywały lepszą aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec różnych szczepów bakterii niż ekstrakty z korzeni. Generalnie ekstrakty z części nadziemnych wykazują MIC w zakresie od 125 do 250 µg·ml⁻¹, podczas gdy ekstrakty z korzeni zwykle 500 µg·ml⁻¹ lub więcej. Najniższe minimalne stężenie hamujące stwierdzono wobec patogenu roślinnego z rodzaju *P. carotovora* szczep 1815 i 1822 (MIC=125 µg·ml⁻¹) oraz ziarniaków Gram-dodatnich (MIC=250 µg·ml⁻¹). Natomiast działanie bakteriobójcze obserwowano przy 2-krotnym stężeniu (odpowiednio MBC=250 µg·ml⁻¹ lub MBC=500 µg·ml⁻¹). Ekstrakty z części nadziemnych również hamowały wzrost pałeczek endosporotwórczych i *E. coli*, ale już przy stężeniu MIC=500 µg·ml⁻¹. Ekstrakt z korzeni nie wykazywał aktywności wobec *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa* i *C. albicans* w badanej kombinacji.

Tab. 20. Wartości MIC₉₀ i MBC (µg·ml⁻¹) metanolowych wyciągów z psianki czarnej (*Solanum nigrum* L.) wobec bakterii i drożdży

Lp.	Szczepy bakterii i drożdży	Wyciąg z części nadziemnej		Wyciąg z korzeni	
		MIC ₉₀	MCB	MIC ₉₀	MCB
1.	<i>M. luteus</i> PCM 1944	250	250	500	500
2.	<i>S. canis</i> KW-Sac1	250	250	500	<500
3.	<i>S. agalactiae</i> PCM 2683	250	500	500	<500
4.	<i>S. aureus</i> PCM 2054	250	500	<500	<500
5.	<i>S. pseudintermedius</i> PCM 2741	250	500	500	<500
6.	<i>B. subtilis</i> PCM 1949	500	<500	<500	<500
7.	<i>B. cereus</i> PCM 2019	500	<500	<500	<500
8.	<i>E. coli</i> PCM 2057	<500	<500	<500	<500
9.	<i>P. aeruginosa</i> PCM 2058	<500	<500	<500	<500
10.	<i>P. carotovora</i> IOR 1815	125	250	500	500
11.	<i>P. carotovora</i> IOR 1822	125	250	500	500
12.	<i>E. chrysantemi</i> IOR 1452	250	250	500	<500
13.	<i>P. atrosepticum</i> IOR 1825	250	250	250	500
14.	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<500	<500	<500	<500

MIC₉₀ – minimalne stężenie hamujące powodujące 90% zahamowanie wzrostu; MBC – minimalne stężenie bakteriobójcze, < Brak aktywności w dawce od 125 do 500 µg·ml⁻¹

5.3.3. Analiza chemiczna związków psianki czarnej i ocena cytotoksyczności

Ogólna zawartość związków flawonoidowych w korzeniach i częściach nadziemnych *S. nigrum* wynosiła odpowiednio 12,49±0,17 mg QE/g suchego ekstraktu i 15,73±0,22 mg QE/g suchego ekstraktu. Jeśli chodzi o szczegółową analizę opartą na Wu et al. (2013) w ekstraktach poszukiwano dwudziestu czterech związków należących do grupy flawonoidów (tab. 21), glikozydów steroidowych, glikoalkaloidów steroidowych lub alkaloidów steroidowych (tab. 22), a dziewiętnaście z nich znaleziono w co najmniej jednym próbka. Spośród flawonoidów delfinidyna-3-O-(6''-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozyd, izokwercytryna, naringenina i pelargonid-in-3-O-(6''-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozydów stwierdzono zarówno w częściach nadziemnych, jak iw ekstrakcie z korzeni, natomiast wśród glikozydów steroidowych, glikoalkaloidów steroidowych lub alkaloidów steroidowych solamarginę, solaninę, solasodynę, solasoninę i tomatynę stwierdzono w obu ekstraktach.

Table 21. Zawartość flawonoidów (%) w metanolowych ekstraktach psianki czarnej (*S. nigrum*)

Nr	Związek chemiczny	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	Części nadziemne	Korzenie
1.	Astragalin	449.2	nd	nd
2.	Cyandyna-3-O-(6''-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozydu	595.0	0.82±0.11	nd
3.	Delfinidyna-3-O-(6''-O- α -rhamnopyranosyl)- β -glukopiranozyd	611.0	22.62±0,16	5.51±0.13
4.	eriodyktol	289.0	2.17±0.09	nd
5.	izokwercytryna	465.1	7.74±0.16	6.31±0.15
6.	Kempferol-3-O-rutynozyd	595.1	2.72±0.11	3.66±0.12
7.	Kempferol-3-O-rutynozydo-7-O-glukozyd	757.0	0.85±0.12	2.87±0.10
8.	Linalool-3-O-glukopiranozy-(1-6)-arabinopiranozyd	449.2	nd	nd
9.	Naryngenina	273.0	3.54±0.20	14.14±0.19
10.	Chalkon-glukozyd naryngeniny	435.0	nd	3.77±0.04
11.	Naringenina-7-O-glukozyd	435.0	nd	3.69±0.08
12.	Pelargonidyno-3-O-(6''-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozydu	579.0	34.39±0.30	60.05±0.21
13.	Kwercetyna-3-O-gentiobiozydu	627.0	2.84±0.05	nd
14.	Rutyna	611.0	22.54±0.15	nd

nd – nie wykryto; ± – SD (odchylenie standardowe);

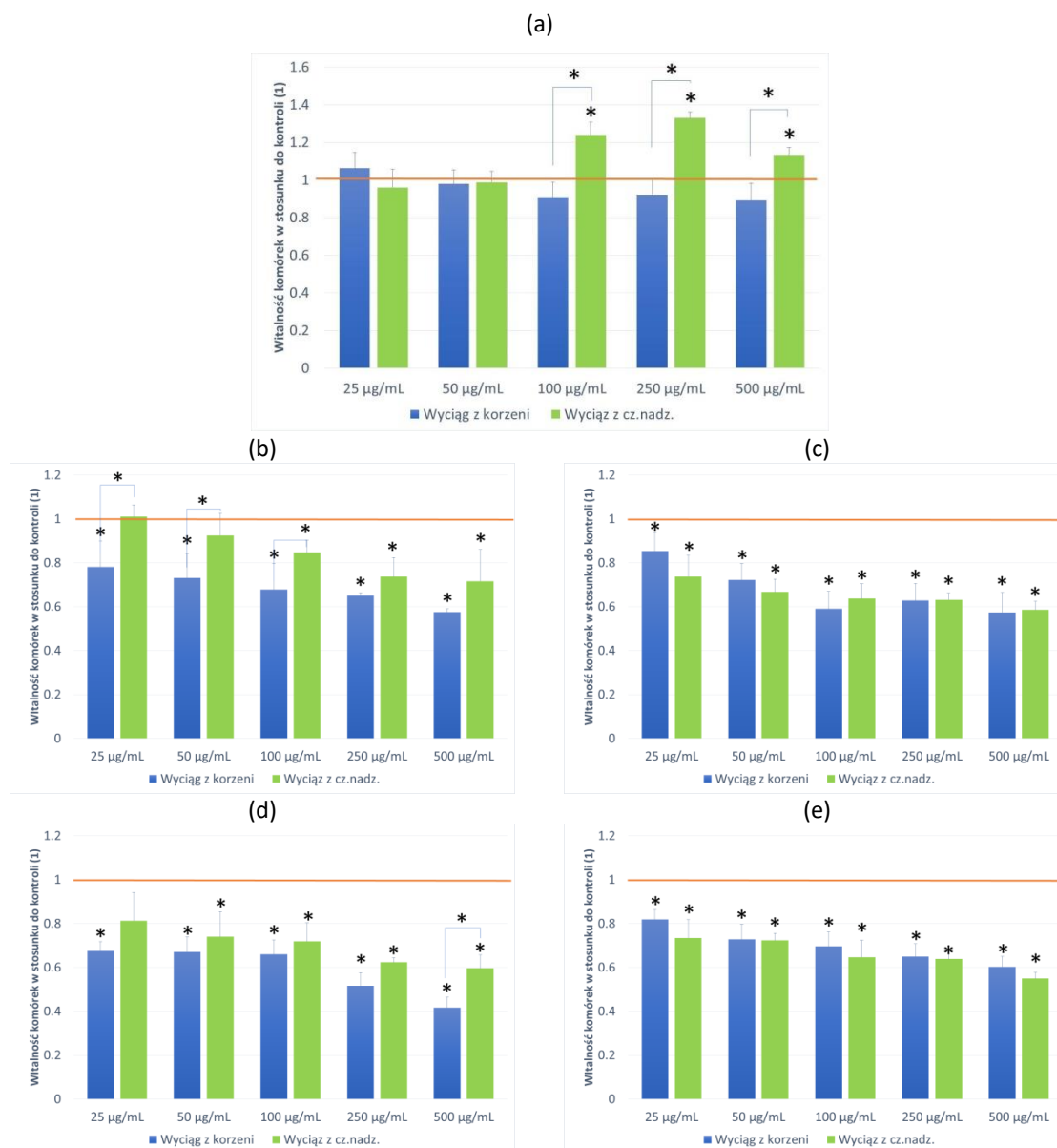
Tab. 22. Profil alkaloidów steroidowych wyciągów z psianki czarnej (*S. nigrum*) oraz zawartość glikozydów i glikoalkaloidów steroidowych

Nr	Związek chemiczny	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	Części nadziemne	Korzenie
1.	Chakonina	852.5	-	-
2.	Demissinea	1019.2	-	++
3.	Solamargina	868.4	+	+
4.	Chakotriosa solanidadienolu	900.3	-	-
5.	Solatriose solanidadienolu	916.3	-	-
6.	Solanidyna	397.5	+	+
7.	Solanina	868.5	+++	++
8.	Solasodyna	414.5	+	-
9.	Solasonina	884.4	+	+
10.	Tomatyna	1035.2	+	+

Podczas testów aktywności biologicznej wpływ na żywotność hodowli komórkowych oceniano w teście MTT (Ryc. 5). Równolegle przeprowadzono ocenę liczby żywotności komórek (Ryc. 6) w automatycznym liczniku w celu określenia, czy obserwowany w teście MTT efekt związany jest z hamowaniem wzrostu komórek lub cytotoksycznością badanych ekstraktów. Badane ekstrakty różnią się wpływem na hodowlę komórkową. W przypadku normalnych komórek, ludzkich fibroblastów (ryc. 5a), zaobserwowano o 33% większą liczbę fibroblastów, gdy zastosowano ekstrakt z części nadziemnych w stężeniu 250 µg·ml⁻¹. Większy wzrost liczby komórek obserwuje się również przy stężeniach 100 i 500 µg·ml⁻¹ i jest podobny. Wzrost żywotności w teście MTT sugeruje szybszą proliferację fibroblastów i możliwe proregeneracyjne działanie badanego ekstraktu. Dla innych stężeń i ekstraktu z korzenia nie obserwuje się efektu pobudzania wzrostu komórek. Ekstrakt z korzenia ma niewielki wpływ hamujący na żywotność komórek. W przypadku hodowli fibroblastów nie widać wpływu na liczbę żywych komórek (Ryc. 6).

Inne testowane linie komórkowe były liniami nowotworowymi. Linia monocytów THP1 jest stosowana jako model wpływu związków na komórki zaangażowane w stan zapalny. W przypadku tej linii zaobserwowaliśmy spadek żywotności komórek w teście MTT. Większy efekt zaobserwowano w przypadku ekstraktu z korzenia. Wywierał hamujący wpływ na komórki już od najniższego badanego stężenia, a efekt ten był zależny od stężenia ekstraktu. W przypadku ekstraktu z części nadziemnych działanie hamujące było słabsze i widoczne dopiero przy stężeniu

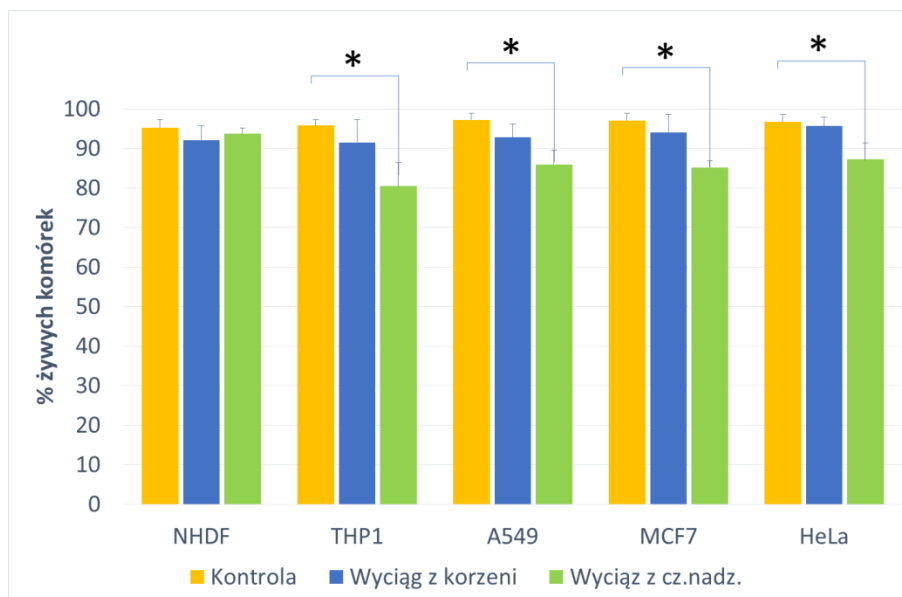
100 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Stwierdzono wpływ ekstraktu z części nadziemnych na liczbę żywych komórek (o 15% w porównaniu z kontrolą).



Ryc 5. Wyniki testu MTT. Wyniki NHDF (a), THP1 (b), A549 (c) MCF-7 (d), HeLa (e) po 24-godzinnej inkubacji z testowanymi ekstraktami roślinnymi w 5 stężeniach. Wyniki są średniami z 5 niezależnych eksperymentów \pm SD. Wyniki przedstawiono jako stosunek wartości uzyskanej w teście do hodowli kontrolnej. Różnice pomiędzy wynikami dla badanych ekstraktów roślinnych w porównaniu z kontrolą oraz pomiędzy ekstraktami (* $p < 0,05$)

W przypadku innych badanych linii raka płuca, piersi i szyjki macicy aktywność obu ekstraktów była podobna i oba wykazywały działanie hamujące na komórki nowotworowe. W przypadku linii MCF7 ekstrakt z części nadziemnych wykazuje mniejszy wpływ na witalność, zwłaszcza w najwyższym badanym stężeniu. Działanie obu ekstraktów jest zależne od stężenia. Zmniejszenie żywotności wahało się, w

zależności od linii, od 43% (A549) do 59% (MCF7) Ryc. 5. Spadek liczby żywych komórek zaobserwowano również dla trzech linii komórkowych Ryc. 6. Było to wyraźnie widoczne po inkubacji z ekstraktami wyizolowanymi z nadziemnych części rośliny. W przypadku ekstraktu z korzenia nie zaobserwowano takiego efektu. Wyniki wskazują, że obserwowany efekt w teście MTT wynika ze zmniejszenia wzrostu komórek. Spadek żywotności komórek w porównaniu z kontrolą jest niewielki, w zakresie od 9,4 (HeLa) do 11,9 (MCF7).



Ryc. 6. Procent żywych komórek dla różnych linii komórkowych w porównaniu z kontrolą. Istotność statystyczna różnic między wynikami dla badanych związków w porównaniu z kontrolą dla każdej linii osobno (* $p < 0,05$).

6. DYSKUSJA

Trwająca obecnie w Polsce i na świecie tendencja do znacznej redukcji zużycia chemicznych środków ochrony roślin, zaowocowała badaniami nad możliwością zastąpienia fungicydów związkami naturalnymi pozyskiwanymi z roślin o dużej zawartości substancji aktywnych, o działaniu inhibitującym lub stymulującym: olejków eterycznych, saponin glikozydów czy flawonoidów. Wiele tego typu środków jak Bioczoz, czy Biosept Active znalazło już zastosowanie w praktyce [Pięta et al. 2005, 2007].

Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że bardzo silnym inhibitorem wzrostu *Sclerotinia sclerotiorum* powodującego zgniliznę twardzikową na wielu roślinach uprawnych są m. in. wyciągi wodne z kory brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth) i liści orzecha włoskiego (*Juglans regia* L.). W testach *in vitro* oba wyciągi hamowały wzrost grzybni na poziomie 84% [Gleń i Boligłowa 2012]. Silnymi właściwościami fungistatycznymi w stosunku do tego patogenu jak i innych grzybów patogenicznych charakteryzował się ekstrakt z pestek i miąższu grejpfruta zawarty w preparacie Biosept Active [Pięta et al. 2005, 2007, Patkowska 2006, Gleń i Boligłowa 2012]. Również olejki eteryczne z kopru włoskiego (*Foeniculum vulgare* Mill.) i oregano syryjskiego omszonego (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii*) wykazywały silne działanie przeciwgrzybicze w stosunku do *S. sclerotiorum* niemal całkowicie hamując wzrost grzybni w testach *in vitro* [Soylu et al. 2007]. Uzyskane wyniki badań w tej pracy wskazują, że spośród przebadanych roślin, najsilniejsze działanie hamujące w stosunku do grzybni *S. sclerotiorum*, wykazał 1% wyciąg z całych roślin owsa głuchego. Współczynnik zahamowania wzrostu dla tej kombinacji wynosił 70%. Właściwości bioaktywne owsa głuchego wynikają z obecności w korzeniach awenacyny – trójterpenowej saponiny o przeciwgrzybiczym działaniu. Między innymi dzięki obecności flawonoidów i saponin działających przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybiczo owies wykazuje wysoką odporność na porażenie przez grzyby chorobotwórcze [Cruz-Hipolito i in. 2011]. Ten sam wyciąg w stężeniu 0,1% nie wpływał na wzrost grzybni testowanego szczepu *Sclerotinia* spp. Z kolei 1% wyciąg z korzeni chwastu bylicy pospolitej (*Artemisia vulgaris*) hamował nieznacznie wzrost grzybni testowego szczepu. Roślina ta niegdyś stosowana była w ziołolecznictwie ze względu na wysoką zawartość olejków eterycznych wykazujących silne allelopatyczne i repelentne oddziaływanie. Ziele bylicy pospolitej, zwłaszcza jej kwiatostany i korzenie

oprócz olejków eterycznych zawierają także związki bioaktywne o charakterze glikozydowym [Barney et al. 2005, Judžentienė i Buzelytė 2006, Wanga et al. 2006].

Z roślin inwazyjnych działanie hamujące posiadał 1% wyciąg z całych roślin nawłoci kanadyjskiej. W tym przypadku współczynnik zahamowania wzrostu wynosił 30%. Wyciąg z nawłoci jako jedyny wykazał podobne właściwości także przy dziesięciokrotnie mniejszym stężeniu, gdzie współczynnik zahamowania wzrostu wynosił 18%. Uzyskane wyniki znajdują częściowo potwierdzenie w dostępnej literaturze, gdzie wykazano umiarkowany wpływ olejków eterycznych z *Solidago canadensis* L. i innych pokrewnych gatunków, jak: *Solidago virgaurea* L. czy *Solidago chilensis* Meyen na *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout oraz bakterii z rodzajów *Escherichia* i *Bacillus* [Jiang et al. 2006, Mishra et al. 2010, 2011]. Olejek z *S. canadensis* może zawierać szereg substancji allelopatycznych, w tym siedem diterpenów typu klerodanu spokrewnionych z kwasem kolawenowym i pięć poliacetylenów typu estrów, seskwiterpen germakren D, ester cis-dehydromatricaria (cis-DME) i poliacetylen. Niektóre z tych naturalnych produktów mają właściwości fitotoksyczne, przeciwgrzybicze i przeciwmrówkowe [Steliopoulos et al. 2002, Abhilasha et al. 2008].

Z kolei ekstrakt 1% z pędów słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus*) hamował wzrost grzybni *S. sclerotiorum* w 7%. Bzdęga et al. [2009] i Ma et al. [2011] uważają, że *H. tuberosus* może wykazywać silne oddziaływanie allelopatyczne za sprawą dużej zawartości terpenów i związków fenolowych. Wyciąg z liści rdestowca sachalijskiego ograniczył wzrost patogena w niewielkim stopniu. Konstantinidou-Doltsinis i Schmitt [1998] i Daayf et al. [2000] donoszą o wysokiej przydatności ekstraktu z rdestowca sachalińskiego w ograniczaniu rozwoju mączniaka prawdziwego dyniowatych *Podosphaera fuliginea* (Schltdl.) U. Braun & S. Takam (syn. *Sphaerotheca fuliginea* (Schltdl.) Pollacci) na ogórku szklarniowym. Wyciąg ten pełnił rolę stymulatora odporności, indukując syntezę związków fenolowych o działaniu przeciwgrzybowym przez rośliny ogórka. Nie znalazło to jednak potwierdzenia w przeprowadzonych badaniach. Wyciągi metanolowe z całych roślin kolczurki klapowanej zastosowane w stężeniu 1% spowolniły wzrost grzybni w również niewielkim stopniu. W dotychczasowych badaniach nie wykazano wpływu wyciągów z *E. lobata* na mikroorganizmy, jednak nigdy nie badano ich wpływu na *S. sclerotiorum* [Borchardt et al. 2008]. Pozostałe wyciągi wykazywały działanie stymulujące na wzrost grzybni, szczególnie w stężeniu 1% Wyciąg z pędów rdestowca sachalińskiego

stymulował wzrost grzybni na poziomie 9%, a wyciąg z liści słonecznika bulwiastego oraz całych roślin bylicy pospolitej 7%. Podgrzybek brunatny w największym stopniu stymulował wzrost grzybni (11%).

Porównując działanie przeciwgrzbicze wyciągów z chwastów pospolitych w ograniczaniu rozwoju *S. sclerotiorum* stwierdzono, że tylko wyciąg z owsa głuchego w znacznym stopniu ograniczał rozwój tego patogenu. Z roślin inwazyjnych najskuteczniej działał wyciąg z nawłoci kanadyjskiej, jednak słabiej w porównaniu do owsa. Pozostałe wyciągi z kolczurki klapowanej, rdestowca sachalijskiego czy słonecznika bulwiastego, zależnie od organu, z którego został sporządzony wyciąg w niewielkim stopniu hamowały wzrost grzybni *S. sclerotiorum*, a nawet ją stymulowały.

W sezonie wegetacyjnym rośliny mogą być zakażane nie tylko przez *S. sclerotiorum*, ale i wiele innych patogenów. Odporność roślin na infekcję przez grzyby strzępkowe zależy od składu chemicznego tkanki roślinnej. Mogą się w niej znajdować substancje, które są stale obecne w roślinie i decydują o jej wrodzonej odporności na infekcję. Ograniczają one lub całkowicie hamują wzrost mikroorganizmów po ich wnikięciu do gospodarza. Są też takie metabolity, których stężenie wzrasta po zakażeniu, np. terpenoidy, chinony i fenole [Dhellit i in. 2000, Jimenez i in. 2021]. Inną grupą metabolitów biorącą udział w odporności czynnej na czynniki chorobotwórcze to hydroksystilbeny. Obejmuje saponiny reprezentowane przez awenacynę obecną w roślinach owsa. Rośliny z rodzaju *Avena* mogą syntetyzować kilka rodzajów awenacyny a-1, a-2 i a-3. W korzeniach owsa w największej ilości oznacza się awenacynę a-1 [Mamatova i in. 2022]. Opracowań o tej tematyce jest niewiele, większość autorów skupia się na możliwościach ograniczenia występowania owsa głuchego jako uciążliwego chwastu pomijając możliwości wykorzystania go jako źródła związków bioaktywnych [Li i in. 2021, Cheng i in. 2021]. Z badań Gołębiowskiej i in. [2018] wynika, że wyciąg z owsa wykazał działanie hamujące wobec grzyba *Candida albicans*. Z kolei Mamatova i in. [2022] wykazali dużą aktywność biologiczną tego wyciągu wobec testowanych bakterii. Przeprowadzone badania potwierdziły skuteczność wyciągu z owsa głuchego w hamowaniu wzrostu grzybni fitopatogenów: *A. alternata*, *F. culmorum* oraz grzybów alergizujących i pleśni magazynowych: *Ch. globosum* i *A. flavus*.

Rzepak pospolity (*Agrimonia eupatoria*) jest powszechnie występującym chwastem w Polsce. To bylina łąkowa, wykorzystywana w ziołolecznictwie. Muruzović i in. [2016] wykazali w swoich badaniach, że wyciągi metanolowe z *A. eupatoria* mają

właściwości fungistatyczne wobec *C. albicans*, *Penicillium italicum*, *P. chrysogenum* oraz szeregu bakterii, takich jak: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Podobne wnioski w badaniach nad *C. albicans* i *P. aeruginosa* wyciągnęli inni autorzy [Hlebova i in 2023, Bělonožníková i in. 2023]. W badaniach nad przydatnością olejków eterycznych pokrewnego gatunku - *Agrimonia aitchisonii* wykazano, że olejek wpływał hamująco na wzrost grzybni *S. sclerotiorum*, *Alternaria tenuis*, *Colletotrichum graminola*, *R. solani*, *F. oxysporum*. Olejek z *A. aitchisonii* całkowicie hamował wzrost grzybni *S. sclerotiorum*, *A. tenuis*, *C. graminicola* i *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* w stężeniu 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ i 3000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ [Javed i in. 2016]. Doniesienia literaturowe znalazły częściowe potwierdzenie w przeprowadzonych badaniach, gdzie wykazano hamujący wpływ wyciągów z *A. eupatoria* wobec *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *C. globosum*, *A. niger* i *P. chrysogenum*.

Czystek szary to znany surowiec zielarski. Wśród bioaktywnych związków występujących w gatunkach z rodzaju *Cistus*, w tym w *C. incanus* znajdują się polifenole i flawonoidy szeroko cenione ze względu na ich potencjalne korzystne działanie zdrowotne. Związki te wykazują szeroki zakres właściwości przeciwwzapalnych, przeciwwirusowych, przeciwwrzodowych, działają cytotoksycznie oraz wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe [Viapiana i in. 2017, Lahcen i in 2020]. Lahcen i in. [2020] badając *C. incanus* subsp. *creticus* wykazali silne właściwości grzybobójcze olejku z tej rośliny wobec *Penicillium digitatum* i *A. niger*. Ekstrakt wodno-metanolowy z *C. incanus* wykazał wysoką aktywność przeciwko *A. parasiticus*, ponieważ w stężeniu 0,2 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ hamował wzrost w 46%. Ponadto hamował produkcję aflatoksyny B1 od 72,5% do 90,1% [Kalli i in. 2018]. Inne badania wskazują na potencjał ekstraktów z czystka w ochronie przed grzybami wywołującymi choroby pozbiorcze. Wykazano aktywność przeciwko *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Geotrichum candidum* z zahamowaniem wzrostu grzybni w zakresie od 27% do 79% przy użyciu ekstraktu metanolowego. Inne badania [Zalegh i in. 2021] dotyczące etanolowego ekstraktu z czystka przeciwko *Penicillium expansum* i *P. digitatum* wykazały wrażliwość *P. digitatum* przy MIC 1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, podczas gdy *P. expansum* był bardziej odporny z MIC więcej niż 10 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Uzyskane wyniki potwierdzają doniesienia literaturowe, ponieważ *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *C. globosum*, *A. flavus* i *P. chrysogenum* wykazały dużą wrażliwość na obecność wyciągu z czystka.

Harčárová i in. [2021] badając wpływ roślin z rodziny *Lamiaceae* na *F. graminearum* wykazali niewielką przydatność olejków z hyzopu lekarskiego w ograniczaniu tego grzyba. Pokrywa się to z uzyskanymi w pracy wynikami, gdzie wyciąg z hyzopu stymulował wzrost *F. graminearum* w trzech z czterech zastosowanych dawek. Camele [2010] w badaniach nad wpływem olejków eterycznych z 12 gatunków śródziemnomorskich ziół przeciwko *Penicillium italicum*, *B. cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, and *Phytophthora citrophthora* wykazał słaby wpływ wyciągu z hyzopu na badane grzyby. Uzyskane wyniki potwierdzają brak wrażliwości *B. cinerea* na wyciąg z *H. officinalis*, jednak badany *P. chrysogenum* był wrażliwy na zastosowanie wyciągu w zakresie dawek 50-500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Niektórzy autorzy [Letessier 2001, Dżamić i in. 2013] wskazują na przydatność olejków eterycznych z hyzopu w ograniczaniu wzrostu grzybów strzępkowych. Brakuje jednak doniesień na temat wpływu wyciągów z tej rośliny na grzyby strzępkowe. Wykazano również istotny wpływ olejków eterycznych z hyzopu na szereg bakterii, takich jak: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus hauseri*, *Listeria monocytogenes*, *Rhodococcus equi*, *Listeria ivanovii*, *Salmonella enteritidis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria innocua* i *Bacillus spizizenii*. Właściwości te przypisuje się obecności β -pinenu, izopinokamfonu, terpinen-4-olu, karwakrolu, pinokarwonu, p-cymenu [Sharifi-Rad i in. 2022].

Abd-Ellatif i in [2011] w swoich badaniach nad wpływem wyciągów z roślin leczniczych na grzyby strzępkowe wykazali silne działanie hamujące ekstraktów metanolowych i heksanowych z *M. crystallinum* na *A. flavus*, *A. alternata*, *F. oxysporum*, *Fusarium solani*, *Bipolaris oryzae*, *R. solani*, *Chaetomium* sp. Inni autorzy donoszą o przydatności ekstraktów z *M. crystallinum* przeciwko patogenom zwierzęcym, takim jak: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *versicolor* [Abd-Ellatif i in. 2018]. Doniesienia literaturowe [Ibrahim i in. 2018] znalazły częściowe potwierdzenie w niniejszych badaniach, gdzie wykazano przydatność wyciągu z *M. crystallinum* do ograniczania wzrostu *A. alternata*, *S. sclerotiorum*, *R. solani* i *A. versicolor*. Badany szczep *A. flavus* w przeciwieństwie do wyników innych autorów był stymulowany przez dodatek wyciągu z *M. crystallinum*. Kuźniak i in. [2010] w swoich badaniach wykazali, że *M. crystallinum* może być z powodzeniem infekowany przez *B. cinerea*. Jest to zgodne z otrzymanymi wynikami analiz laboratoryjnych, gdzie dodatek wyciągu z *M. crystallinum* stymulował wzrost *B. cinerea*. Z doniesień literatury [Kang i in 2016] wynika, że przypołudnik kryształowy

jest rośliną bogatą w związki glikozydowe i flawonoidy (rutyna, neohesperydyna, hiperozyd). Są to związki wykazujące aktywność mikrobiologiczną, co potwierdziły badania nad wpływem wyciągów heksanowych i metanolowych z *M. crystallinum* na bakterie. Wyciągi te hamowały wzrost bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxycota*) i w mniejszym stopniu Gram-ujemnych (*Listeria ivanovsii*) [Rahman i in 2011, Ibtissem i in. 2012].

Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że najsilniej hamująco na patogeny roślin uprawnych oraz grzyby alergizujące i pleśniowe magazynowe oddziaływał wyciąg z byzopu, owsa, psianki czarnej i rzepiku pospolitego, szczególnie na *A. alternata* i *F. culmorum* oraz *Ch. globosum* i *A. flavus*.

Natomiast dużą wrażliwość na obecność wyciągu z czystka wykazały fitopatogeny: *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. alternata* oraz grzyby alergizujące: *Ch. globosum*, *A. flavus* i *P. chrysogenum*. Wśród grzybów patogenicznych z rodzaju *Fusarium*, najtrudniejsze do zwalczania były gatunki *F. poae* i *F. avenaceum*. Jedynie wyciąg z owsa wpływał hamująco na wzrost tych dwóch gatunków.

Zarodniki grzybów strzępkowych odgrywają istotną rolę w wywoływaniu alergii oraz mykotoksykoz u ludzi i zwierząt. Stanowią najliczniejszą grupę cząstek biologicznych obecnych w powietrzu. Swoją liczebnością znacznie przewyższająca liczbę ziaren pyłku. Przy każdym oddechu wdychamy od 1 do 10 zarodników grzybów. Budynki magazynowe są stale narażone na kolonizację przez mikroorganizmy. Może w nich żyć około kilkadziesiąt gatunków bakterii i ponad 400 gatunków grzybów pleśniowych. Źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych tych pomieszczeń są składowane plody rolne, elementy konstrukcyjne, wyposażenie budynków, instalacje wentylacyjne (klimatyzacyjne) oraz powietrze zewnętrzne. W środowisku wewnętrznym czynniki biologiczne unosząc się w powietrzu mogą powodować wiele niekorzystnych skutków zdrowotnych u pracujących tam osób. Występowanie i rozwój niektórych gatunków grzybów pleśniowych wiąże się z wytwarzaniem bardzo toksycznych metabolitów wtórnych (mykotoksyn). Długotrwały kontakt człowieka z gatunkami wytwarzającymi najgroźniejsze mykotoksyny takie jak: aflatoksyny (*A. flavus*), ochratoksyny (*A. ochraceus*), rubratoksyny (*Penicillium rubrum*) czy stachybotrytoksynę (*Stachybotrys chartarum*) może doprowadzić do śmierci. Związek pomiędzy ekspozycją na grzyby a astmą oskrzelową po raz pierwszy opisany został w 1726 r. przez Johna Floyera. Nazwano to później syndromem chorego budynku (ang. sick building syndrome, SBS) zdefiniowanym jako zespół dolegliwości zdrowotnych

pojawiający się w czasie przebywania w konkretnym miejscu (budynku) [Ochmański i Barabasz 2000].

Pospolity chwast psianka czarna (*Solanum nigrum*) zawiera liczne alkaloidy, saponiny steroidowe, żywice, olejki terpenowe m.in.: dillapiol, α -cadinol, *p*-cymen, α -phellandren, β -pinen oraz barwniki: brązowy, zielony i niebieski. Jest bardzo bogata w składniki odżywcze, mineralne, witaminy C oraz białka [Al-Qirim i in. 2008, Dhellot i in. 2006]. Zainteresowanie budzi obecność w tych roślinach diosgeniny - saponiny steroidowej o silnych właściwościach cytostatycznych, wykorzystywanej jako półproduktu do syntezy kortykosteroidów i hormonów płciowych [Raju i in. 2003, Ehssan i in. 2014]. Działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne wykazują szczególnie alkaloidy i saponiny. W przeprowadzonym doświadczeniu wyciągi z części nadziemnych psianki czarnej najlepiej hamowały wzrost *A. alternata*, *R. solani* i *Ch. globosum*. Natomiast wyciągi z korzeni dodatkowo hamowały wzrost *F. culmorum* i *B. sorokiniana*.

Wyniki badań dotyczące wpływu ekstraktów *S. nigrum* na bakterie wykazały, że wyciągi te posiadają właściwości przeciwdrobnoustrojowe i mogą potencjalnie stanowić naturalny środek do ich zwalczania. W pracy aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów z części nadziemnych i korzeni *S. nigrum* badano metodą dyfuzji krążkowej oraz metodą seryjnych rozcieńczeń w celu określenia MIC/MCB. Uzyskane wyniki wykazały różny stopień zahamowania wzrostu testowanych patogenów. Ekstrakty metanolowe wykazywały szerokie spektrum antybakteryjne w stosunku do badanych bakterii przy średnicy strefy inhibicji od 13 – 41%. Natomiast minimalne stężenie hamujące mieściło się w zakresie od 125 do 500 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ekstrakt z części nadziemnych wykazywał silniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe w porównaniu z ekstraktem z korzeni. Najbardziej wrażliwe na badane wyciągi były bakterie patogeniczne dla roślin (*Pectobacterium* spp.) oraz ziarniaki Gram-dodatnie.

Wcześniejsze doniesienia podkreślały, że ekstrakty z *S. nigrum* wykazują aktywność biologiczną zarówno wobec bakterii Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich oraz grzybów strzępkowych [Chauhan i in. 2012, Othman i in. 2017, Parameswari i in. 2012, Rajathi i in. 2015, Gbadamosi i in. 2016]. Zwykle aktywność przeciwdrobnoustrojową ekstraktów z *S. nigrum* bada się w zakresie stężeń od 25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}$ do 200 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ i zależy ona od składu jakościowego i ilościowego ekstraktów [Bakkali i in. 2008, Chauhan i in. 2012, Othman i in. 2017, Parameswari i in. 2012, Rajathi i in. 2015, Gbadamosi i in. 2016].

Działanie przeciwbakteryjne *S. nigrum* zostało opisane w literaturze głównie przeciwko patogenom ludzkim, takim jak: *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp. *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. zapalenie płuc, *Proteus vulgaris* [Gadoh Abbas i in., 2009, Sridhar i in., 2011]. Gadoh Abbas i in. [2009] wykazali antybakteryjne działanie ekstraktu etanolowego z liści psianki czarnej wobec bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) i Gram-ujemnych (*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*) w zakresie 14-20 mg·ml⁻¹. Sridhar i in. [2011] badali surowe ekstrakty metanolowe z liści, korzeni i nasion *S. nigrum*. Zaobserwowali najniższe MIC ekstraktów z liści wobec bakterii Gram-ujemnych na poziomie 4-32,5 µg·ml⁻¹. Metanolowe ekstrakty z korzeni nie wykazały działania na te bakterie, podobnie jak w przeprowadzonych badaniach. Z kolei Zubair i in. [2011] obserwowali zahamowanie wzrostu *Bacillus subtilis* przy stężeniu 300 mg·ml⁻¹ i *S. aureus* przy stężeniu 34 mg·ml⁻¹. Zaobserwowali również działanie przeciwgrzybicze wobec *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* i *Rhizopus solani* w zakresie 170-500 mg·ml⁻¹.

Uzyskane wyniki wskazują, że spośród badanych ekstraktów ekstrakt z owoców *S. nigrum* w stężeniu 500 µg·ml⁻¹ wykazywał najsilniejsze działanie hamujące na grzybnię *S. sclerotiorum*. Dotychczasowe badania wykazały, że bardzo silnym inhibitorem wzrostu tego grzyba wywołującego zgniliznę twardzikową na wielu uprawach są m.in. wyciągi wodne z kory brzozy i liści orzecha włoskiego [Gleń i Boligłowa 2012]. Silne właściwości fungistatyczne w stosunku do *Rhizoctonia solani*, *S. sclerotiorum* i innych grzybów chorobotwórczych wykazały ekstrakty z pestek i miąższu grejpfruta [Cvetnic i in. 2004, Patkowska 2006, Gleń i Boligłowa 2012]. Również olejki eteryczne z kopru włoskiego i oregano wykazywały silne działanie przeciwgrzybicze wobec *S. sclerotiorum*, prawie całkowicie hamując wzrost grzybni *in vitro* [Soylu et al. 2007]. Wyciągi z psianki czarnej mogą w przyszłości zostać wykorzystane w praktyce rolniczej do ograniczenia nasilenia występowania trudnych do zwalczania grzybów polifagicznych i bakterii chorobotwórczych dla roślin, jednak wymaga to dalszych badań.

Oznaczone stężenia związków flawonoidowych w metanolowych ekstraktach *S. nigrum* odpowiadały wcześniejszym ustaleniom. Całkowita zawartość fenolu w częściach nadziemnych została oznaczona wg Aryal et al. (2019) jako 16,42 mg QE/g suchego ekstraktu. W odniesieniu do korzeni *S. nigrum* w literaturze naukowej było bardzo mało wiarygodnych danych, jednak dla roślin należących do tej samej rodziny –

psiankowatych (*S. xanthocarpum* Schrad. i Wendl) łączna zawartość flawonoidów została określona na 15,83 mg QE/g ekstraktu suchego. Ponadto znalezione w ekstraktach z części nadziemnych i korzeni *S. nigrum* związki chemiczne częściowo odpowiadały ustaleniom Wu et al. [2013]. Najbardziej niepokojące były różnice, takie jak zidentyfikowanie w tym badaniu na przykład naringeniny, naringenino-7-O-glukozydu, O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozyd, del-finidyna-3-O-(6"-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozyd, pelargonid-in-3-O-(6"-O- α -ramnopiranozylo)- β -glukopiranozyd lub tomatyna w porównaniu z Wu i in. [2013]. Różnice te mogą być spowodowane różnymi chemotypami roślin, co zostało doskonale udokumentowane w literaturze naukowej w przypadku wtórnych metabolitów roślin. Ponadto Wu i in. [2013] nie precyzują, czy w ich badaniach do ekstrakcji wykorzystywano również korzenie roślin, co może być również przyczyną występujących różnic.

Do najważniejszych zidentyfikowanych związków w psiance czarnej należały: izokwercetyna, naringenina i jej pochodne, rutyna, demyzyna, solamargina, solanidyna, solanina, solasodyna, solasonina i tomatyna. Związki te należą do szerokiej grupy pod względem budowy chemicznej i są często wymieniane w licznych doniesieniach naukowych [Patel i in., 2013, Silva i in., 2015, Kozłowska i in., 2017, Sing i in., 2021]. Wszystkie te związki lub grupy, do których należą, można znaleźć w pracy przeglądowej przygotowanej przez Chauhan i in, [2012] na temat terapeutycznej roli *S. nigrum*, zwłaszcza w zakresie działania przeciwwirusowego, przeciwbakteryjnego, przeciwzapalnego, przeciwnowotworowego i inne czynności; opisano również niektóre działania ochronne roślin.

Badane ekstrakty wykazały aktywność wobec komórek linii nowotworowych poprzez hamowanie wzrostu komórek. W literaturze niewiele jest doniesień na temat działania ekstraktów uzyskanych z *S. nigrum*. Jednak ostatnie badania potwierdzają działanie badanych ekstraktów wobec komórek. Badanie Cheng-Jeng i in. [2012] wykazało aktywność ze znaczną cytotoksycznością w ludzkich komórkach raka endometrium poprzez aktywację śmierci komórek autofagii. W badaniu wykorzystano wodny ekstrakt z liści, autorzy nie informują jednak o jego składzie.

Działanie na komórki linii nowotworowych badał także inny autor [Mogład i in. 2014]. Do badań wykorzystano metanolowe i chloroformowe ekstrakty z liści i łodyg *S. nigrum*. Zostały one przetestowane pod kątem aktywności przeciwnowotworowej przy użyciu linii komórkowej ludzkiego raka prostaty PC-3 i linii komórkowej raka szyjki macicy Hela. Ponadto przeprowadzono testy na normalnych komórkach. Wszystkie

ekstrakty w stężeniu 100 µg/ml wykazywały działanie przeciwnowotworowe i były nietoksyczne dla prawidłowych komórek. Badanie to potwierdziło informacje o zastosowaniu *S. nigrum* w leczeniu raka w tradycyjnej medycynie Sudanu.

Wyniki testu MTT potwierdzają działanie antyproliferacyjne badanych związków, potwierdzając dane literaturowe. Same związki wykazują niską cytotoksyczność. Uzyskane wyniki wskazują na nowe możliwości zastosowania przeciwnowotworowego ekstraktów w profilaktyce raka płuca lub raka piersi – linie A549 i MCF7. Linia THP1 jest modelem do badania aktywności przeciwzapalnej związków. Otrzymane wyniki wykazały również hamowanie wzrostu tej linii komórkowej.

Uzyskane wyniki również potwierdzają przytoczone powyżej właściwości przeciwutleniające. Badane ekstrakty mogą działać ochronnie na komórki poprzez obniżanie poziomu wolnych rodników tlenowych. Co ważne, ich działanie zaobserwowano zarówno w komórkach nie poddanych stresowi oksydacyjnemu, jak i tych, które były inkubowane z H₂O₂. Prawdopodobnie ze względu na wyższą zawartość polifenoli ekstrakt z części nadziemnych wykazuje lepsze działanie.

Ekstrakt z części nadziemnych stymulował również proliferację fibroblastów. Efekt nie był duży, ale intensywny. Wzmocnienie wzrostu normalnych komórek może wyjaśniać prodegeneracyjne działanie ekstraktów stosowanych w medycynie tradycyjnej.

Przy ocenie składu polifenoli zawartych w badanych ekstraktach na szczególną uwagę zasługuje pelargonid. Związek ten występuje w dużych ilościach w obu badanych ekstraktach, zwłaszcza w ekstrakcie z korzenia. Związek ten wykazuje silne działanie przeciwnowotworowe poprzez indukcję apoptozy i zatrzymanie cyklu komórkowego. Wysoka zawartość tego silnego związku może tłumaczyć działanie chemoprewencyjne badanych ekstraktów.

7. WNIOSKI

1. Wyciągi z całych roślin owsa głuchego i nawłoci kanadyjskiej o stężeniu 1% hamowały wzrost grzybni *Sclerotinia sclerotiorum* na poziomie 70% i 30%, odpowiednio.
2. Wyciągi z pędów rdestowca sachalińskiego i liści słonecznika bulwiastego stymulowały wzrost *Sclerotinia sclerotiorum* w zakresie od 9% do 15%.
3. Wyciągi z hyzopu, owsa, psianki czarnej i rzepiku pospolitego wykazywały efekt fungistatyczny wobec patogenów roślin *A. alternata* i *F. culmorum* oraz grzybów alergizujących i pleśni magazynowych *Ch. globosum* i *A. flavus*.
4. Wrażliwość na wyciąg z czystka wykazały fitopatogeny: *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *A. alternata* oraz grzyby alergizujące i pleśnie magazynowe: *Ch. globosum*, *A. flavus* i *P. chrysogenum*.
5. Spośród testowanych grzybów najtrudniejsze do zwalczania były gatunki *F. poae* i *F. avenaceum*, jedynie wyciąg z owsa wpływał hamująco na wzrost tych dwóch gatunków (~28%).
6. Wyciągi z psianki czarnej o stężeniu 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ wykazują właściwości fugistatyczne w stosunku do niektórych patogenów roślin, np. *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia sclerotiorum* oraz bakterii z rodzaju *Pectinovorum*.
7. Wzrost patogena pieczarki (*Trichoderma aggressivum*) najskuteczniej ograniczał wyciąg z owoców psianki czarnej.
8. Bakterie Gram-ujemne były bardziej wrażliwe na wyciągi z części nadziemnych psianki czarnej niż na wyciągi z korzeni.
9. Ekstrakty z części nadziemnych psianki czarnej wykazywały oddziaływanie bakteriostatyczne w zakresie dawek 250-500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ i bakteriobójcze w zakresie 500-1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Najbardziej wrażliwe były szczepy *Dickeya chrysanthemi* i *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*.
10. Ekstrakty z psianki wykazują działanie proliferacyjne na komórki fibroblastów i możliwe proregeneracyjne działanie badanego ekstraktu.
11. Badane ekstrakty wykazały aktywność wobec komórek linii nowotworowych poprzez hamowanie wzrostu komórek

8. LITERATURA

1. Abbey, J. A., Percival, D., Abbey, L., Asiedu, S. K., Prithiviraj, B., Schilder, A. (2019). Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*)—prospects and challenges. *Biocontrol Science And Technology*, 29 (3), 207-228.
2. Acharya, K., Dutta, A. K., Pradhan, P. (2011). *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.: The most destructive wheat fungal pathogen in the warmer areas. *Australian Journal of Crop Science*, 5 (9), 1064-1071.
3. Alabouvette C., Lemanceau P., Steinberg C., (1993). Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. *Pesticide Science* 37 (4): 365-373.
4. Alayande, L., Bawa, G. S., Rano, N. B., Ogundipe, S. O. (2023). Response of broiler chickens fed aflatoxin maize-based diets supplemented with various levels of mycotoxin binder. *Slovak Journal of Animal Science*, 56 (01), 17-29.
5. Ali, E. M. (2013). Phytochemical composition, antifungal, antiaflatoxic, antioxidant, and anticancer activities of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Matricaria chamomilla* L. essential oils. *J. Med. Plants Res*, 7 (29), 2197-2207.
6. Al-Qirim T., Zaidi S.M., Shahwan M., Shattat G., Banu N., (2008). Effect of *Solanum nigrum* on immobilization stress induced antioxidant defence changes in rat. *Res. Biol. Sci.*, 3: 1426-1429.
7. Al-Sadi, A. M. (2021). *Bipolaris sorokiniana*-induced black point, common root rot, and spot blotch diseases of wheat: A review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11: 584899.
8. Atanu F.O., Ebiloma U.G., Ajayi E.I., (2011). A review of the pharmacological aspects of *Solanum nigrum* Linn. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.*, 6 (1): 001-007.
9. Aulakh, J. S. (2020). Role of nitrogen and herbicides in integrated management of mugwort (*Artemisia vulgaris*) in cool-season forage grasses. *Invasive Plant Science and Management*, 13(3), 189-198.
10. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., (2008). Biological effects of essential oils - a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475
11. Barnett, H.L., Hunter, B.B., (1999). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Prentice Hall Inc., Upper Saddle River.
12. Baruah, P., Chandam, M., Tewari, A. K. (2022). Sclerotinia rot of mustard: Losses and management. *Plant Disease Research*, 37(2), 267-267.

13. Bawa, I., (2016). Management strategies of *Fusarium* wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) A Review. Int. J. Adv. Acad. Res 2 (5): 32-42..
14. Bečka, D., Šimka, J., Boker, P., Prokinová, E., Bečková, L. (2012). Diagnostika hlízenky obecné (*Sclerotinia sclerotiorum*) u řepky ozimé pomocí odběru korunních plátků (Petal test). In Sborník z konference „Prosperující olejniny (Vol. 6, No. 7, p. 12).
15. Behnke-Borowczyk, J., Kwaśna, H. (2010). Significance of the soil fungi. Sylwan, 154(12), 846-850.
16. Benelli, G., Pavela, R., Cianfaglione, K., Nagy, D. U., Canale, A., Maggi, F. (2019). Evaluation of two invasive plant invaders in Europe (*Solidago canadensis* and *Solidago gigantea*) as possible sources of botanical insecticides. Journal of Pest Science, 92, 805-821.
17. Bernacka, K., Bednarska, K., Starzec, A., Mazurek, S., Fecka, I. (2022). Antioxidant and Antiglycation Effects of *Cistus × incanus* Water Infusion, Its Phenolic Components, and Respective Metabolites. Molecules, 27(8), 2432.
18. Bi, K., Liang, Y., Mengiste, T., & Sharon, A. (2022). Killing softly: A roadmap of *Botrytis cinerea* pathogenicity. Trends in Plant Science.
19. Bolton, M. D., Thomma, B. P., Nelson, B. D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Molecular plant pathology, 7(1), 1-16.
20. Booth C., (1971). The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
21. Boukhatem, M. N., Boumaiza, A., Nada, H. G., Rajabi, M., & Mousa, S. A. (2020). Eucalyptus globulus essential oil as a natural food preservative: Antioxidant, antibacterial and antifungal properties in vitro and in a real food matrix (orangina fruit juice). Applied Sciences, 10(16), 5581.
22. Chauhan A., Ruby K.M., Shori A., Dwivedi J., 2012. *Solanum nigrum* with dynamic therapeutic role: A review. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 15: 65-71.
23. Chen, F. J., Long, X. H., & Li, E. Z. (2019). Evaluation of antifungal phenolics from *Helianthus tuberosus* L. leaves against *Phytophthora capsici* leonian by chemometric analysis. Molecules, 24(23), 4300.

24. Cheng-Jeng Tai Tai C.J., Wang, C.K., Chang, Y.J., Lin, C.S., Tai, C.J. (2012). Aqueous Extract of *Solanum nigrum* Leaf Activates Autophagic Cell Death and Enhances Docetaxel-Induced Cytotoxicity in Human Endometrial Carcinoma Cells. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2012:859185.
25. Chowdhury N., Anupam G., Goutam C., (2008). Mosquito larvicidal activities of *Solanum villosum* berry extract against the dengue vector *Stegomyia aegypti*. *BMC Complemen. Alternat. Medicine*, 8 (1): 1-8.
26. Cruz-Hipolito, H., Osuna, M. D., Dominguez-Valenzuela, J. A., Espinoza, N., De Prado, R. (2011). Mechanism of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in wild oat (*Avena fatua*) from Latin America. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7261-7267.
27. Cvetnic Z., Sanda Vladimir-Knezevic., (2004). Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract. *Acta Pharm.*, 54 (3): 243-250.
28. De Santis, D., Frangipane, M. T. (2018). Evaluation of chemical composition and sensory profile in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L) tubers: The effect of clones and cooking conditions. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 11, 25-30.
29. De Simone N., Pace B., Grieco F., Chimienti M., Tyibilica V., Santoro V., Capozzi V., Colelli G., Spano G., Russo P, 2020. *Botrytis cinerea* and table grapes: A review of the main physical, chemical, and bio-based control treatments in post-harvest. *Foods* 9 (9): 1138.
30. Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414-430.
31. Dhellot J.R., Matouba E., Maloumbi M.G., Nzikou J.M., Dzondo M.G., *et al.*, (2006). Extraction and nutritional properties of *Solanum nigrum* L. seed oil. *Afr. J. Biotechnol.*, 5: 987-991.
32. Dimcheva, V., & Karsheva, M. (2018). *Cistus incanus* from Strandja mountain as a source of bioactive antioxidants. *Plants*, 7(1), 8.
33. Doohan F.M., Brennan J., Cooce B.M., (2003). Influence of climatic factors on *Fusarium species* pathogenic to cereals. *Eur. J. Plant Pathol.*, 109: 755-768.

34. Dubey N.K., Kumar A., Singh P., Shukla R., (2009). Exploitation of natural compounds in eco-friendly management of plant pests. In book: Recent developments in management of plant diseases: 181-198.
35. Elkhateeb, W. A., Kolaibe, A. G. A., Elkhateeb, A., Daba, G. M. (2021). Allergen, pathogen, or biotechnological tool? The dematiaceous fungi *Alternaria* what's for it and what's on it. *J. Pharm. Pharmacol. Res*, 4, 1-6.
36. Ellis, M.B. (1976). More dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 507.
37. Ellis, M.B., (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England: 608.
38. El-Mahdy, O. M., Mohamed, H. I., Mogazy, A. M. (2021). Biosorption effect of *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysosporium* for Cd-and Pb-contaminated soil and their physiological effects on *Vicia faba L.* *Environmental Science and Pollution Research*, 28(47), 67608-67631.
39. Elshafie, H. S., Gruřová, D., Baranová, B., Caputo, L., De Martino, L., Sedlák, V., De Feo, V. (2019). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil extracted from *Solidago canadensis L.* growing wild in Slovakia. *Molecules*, 24(7), 1206.
40. Fecka, I., Włodarczyk, M., Starzec, A. (2020). Isolation and structure elucidation of cistus: A new ellagitannin from *Cistus× incanus L.* leaves. *Industrial Crops and Products*, 158, 112971.
41. Fink i Grermels J., 1999. Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Veterinary Quarterly* 21 (4): 115-120.
42. Fleurat-Lessard F., 2017. Integrated management of the risks of stored grain spoilage by seedborne fungi and contamination by storage mould mycotoxins—An update. *J. Stored Products Res.* 71: 22-40.
43. Fraç M., Jezierska-Tys S., Yaguchi T., (2015). Occurrence, detection, and molecular and metabolic characterization of heat-resistant fungi in soils and plants and their risk to human health. *Advances in Agronomy* 132: 161-204.
44. Gadoh Abbas H., Abdul-Imam Almazini M., Abdul-Amer A., (2009). Antibacterial activity of the solasodine of *Solanum nigrum* against bacterial isolates from the wounds. *Basrah J. Vet. Res.*, 8: 137-147.

45. Gawel-Beben, K., Kukula-Koch, W., Hoian, U., Czop, M., Strzepak-Gomółka, M., & Antosiewicz, B. (2020). Characterization of *Cistus*× *incanus* L. and *Cistus ladanifer* L. extracts as potential multifunctional antioxidant ingredients for skin protecting cosmetics. *Antioxidants*, 9(3), 202.
46. Gbadamosi I.T., Afolayan A.J., (2016). In vitro anti-radical activities of extracts of *Solanum nigrum* (L.) from South Africa. *J. Appl. Biosci.*, 98: 9240-9251.
47. Gębarowska Gębarowska, E., Łyczko, J., Rdzanek, M., Wiatrak, B., Płaskowska, E., Gołębiowska, H., Gębarowski, T. (2022). Evaluation of Antimicrobial and Chemopreventive Properties and Phytochemical Analysis of *Solanum nigrum* L. Aerial Parts and Root Extracts. *Applied Sciences*, 12(14), 6845.
48. Gleń K., Boligłowa E., (2012). Ocena aktywności fungistatycznej wyciągów roślinnych w testach in vitro. *J. Res. Applications in Agricultural Engineering*, 57 (3): 104-109.
49. Glomb, T.; Wiatrak, B., Gębczak, K.; Gębarowski, T.; Bodetko, D.; Czyżnikowska, Ż.; Świątek, P. (2020) New 1,3,4-Oxadiazole Derivatives of Pyridothiazine-1,1-Dioxide with Anti-Inflammatory Activity. *Int. J. Mol. Sci.*, , 21, 9122.
50. Hahn M., (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *J. Chem. Biol.* 7: 133-141
51. Hahn M., (2014). The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study." *Journal of Chemical Biology* 7: 133-141.
52. Hameed A., Ijaz S., Shair M. I., Sher M.K., Akhtar N., Shoaib Khan H.M., (2017). Aglycone solanidine and solasodine derivatives: A natural approach towards cancer. *Biomed. Pharmacother.*, 94: 446-457.
53. Hameed, A.; Ijaz, S.; Shair Mohammad, I.; Sher Muhammad, K.; Akhtar, N.; Shoaib Khan, H.M. (2017) Aglycone solanidine and solasodine derivatives: A natural approach towards cancer. *Biomed. Pharmacother.*, , 94, 446–457,
54. Hanlin R.T., (1997). *Illustrated Genera of Ascomycetes*. Vol I. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
55. Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153(6), 1677-1692.

56. Hegedus, D. D., Rimmer, S. R. (2005). *Sclerotinia sclerotiorum*: when “to be or not to be” a pathogen?. *FEMS microbiology letters*, 251(2), 177-184.
57. Hussein S., Brasel J.M., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals." *Toxicology* 167 (2): 101-134.
58. Hussein, H. M., Abdalakhwa, S. H., Razaq, R. A. (2020). Comparison of Average Inhibition Zones of Methanolic Extracts of *Chaetomium globosum* on the Growth of Different Groups of Pathogenic Micro-Organisms. *Medico-legal Update*, 20(4), 2043.
59. Ielciu, I. I., Vlase, L., Frederich, M., Hanganu, D., Păltinean, R., Cieckiewicz, E., Crișan, G. (2017). Polyphenolic profile and biological activities of the leaves and aerial parts of *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray (Cucurbitaceae). *Farmacia*, 65(2).
60. Ielciu, I., Hanganu, D., Ramona, P., Vlase, L., Frederich, M., Gheldiu, A. M., Cri, G. (2018). Antioxidant capacity and polyphenolic content of the *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. et A. Gray flowers. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(2).
61. Kalia A., Gosal S.K., 2011. Effect of pesticide application on soil microorganisms. *Archives of Agronomy and Soil Science* 57 (6): 569-596.
62. Kim, Y. J., Kim, H. M., Kim, H. M., Lee, H. R., Jeong, B. R., Lee, H. J., Hwang, S. J. (2021). Growth and phytochemicals of ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) as affected by various combined ratios of red and blue LEDs in a closed-type plant production system. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 20, 100267.
63. Kimura Y., Németh M.Z. , Numano K. , Mitao A. , Shirakawa T. , Seress D., Takikawa Y., Kakutani K. , Matsuda Y. , Kiss L., Nonomura T., (2023). Hyperparasitic fungi against melon powdery mildew pathogens: Quantitative analysis of conidia released from single colonies of *Podosphaera xanthii* parasitised by *Ampelomyces*. *Agronomy* 13 (5). 1204.
64. Kodama, M. (2019). Evolution of pathogenicity in *Alternaria* plant pathogens. *Journal of General Plant Pathology*, 85(6), 471-474.
65. Kora, C., McDonald, M. R., Boland, G. J. (2003). *Sclerotinia* rot of carrot: an example of phenological adaptation and bicyclic development by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 87(5), 456-470.

66. Kora, C., McDonald, M. R., Boland, G. J. (2005). Epidemiology of sclerotinia rot of carrot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27(2), 245–258.
67. Koroluk, A., Sowa, S., & Paczos-Grzęda, E. (2022). Characteristics of Progenies Derived from Bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. Crosses. *Agriculture*, 12(11), 1758.
68. Kozłowska J., Grela E., Baczyńska D., Grabowiecka A., Anioł M., (2019). Novel o-alkyl derivatives of naringenin and their oximes with antimicrobial and anticancer activity. *Molecules*, 24: 679.
69. Kozłowska, J.; Grela, E.; Baczyńska, D.; Grabowiecka, A.; Anioł, M. (2019) Novel O-alkyl Derivatives of Naringenin and Their Oximes with Antimicrobial and Anticancer Activity. *Molecules*, , 24, 679,
70. Kruger, G. A., Ziprick, D., Peru, J. (2019). Soil applied contains WG as an integrated management approach to white mold. In *Soils and Crops Workshop*.
71. Kumar S., Sharma A.K., Rawat S.S., Jain D.K., Ghosh S., (2013). Use of pesticides in agriculture and Livestock animals and its impact on environment of India. *Asian J. Environmental Sci.*, 8 (1): 51-57.
72. Lachowicz, S. i Oszmiański, J. (2019). Profile of bioactive compounds in the morphological parts of wild *Fallopia japonica* (Houtt) and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) and their antioxidative activity. *Molecules*, 24(7), 1436.
73. Lahcen, S. A., El Hattabi, L., Benkaddour, R., Chahboun, N., Ghanmi, M., Satrani, B., i Zarrouk, A. (2020). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of Moroccan *Cistus creticus* leaves. *Chemical Data Collections*, 26, 100346.
74. Leslie, J.F., Summerell, B.A., 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Hoboken, 1-2.
75. Liava, V., Karkanis, A., Danalatos, N., & Tsiropoulos, N. (2021). Cultivation Practices, Adaptability and phytochemical composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): A weed with economic value. *Agronomy*, 11(5), 914.
76. Maiorano A., Blandino M., Reyneri A., Vanara F., (2008). Effects of maize residues on the *Fusarium* spp. Infection and deoxynivalenol (DON) contamination of wheat grain. *Crop Prot.*, 27, 2: 182-188.

77. Malik, S., de Mesquita, L. S. S., Silva, C. R., de Mesquita, J. W. C., de Sá Rocha, E., Bose, J., Costa-Júnior, L. M. (2019). Chemical profile and biological activities of essential oil from *Artemisia vulgaris* L. cultivated in Brazil. *Pharmaceuticals*, 12(2), 49.
78. Mandal, S., Vishvakarma, P., Verma, M., Alam, M. S., Agrawal, A., & Mishra, A. (2023). *Solanum Nigrum* Linn: An Analysis Of The Medicinal Properties Of The Plant. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 1595-1600.
79. Mari A., Riccioli D. (2004); The Allergome Web Site – a database of allergenic molecules. Aim, structure, and data of a web-based resource. 60th Annual Meeting American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 113:S301
80. Moglad Ehssan H.O., Abdalla Omer M., Koko W.S., Saadabi A.M., 2014. *In vitro* anticancer activity and cytotoxicity of *Solanum nigrum* on cancers and normal cell lines. *Int. J. Cancer Res.*, 10: 74-80.
81. Mohy-ud-dint, A.; Khan, Z.; Ahmad, M.; Kashmiri, MA., Chemotaxonomic value of alkaloids in *Solanum nigrum* complex., *Pak. J. Bot.*, 2010, 42 (1), 653–660.
82. Moretti A., Logrieco A.F., Susca A., (2017). Mycotoxins: An underhand food problem. *Mycotoxigenic Fungi. Methods Mol. Biol.*, 1542: 3-12.
83. Munda, S., Pandey, S. K., Dutta, S., Baruah, J., & Lal, M. (2019). Antioxidant activity, antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Artemisia vulgaris* L. leaves from Northeast India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 368-379.
84. Nawrot-Hadzik, I., Choromańska, A., Abel, R., Preissner, R., Saczko, J., Matkowski, A., & Hadzik, J. (2020). Cytotoxic effect of vanicosides A and B from *Reynoutria sachalinensis* against melanotic and amelanotic melanoma cell lines and in silico evaluation for inhibition of BRAFV600E and MEK1. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4611.
85. Nawrot-Hadzik, I., Hadzik, J., Fleischer, M., Choromańska, A., Sterczała, B., Kubasiewicz-Ross, P., Matkowski, A. (2019). Chemical composition of east Asian invasive knotweeds, their cytotoxicity and antimicrobial efficacy against cariogenic pathogens: An in-vitro study. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 3279.

86. Nelson P. E, Toussoun T. A., Marasas W. F. O., (1983). *Fusarium species : an illustrated manual for identification*, Pennsylvania State University Press, University Park.
87. Niinemets, Ü. (2016). Uncovering the hidden facets of drought stress: secondary metabolites make the difference. *Tree Physiology*, 36(2), 129-132.
88. Ochmański W., Barabasz W., (2000). Mikrobiologiczne zakażenia budynków i pomieszczeń mieszkalnych oraz ich wpływ na zdrowie (syndrom chorego budynku). *Przegląd Lekarski*, 57: 7-8.
89. Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K., & Cammue, B. P. (2020). Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*, 8(12), 1930.
90. Othman N.A.M.R., 2017. *Solanum nigrum* roots as an antibacterial agent. *International J. Chem. Tech. Res.*, 10 (4): 436-441.
91. Parameswari K., Sudheer A., Kishori B., (2012). *In vitro* antibacterial activity in the extracts of *Solanum nigrum*. *Indian Streams Research Journal*, 2 (7): 1-4.
92. Patel K., Singh R.B., Patel D.K., (2013). Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. *J. Acute Dis.*, 2: 92-98.
93. Patkowska E., (2006). Effectiveness of grapefruit extract and *Pythium oligandrum* in the control of bean and peas pathogens. *J. Plant Prot. Res.*, 46 (1): 15-28.
94. Płazek A. (2011). *Patofizjologia roślin*. Wyd. UR w Krakowie. Kraków. ss.139.
95. Pukacka A., *Kompendium symptomów chorób roślin i morfologii ich sprawców*, Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań 2012 r.
96. Rajathi D., Modilal M., Anandan R., Sindhu R., Logeshwari M.N., (2015). Screening of *Solanum nigrum* for its phytochemical and antimicrobial activity against respiratory tract pathogens. *Inter. J. Pure Appl. Zoology*, 3 (3): 210-215.
97. Raju K., Anbuganapathi G., Gokulakrishnan V., Raj Kapoor B., Jayakar B., Manian S., (2003). Effect of dried fruits of *Solanum nigrum* Linn against CCl₄-induced hepatic damage in rats. *Biol. Pharmaceut. Bull.*, 26: 1618-1619.
98. Raper K. B., Fennell D. I., (1965). *The Genus Aspergillus*, Baltimore.
99. Raper K. B., Thom C., (1949). *A manual of the Penicillium*, Baltimore.

100. Raper K.B., Thom C., (1968). A manual of the *Penicillia*, Hafner Publishing Company, New York.
101. Rebensburg S., Helfer M., Schneider M., Koppensteiner H., Eberle J., Schindler M., Gürtler L., Brack-Werner R. (2016). Potent in vitro antiviral activity of *Cistus incanus* extract against HIV and Filoviruses targets viral envelope proteins. *Sci Rep* 6: 20394.
102. Rifai M. A., (1969). A Revision of the Genus *Trichoderma*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
103. Savary S., Ficke A., Aubertot J-N., Hollier C., 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Security* 4 (4): 519-537.
104. Sawicka, B., Skiba, D., PszczóÅ, P., Aslan, I., Sharifi, J., & Krochmal-Marczak, B. (2020). Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as a medicinal plant and its natural products. *Cellular and Molecular Biology*, 66(4), 160-177.
105. Shahiladevi, L.; Jegadeesa, M. (2017) Antimicrobial Activity of Black Fruit Variant of *Solanum nigrum* L. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* , 6, 2706–2713.
106. Shivam M., Dubey S., Kumari R., Verma R., (2019). Management tactics for fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.): A review. *Management* 4 (5): 1-7. Maurya Shivam – co jest imieniem?
107. Shuping D. S. S., Jacobus N. E., (2017). The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: A review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14 (4): 120-127.
108. Silva-Beltrán N.P., Ruiz-Cruz S., Cira-Chávez L.A., Estrada-Alvarado M.I., Ornelas-Paz, J.D.J., López-Mata M.A., Del-Toro-Sánchez C.L., Ayala-Zavala J.F., Márquez-Ríos E., (2015). Tomatidine contents and antioxidant and antimicrobial activities of extracts of tomato Plant. *Int. J. Anal. Chem.*, 23 (12): 1-10.
109. Silva-Beltrán, N.P.; Ruiz-Cruz, S.; Cira-Chávez, L.A.; Estrada-Alvarado, M.I.; Ornelas-paz, J.D.J.; López-mata, M.A.; Del-toro-Sánchez, C.L.; Ayala-Zavala, J.F.; Márquez-ríos, E. (2015). Tomatidine Contents and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Tomato Plant. *Int. J. Anal. Chem.*, 1–10.
110. Sing M., Govindarajan R., Rawat A.K.S., (2021). Antimicrobial flavonoid rutin from *Pteris vittata* L. against pathogenic gastrointestinal microflora

- antimicrobial flavonoid rutin from *Pteris vittata* L. against pathogenic gastrointestinal microflora. *Am. Fern J.*, 98: 98-103.
111. Sing, M.; govindarajan, R.; rawat, A.K.S. Antimicrobial Flavonoid Rutin from *Pteris Vittata* L. (2021). Against Pathogenic Gastrointestinal Microflora Antimicrobial Flavonoid Rutin from *Pteris vittata* L. against Pathogenic Gastrointestinal Microflora. *Am. Fern J.*, 98, 98–103.
112. Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Patterson, L. M., Whittaker, R. G. (2005). Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Plant Dis.* 89, 595–604. doi: 10.1094/PD-89-0595
113. Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A., & Archer, S. A. (Eds.). (2009). *European handbook of plant diseases*. John Wiley & Sons;
114. Soylu S., Yigitbas H., Soylu E.M., Kurt S., (2007). Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiol.*, 103 (4): 1021-1030.
115. Sridhar T. M., Josthna P., Naidu C. V., (2011). Antifungal activity, phytochemical analysis of *Solanum nigrum* (L.)-an important antiulcer medicinal plant. *J. Ecobiotechnology*, 3 (7): 11-15.
116. Stanojević, O., Berić, T., Potočnik, I., Rekanović, E., Stanković, S., & Milijašević-Marčić, S. (2019). Biological control of green mould and dry bubble diseases of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus* L.) by *Bacillus* spp. *Crop protection*, 126, 104944.
117. Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323-339.
118. Suteu D., Rusu L., Zaharia C., Badeamu M., Daraban G.M., (2020). Challenge of utilization vegetal extracts as natural plant protection products." *Applied Sciences* 10 (24): 8913.
119. Tsrer, L. (2010). Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology*, 158(10), 649-658.
120. Vinogradova, Y., Shelepova, O., Vergun, O., Grygorieva, O., & Brindza, J. (2021). Phenolic content and antioxidant activity of *echinocystis lobata* (mich.) Torr. Et gray *Cucurbitaceae*. *Slovak Journal of Food Sciences*, 15.
121. Watanabe, T. (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species*. Third Edition (3rd ed.). CRC Press

122. Weeplian, T., Yen, T. B., & Ho, Y. S. (2018). Growth, development, and chemical constituents of edible ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) produced under combinations of light-emitting diode lights. *HortScience*, 53(6), 865-874.
123. Willbur, J., McCaghey, M., Kabbage, M., & Smith, D. L. (2019). An overview of the *Sclerotinia sclerotiorum* pathosystem in soybean: impact, fungal biology, and current management strategies. *Tropical Plant Pathology*, 44, 3-11.
124. Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P., Van Kan J.A.L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Mol Plant Pathol.* 8 (5): 561-580.
125. Wojtkowiak-Gębarowska E., (2006). Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Postępy Mikrobiologii*, 45 (4): 261-273].
126. Yasir Hussain Alrikabi, A., Protska, V. V., Kyslychenko, O., & Zhuravel, I. (2021). The study of reynoutria sachalinensis plant raw material fatty acid composition. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut*, 44(2), 397-405.
127. Yazdani D., Tan Y.H, Zainal Abidin M.A., Jaganath I.B., (2011). A review on bioactive compounds isolated from plants against plant pathogenic fungi. *J. Medicinal Plants Res.*, 5 (30): 6584-6589.
128. Yiannikouris A., Jouany J-P., 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review." *Animal Research* 51 (2): 81-99.
129. Zhang, Q., Shao, J., Han, R., & Wang, J. (2022). Effects of *Solanum nigrum* l. density on agronomic and yield traits, physiological indexes, and the economic threshold of mechanically-harvested cotton. *Gesunde Pflanzen*, 74(4), 879-888.
130. Zubair M., Rizwan K., Rasool N., Afshan N., Shahid M., Uddin Ahmed V., (2011). Antimicrobial potential of various extract and fractions of leaves of *Solanum nigrum*. *International Journal of Phytomedicine* 3: 63-67.

www 1: <https://www.epa.gov/safepestcontrol/integrated-pest-management-ipm-principles>

www 2: <https://zwyklapowinnosc.com/2020/04/16/wina-botrytyzowane-przepraszam-jakie/>

www 3: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/HTML/?uri=CELEX:32022H0553>

9. SPIS TABEL I WYKRESÓW

Tab. 1. Rośliny wykorzystane do oceny aktywności przeciwgrzybiczej wobec *Sclerotinia sclerotiorum*

Tab. 2. Gatunki roślin użyte w doświadczeniu do sporządzania wyciągów roślinnych

Tab. 3. Współczynnik tempa [T] i zahamowania [H] wzrostu *Sclerotinia sclerotiorum* z dodatkiem różnych wyciągów

Tab. 4. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z czystka szarego (*Cistus incanus* L.)

Tab. 5. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z czystka szarego (*Cistus incanus* L.)

Tab. 6. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.)

Tab. 7. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem różnych dawek wyciągu z hyzopu lekarskiego (*Hyssopus officinalis* L.)

Tab. 8. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z owsa głuchego (*Avena fatua* L.)

Tab. 9. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z owsa głuchego (*Avena fatua* L.)

Tab. 10. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

Tab. 11. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z przypołudnika kryształowego (*Mesembryanthemum crystallinum* L.)

Tab. 12. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z rzepiku pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.)

Tab. 13. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągu z rzepika pospolitego (*Agrimonia eupatoria* L.)

Tab. 14. Współczynnik tempa wzrostu radialnego kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z części nadziemnej psianki czarnej (*Solanum nigrum*)

Tab. 15. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z części nadziemnych psianki czarnej *Solanum nigrum*

Tab. 16. Współczynnik tempa wzrostu (T) grzybów strzępkowych z dodatkiem wyciągów z korzeni psianki czarnej (*Solanum nigrum*)

Tab. 17. Współczynnik tempa wzrostu grzybów strzępkowych rosnących z dodatkiem wyciągów z owoców psianki czarnej (*Solanum nigrum*)

Tab. 18. Współczynnik zahamowania wzrostu [%] kolonii grzybów strzępkowych na pożywkach z dodatkiem wyciągów z owoców psianki czarnej (*Solanum nigrum*)

Tab. 19. Ocena działania przeciwdrobnoustrojowego wyciągów z części naziemnych i korzeni psianki czarnej (*S. nigrum*) – metoda krążkowo-dyfuzyjna

Tab. 20. Wartości MIC₉₀ i MBC ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) ekstraktów metanolowych z psianki czarnej (*Solanum nigrum*) wobec szczepów bakterii i drożdży

Tab. 21. Zawartość flawonoidów (%) w metanolowych ekstraktach psianki czarnej (*S. nigrum*)

Tab. 22. Profil alkaloidów steroidowych wyciągów z psianki czarnej (*S. nigrum*) oraz zawartość glikozydów i glikoalkaloidów steroidowych

Rys. 1. Dynamika wzrostu grzybnia *S. sclerotiorum* w obecności 1% wyciągów

Ryc. 2. Współczynnik zahamowania wzrostu kolonii polifagicznych grzybów patogenicznych dla roślin oraz pieczarki na pożywkach z dodatkiem wyciągów z różnych części *Solanum nigrum* w stężeniu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Ryc. 3. Dynamika wzrostu kolonii *Trichoderma aggressivum* na podłożach z dodatkiem wyciągów z różnych części *Solanum nigrum* w stężeniu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Ryc. 4. Dynamika wzrostu kolonii wybranych polifagicznych patogenów roślin na pożywce z dodatkiem wyciągu z owoców *Solanum nigrum* w stężeniu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

Ryc 5. Wyniki testu MTT. Wyniki NHDF (a), THP1 (b), A549 (c) MCF-7 (d), HeLa (e) po 24-godzinnej inkubacji z testowanymi ekstraktami roślinnymi w 5 stężeniach. Wyniki są średnimi z 5 niezależnych eksperymentów \pm SD. Wyniki przedstawiono jako stosunek wartości uzyskanej w teście do hodowli kontrolnej. Różnice pomiędzy wynikami dla badanych ekstraktów roślinnych w porównaniu z kontrolą oraz pomiędzy ekstraktami (* $p < 0,05$).

Ryc. 6. Procent żywych komórek dla różnych linii komórkowych w porównaniu z kontrolą. Istotność statystyczna różnic między wynikami dla badanych związków w porównaniu z kontrolą dla każdej linii osobno (* $p < 0,05$).

Streszczenie

Intensyfikacja produkcji roślinnej i uprawa w monokulturach niesie ze sobą zwiększone ryzyko porażenia roślin przez różne czynniki chorobotwórcze. Od 1 stycznia 2014 roku wszystkie państwa członkowskie obowiązują prowadzenie integrowanej ochrony roślin dając pierwszeństwo, niechemicznym metodom ochrony roślin. Celem pracy była ocena wyciągów roślinnych z powszechnie występujących chwastów, roślin inwazyjnych i leczniczych oraz ziół i roślin leczniczych na wzrost wybranych gatunków grzybów strzępkowych w warunkach *in vitro*. Oceny wpływu wyciągów roślinnych dokonano z wykorzystaniem metody zatrutego podłoża analizując tempo wzrostu grzybów strzępkowych na podłożach z dodatkiem wyciągów metanolowych z wybranych gatunków roślin. Dodatkowo przeanalizowano wpływ wyciągów z psianki czarnej na ważne gatunki bakterii stanowiące zagrożenie dla zdrowotności roślin, ludzi i zwierząt. Wykazano, że wyciągi z psianki czarnej w stężeniu $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ wykazują właściwości wobec niektórych patogenów roślin, np. *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani* i *Sclerotinia sclerotiorum* oraz bakterii z rodzaju *Pectinovorum*. Ekstrakty z części nadziemnych psianki czarnej wykazywały oddziaływanie bakteriostatyczne w zakresie dawek $250\text{-}500 \mu\text{g ml}^{-1}$ i bakteriobójcze w zakresie $500\text{-}1000 \mu\text{g ml}^{-1}$. Najbardziej wrażliwe były szczepy *Dickeya chrysanthemi* i *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*.

Summary

Intensification of plant production and cultivation in monocultures carries an increased risk of plant infection by various pathogens. Since January 1, 2014, all European Union countries are obliged to carry out integrated pest management (IPM) giving priority to non-chemical methods of plant protection. The aim of the study was to investigate the effect of plant extracts obtained from common weeds, invasive plants, herbs and medicinal plants on the growth of selected species of filamentous fungi *in vitro*. The impact of plant extracts was assessed using the poisoned substrate method by analyzing the growth rate of filamentous fungi on substrates with the addition of methanol extracts from selected plant species. In addition, the effect of black nightshade extracts on important bacterial species posing a threat to the health of plants, humans and animals was analyzed. Black nightshade extracts at a concentration of $500 \mu\text{g ml}^{-1}$ have been shown to have properties against some plant pathogens, such as *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*, as well as bacteria of the genus *Pectinovorum*. Extracts from the aerial parts of black nightshade showed a bacteriostatic

effect in the dose range of 250-500 $\mu\text{g ml}^{-1}$ and bactericidal in the range of 500-1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$. The most sensitive strains were *Dickeya chrysanthemi* and *Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*.