

THE ASSESSMENT OF FUNGISTATIC EFFECT OF HEMP ESSENTIAL OIL AS SEED DRESSING, DEPENDING ON THE COMPOSITION

Summary

Research into the use fungistatic properties of hemp essential oil in fiber and oil flax crop protection has been conducted at the Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants in Poznan for several years. A formulation of seed dressing was developed that does not contain any chemical synergents in its composition. During several years of experiment in developing the final formulation, seed treatments of various compositions were tested, all containing hemp essential oil. The experiment began with flax seed dressed with pure essential oil, then with essential oil diluted in different concentrations of vegetable oil, in the oil with the addition of a chemical emulsifier, in oil with organic emulsifier and oil emulgated by physical methods. Study on the effect of the formulation on the effectiveness of seed dressing b.c.a. (hemp essential oil) showed differences between the seed dressings in terms of infestation degree by the fungal disease, and obtained seed yields and quality. Laboratory tests, pot and field trials showed that the formulation at a concentration of 0.1% hemp essential oil in an organic medium and emulsified oil by physical methods proved the most effective in protecting the flax seed.

Key words: flax; cultivation; seed dressings; hemp; essential oils; composition; field experimentation

OCENA FUNGISTATYCZNEGO DZIAŁANIA OLEJKU ETERYCZNEGO Z KONOPI W ZAPRAWACH NASIENNYCH W ZALEŻNOŚCI OD ZASTOSOWANEJ FORMULACJI

Streszczenie

Od kilku lat w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu prowadzone są badania nad wykorzystaniem fungistatycznych właściwości olejku eterycznego z konopi w ochronie upraw lnu włóknistego i oleistego. Opracowano formułę zaprawy nasiennej, która nie zawiera w swym składzie żadnych chemicznych synergentów. Podczas kilkuletnich doświadczeń nad opracowaniem ostatecznej formuły, testowano zaprawy nasienne o różnym składzie, zawierające olejek eteryczny z konopi. Doświadczenie rozpoczęto od zaprawiania nasion lnu czystym olejkiem eterycznym, następnie kolejno olejkiem eterycznym rozpuszczonym w różnych stężeniach oleju roślinnego, w oleju z dodatkiem emulgatora chemicznego, w oleju z dodatkiem emulgatora ekologicznego oraz w oleju emulgowanym metodami fizycznymi. Badania wpływu formuły zaprawy nasiennej na efektywność s.b.cz. (konopny olejek eteryczny) wykazały różnice między zaprawami w zakresie porażenia roślin lnu przez grzyby chorobotwórcze oraz uzyskane plony nasion i ich jakość. Stwierdzono na podstawie badań laboratoryjnych, wazonowych, a także w warunkach polowych, że najskuteczniejsze w ochronie lnu było zaprawianie nasion formułą o stężeniu olejku 0,1% w nośniku organicznym oraz w oleju emulgowanym metodami fizycznymi.

Słowa kluczowe: len; uprawa; zaprawy nasienne; konopia; olejki eteryczne; kompozycja; badania polowe

1. Wprowadzenie

Len jest rośliną, która wykorzystywana jest w bardzo szerokim zakresie. Nasiona lnu są surowcem, z którego produkowany jest olej lniany o wysokich walorach odżywczych, a także leczniczych i kosmetycznych. Włókno lniane podobnie jak inne włókna naturalne jest biodegradowalne i stwarzające korzystniejszy niż bawełna mikroklimat dla naszej skóry [6]. Uprawa i ochrona lnu powinny zapewniać jak najwyższą jakość uzyskanego surowca. Bardzo groźną chorobą występującą często na plantacjach lnu jest fuzarioza powodowana przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, głównie *F. oxysporum* f. sp. *lini* [1]. W związku z coraz szerszym wykorzystywaniem lnu jako rośliny leczniczej pożądanym wydaje się opracowanie biologicznej ochrony tej rośliny przed chorobami. Od kilku lat w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu prowadzone są badania nad wykorzystaniem fungistatycznych właściwości olejku eterycznego z konopi w ochronie upraw lnu. W doświadczeniach nad opracowaniem ostatecznej formuły, testowano zaprawy nasienne o różnym składzie synergen-

tów, zawierające jako substancję biologicznie czynną olejek eteryczny z konopi.

Celem badań była ocena skuteczności działania olejku eterycznego z konopi w zależności od zastosowanej formuły zaprawy nasiennej – nośnika substancji biologicznie czynnej, w ochronie lnu przed fuzariozą.

2. Materiał i metody

Badania nad opracowaniem ostatecznej formuły zaprawy nasiennej opartej na bazie olejku eterycznego z konopi prowadzono w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w latach 2008-2011. W opracowaniu porównano skuteczność działania dziesięciu formuły, którymi zaprawiano nasiona lnu, odmiany średnio odpornej na fuzariozę:

- czysty olejek eteryczny z konopi 10%,
- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym; w stężeniach 0,2; 0,5 i 1,0%,
- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego;

w stężeniach 0,2; 0,5 i 1,0%,

- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi; w stężeniach 0,2; 0,5 i 1,0%.

Prowadzono doświadczenia laboratoryjne, wazonowe i polowe. W doświadczeniach laboratoryjnych testowano wpływ przygotowanej zaprawy nasiennej na wzrost liniowy grzybni *F. oxysporum* f. sp. *lini*. W tym celu odpowiednie ilości formułacji zaprawy zawierającej olejek eteryczny z konopi dodawano do pożywki PDA po sterylizacji i jej schłodzeniu do temperatury 45°C. Na płytki Petriego o średnicy 90 mm wylewano po 10 ml przygotowanej pożywki z biologiczną zaprawą. Inokulum w postaci 9 mm krążków pożywki PDA przerośniętych przez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* grzybnią powietrzną zwróconą w dół, umieszczano na płytkach Petriego z pożywką PDA zawierającą odpowiednie stężenia zaprawy zawierającej olejek eteryczny z konopi. Pomiary przyrostu grzybni wykonywano po 3 i po 5 dniach.

W doświadczeniach wazonowych oceniano wpływ badanych formułacji zaprawy nasiennej na ograniczenie porażenia lnu przez *F. oxysporum* f. sp. *lini*. Doświadczenie wazonowe prowadzono w hali wegetacyjnej na terenie ZD IWNiRZ w Pętkowie. W doświadczeniu wazonowym inokulum stanowiły wysterylizowane ziarniaki pszenicy przerośnięte przez jednozarodnikową kulturę grzyba *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*.

Kombinacje stanowiły cztery wazony (powtórzenia). Do każdego wazonu wysiewano po 30 nasion zaprawionych odpowiednimi stężeniami poszczególnych formułacji zaprawy. Oceny wpływu badanej formułacji zaprawy na ograniczenie porażenia lnu przez *F. oxysporum* f. sp. *lini* dokonywano w następujących fazach wzrostu roślin (licząc rośliny zdrowe i chore): po wyrównaniu się wschodów (BBCH-11), szybkiego wzrostu (BBCH-32), bezpośrednio przed kwitnieniem (BBCH-5.59) i w zielonej dojrzałości lnu (BBCH- 75). Zdrowotność lnu w doświadczeniu wazonowym określano poprzez

ocenę: procentu roślin wzeszłych oraz roślin porażonych w całym okresie wegetacji.

W doświadczeniu polowym zastosowano takie same kombinacje jak w doświadczeniu w hali wegetacyjnej, z pominięciem kombinacji bez inokulum. Źródłem porażenia w doświadczeniu polowym była populacja *Fusarium oxysporum* występująca na polu, na którym 3-4 lata wcześniej rósł len.

Doświadczenia polowe, w 4 powtórzeniach, w układzie bloków losowanych, prowadzono w ZD IWNiRZ w Pętkowie. Wielkość poletka wynosiła 6 m² (5 m² do zbioru). Każdego roku len wysiewano na przełomie kwietnia i maja. Stosowano standardową normę wysiewu 120 kg nasion na hektar. Zbiór roślin przeprowadzano w pierwszej połowie sierpnia.

W okresie wegetacji, określano liczby roślin zdrowych i chorych w czterech fazach wzrostu lnu: po wyrównaniu się wschodów (BBCH – 11), szybkiego wzrostu (BBCH – 32), bezpośrednio przed kwitnieniem (BBCH – 59) i w zielonej dojrzałości (BBCH - 75).

W doświadczeniu polowym oceniano również plon nasion i słomy z poszczególnych kombinacji.

3. Wyniki

Czysty olejek eteryczny z konopi (w stężeniu 10%), najsilniej hamował wzrost grzybni patogena, na pożywce PDA, tylko w pierwszym terminie oceny (tab. 1). W obydwu terminach pomiaru, tj. po 3 i po 5 dniach, najmocniej hamowały przyrost liniowy kultur *F. oxysporum* f. sp. *lini* olejek eteryczny z konopi (w stężeniu 1%) rozpuszczony w oleju lnianym z dodatkiem emulgatora chemicznego i olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym emulgowanym metodami fizycznymi (w stężeniu 1%). Podobnie 1,0% olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym istotnie wpłynął na zahamowanie wzrostu grzybni patogena

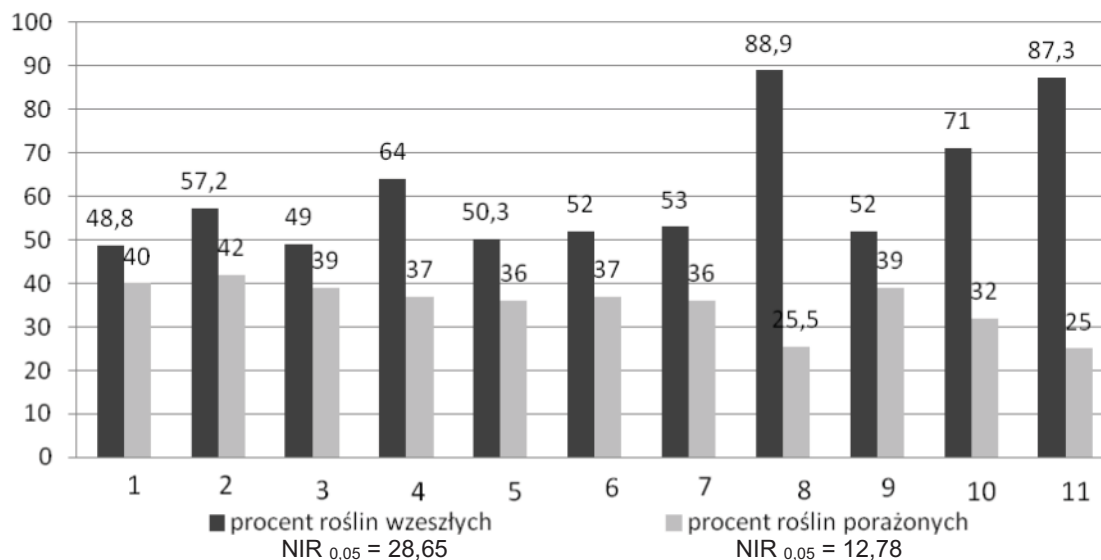
Tab. 1. Ocena wpływu formułacji zapraw nasiennych na bazie olejku eterycznego z konopi dodanych do pożywki PDA na wzrost liniowy kultur *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*

Tab. 1 Effect of seed dressing formulations based on hemp essential oil added to the PDA medium on linear growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*

Lp.	Kombinacja <i>Combination</i>	Średni wzrost liniowy kultur <i>Average linear growth of cultures</i> [mm·dobę ⁻¹] [mm·day ⁻¹]	
		po 3 dniach	po 5 dniach
1.	Kontrola	5,78	8,90
2.	Olejek eteryczny z konopi 10%	2,80	9,70
3.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,2%	5,66	9,20
4.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,5%	5,15	7,50
5.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 1,0%	4,60	6,30
6.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,2%	5,80	8,75
7.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,5%	6,00	8,60
8.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 1,0%	3,40	5,44
9.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 0,2%	6,00	8,70
10.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 0,5%	5,00	7,30
11.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 1,0%	3,38	5,42
	NIR _{0,05}	1,31	1,79

Obserwacje wpływu poszczególnych formułacji zapraw nasiennych na liczbę wzeszłych roślin, w doświadczeniu wazonowym, wykazały, że najskuteczniejsze były olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym z dodatkiem emulgatora chemicznego i olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym emulgowanym metodami fizycznymi - obydwa w stężeniu 1%. Zaprawianie nasion tymi formułacjami wpłynęło na zwiększenie liczby wzeszłych roślin o ponad 35 procent w stosunku do kombinacji kontrolnej (rys. 1). Istotnie na poprawę wschodów siewek wpłynęło również zaprawianie nasion 0,5% olejkiem

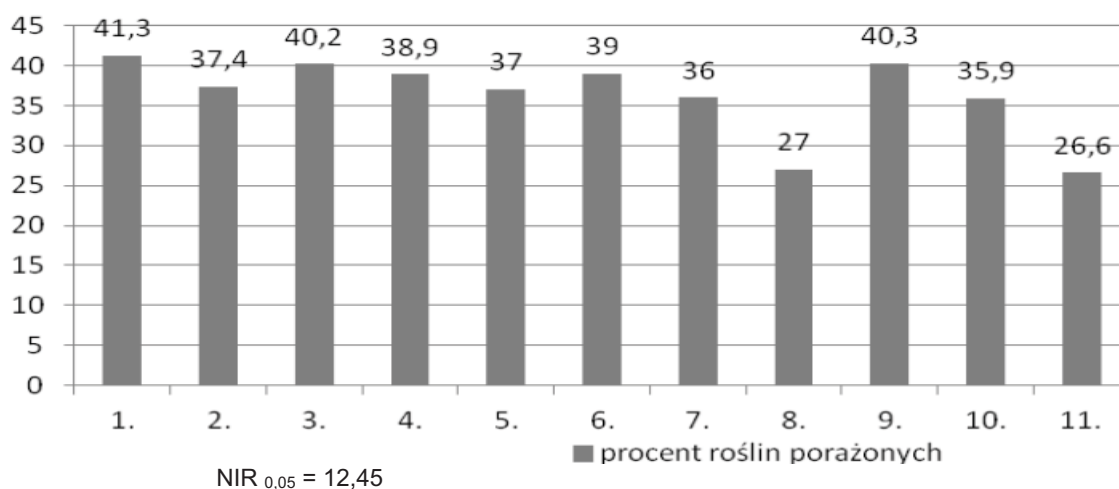
nasion 0,5% olejkiem eterycznym z konopi rozpuszczonym w oleju lnianym, a także samym olejkiem eterycznym z konopi. Najniższy procent roślin porażonych przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* w całym cyklu wegetacyjnym lnu zaobserwowano także w kombinacjach, w których nasiona zaprawiono olejkiem eterycznym z konopi rozpuszczonym w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego i olejkiem eterycznym z konopi rozpuszczonym w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi (obydwa w stężeniu 1%).



Rys. 1. Wpływ formułacji zapraw nasiennych na bazie olejku eterycznego z konopi na wschody i procent porażonych roślin przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* w doświadczeniu wazonowym

Fig. 1. Effect of seed dressing formulations based on hemp essential oil on emergence and the percentage of infected plants *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in a pot experiment

1- Kontrola- nasiona nie zaprawione, 2- olejek eteryczny z konopi, 3- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,2%, 4- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,5%, 5- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 1,0%, 6- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,2%, 7- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztw. oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,5%, 8- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztw. oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 1,0%, 9- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztw. oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 0,2%, 10- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztw. oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 0,5%, 11- olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztw. oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi 1,0%



Rys. 2. Wpływ formułacji zapraw nasiennych na bazie olejku eterycznego z konopi na porażenie lnu przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* w doświadczeniu polowym

Fig. 2. Effect of seed dressing formulations based on hemp essential oil on emergence and the percentage of infected plants *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in a field experiment

Objaśnienia jak na rys. 1 / Explanations – see Fig. 1

Tab. 2. Wpływ zaprawiania nasion różnymi formulacjami na bazie olejku eterycznego z konopi na plon słomy i nasion
 Table 2. Effect of different seed treatment formulations based on hemp essential oil on straw and seed yield

Lp.	Kombinacja <i>Combination</i>	Plon słomy <i>Straw yield [dt·ha⁻¹]</i>	Plon nasion <i>Seed yield [dt·ha⁻¹]</i>
1.	Kontrola – nasiona nie zaprawione	31,0	1,8
2.	Olejek eteryczny z konopi	32,2	1,7
3.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,2%	33,0	2,3
4.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 0,5%	37,5	2,4
5.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym 1,0%	39,8	2,2
6.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,2%	30,0	2,8
7.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym z dodatkiem emulgatora chemicznego 0,5%	37,0	2,7
8.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym z dodatkiem emulgatora chemicznego 1,0%	50,0	3,4
9.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym emulgowanym metodami fizycznymi 0,2%	29,4	2,7
10.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym emulgowanym metodami fizycznymi 0,2%	34,7	3,2
11.	Olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w oleju lnianym emulgowanym metodami fizycznymi 0,2%	48,0	3,6
	NIR _{0,05}	8,89	1,47

W warunkach polowych, podobnie jak w doświadczeniu wazonowym, najskuteczniejszymi zaprawami, chroniącymi len przed fuzariozą były olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego z dodatkiem emulgatora chemicznego oraz rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi (w stężeniu 1,0%). Zaprawy te obniżyły wystąpienie porażenia lnu przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* w warunkach prowokacyjnych o około 15% (rys. 2). Wpłynęły również na uzyskanie istotnie wyższych plonów słomy (NIR_{0,05} 8,89) i nasion lnu (NIR_{0,05} 1,47) (tab. 2).

4. Dyskusja

Repelentne i odstraszające szkodniki właściwości konopi znane są i badane od wielu lat [4, 5]. Obserwowano odstraszające działanie wyciągów z konopi na bielinka kapustnika [9] oraz na popilię japońską (*Popillia japonica*) [7]. Ponadto wykazano toksyczne właściwości wodnych i alkoholowych wyciągów z konopi siewnej w stosunku do takich szkodników jak przędziorek chmielowiec [3], stonka ziemniaczana [10], czy niektóre gatunki nicieni [8]. W badaniach tych nie testowano jednak olejku eterycznego. W skład chemiczny olejku eterycznego z konopi wchodzi szerego monoterpenu i seskwiterpenu, które wykazują właściwości bakterio i fungistatyczne [2, 11]. Badania prowadzone w Instytucie Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich nad wykorzystaniem olejku eterycznego z konopi do zaprawiania nasion lnu, w ochronie przed chorobami grzybowymi, wykazały pozytywne wyniki. W badaniach laboratoryjnych na pożywce PDA czysty olejek eteryczny silnie hamował przyrost liniowy kultur patogena *Fusarium oxysporum* tylko przez pierwsze trzy doby. Jest to wynikiem lotnych właściwości związków wchodzących w skład olejku. Opracowanie formulacji zaprawy nasiennej zawierającej eteryczne substancje lotne wymagało rozpuszczenia olejku w oleju, w stężeniu nie hamującym działania substancji biologicznie czynnej. Ważnym aspektem było również uzyskanie formacji, która nie sklejałaby silnie nasion lnu. Badania wykazały, że olejek eteryczny z konopi rozpuszczony w roztworze oleju lnianego i emulgatora chemicznego w stężeniu 1% oraz olejek eteryczny z konopi

rozpuszczony w roztworze oleju lnianego emulgowanego metodami fizycznymi w stężeniu 1% najskuteczniej ograniczały porażenie lnu przez *Fusarium oxysporum*, a także wpłynęły na uzyskanie wyższych plonów nasion i słomy.

W trakcie prowadzonych prac nad preparatami skutecznie zwalczającymi patogeny istnieje ciągła potrzeba stworzenia rozwiązań, które umożliwiłyby skuteczne ich zwalczanie nie niszcząc jednocześnie pożytecznych organizmów, a także nie powodując zagrożenia dla człowieka i środowiska oraz nie wpływając ujemnie na pożyteczną florę i faunę glebową.

Uzyskane wyniki wskazują na możliwość opracowania w pełni ekologicznych metod ochrony lnu i innych roślin uprawnych przed grzybami chorobotwórczymi, wykorzystując olejek eteryczny z konopi jako substancję biologicznie czynną.

5. Wnioski

1. Olejek eteryczny z wiech konopi nasiennych posiada właściwości fungistatyczne w stosunku do patogena *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*.
2. Skuteczne w ochronie lnu przed fuzariozą są zaprawy nasienne zawierające 1% olejku eterycznego z konopi rozpuszczone w roztworze oleju lnianego emulgowanego chemicznie bądź fizycznie.
3. Uzyskanie formulacji skutecznej zaprawy nasiennej w ochronie lnu przed fuzariozą, nie zawierającej w swym składzie syntetycznych substancji chemicznych umożliwiła wdrożenie tej zaprawy do stosowania w rolnictwie ekologicznym.

6. Bibliografia

- [1] Andruszewska A., Byczyńska M., Langner K.: Polish Cultivars of Flax Resistant to Fusarium wilt and the Role of Microelements in Flax Protection. Natural Fibres /wydanie specjalne, 2001, 2: 116-121.
- [2] Cowan, M. M.: Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev., 1999, 12:564-582.
- [3] Fenili G.A., Pegazzano F.: Metodi avanzati di lotta contro gliacri fitofagi. Noti ed Appunti Sperimentali di Entomologia Agraria, 1974, 15: 33-41.
- [4] Goswami B.K., Vijayalakshmi K.: Efficacy of some indige-

- nous plant materials and oil cake amended soil on the growth of tomato and root-knot nematode population. *Ann. Agric. Res.*, 1986, 7 (2): 263–266.
- [5] Grewal P.S.: Effect of leaf-matter incorporation on *Aphelenchoides composticola* (Nematoda), mycofloral composition, mushroom compost quality and yield of *Agaricus bisporus*. *Ann. Appl. Biol.*, 1989, 115: 299–312.
- [6] Kozłowski R., Zimniewska M., Kicińska-Jakubowska A., Bedoya-Barriga J.: Elektron Scanning Microscope analysis as a More Effective Tool for Studium on Natura Fibres. Innovative Technologies for Komfort. Proceedings of the 4th Global Workshop of the FAO/SCORENA European Cooperative Research network on Flax and Other Bast Plants, Arad, Romania, 07-10 October, 2007: 210-217.
- [7] Metzger F.W., Grant D.H.: Repellency to the Japanese beetle of extract made from plants immune to attack. *USDA Technical Bull.*, 1932, 299, s. 21.
- [8] Mojumder V., Mishra S.D., Haque M.M., Goswami B.K.: Nematicidal efficacy of some wild plants against pigeon pea cyst nematode *Heterodera cajani*. *Int. Nematol. Network*, 1989, Newsletter 6 (2): 21–24.
- [9] Rothschild M., Fairbairn J.W.: Ovipositing butterfly (*Pierris brassicae* L.) distinguishes between aqueous extracts of two strains *Cannabis sativa* L. and THC and CBD. *Nature*, 1980, 286: 56–59.
- [10] Stratii Y.I.: Hemp and the Colorado beetle. *Zashchita Rastenii*, 1976, 5, s. 61.
- [11] Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G.: Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother.* June 2005, vol. 49, no. 6, 2474-2478.