

## EVALUATION THE FUNGISTATIC ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS *IN VITRO* TESTS

### Summary

The effect of various concentrations of plant extracts on linear growth, biomass and sporulation of: *Phoma exigua*, *Fusarium culmorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea* was assessed under *in vitro* conditions. There was no unanimous response of the tested fungi to the applied plant water extracts and their concentrations. *B. cinerea* proved the most sensitive species among the studied fungi. The extract from white birch bark revealed the strongest fungistatic properties. Its presence in the medium contributed to inhibition of growth of the colony: *B. cinerea*, *F. culmorum*, *P. exigua*, *S. sclerotiorum* between 3,3-83,9% and biomass 17,9-62,9%. Applied to the medium in  $50 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  concentration it totally inhibited *B. cinerea* sporulation. On the other hand, nettle herb extracts ( $50$  and  $25 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ) and nut-tree leaves extract ( $25$  and  $10 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ) stimulated linear growth of the colonies, biomass increment and sporulation in *S. sclerotiorum* and *A. alternata*.

**Key words:** plant extracts; phytopathogenic fungi; linear growth; biomass; sporulation; experimentation

## OCENA AKTYWNOŚCI FUNGISTATYCZNEJ WYCIĄGÓW ROŚLINNYCH W TESTACH *IN VITRO*

### Streszczenie

W warunkach *in vitro* określono wpływ różnych stężeń wyciągów roślinnych na rozrost liniowy, biomasa i zarodnikowanie gatunków grzybów: *Phoma exigua*, *Fusarium culmorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea*. Stwierdzono brak jednoznacznej reakcji grzybów testowych na zastosowane wodne wyciągi roślinne i ich stężenia. Spośród testowanych grzybów najbardziej wrażliwym okazał się gatunek *B. cinerea*. Najsilniejszymi właściwościami fungistatycznymi odznaczał się wyciąg z kory brzozy brodawkowatej. Jego obecność w podłożu hodowlanym przyczynia się do zahamowania rozrostu kolonii: *B. cinerea*, *F. culmorum*, *P. exigua*, *S. sclerotiorum* w zakresie od 3,2-83,9% i biomasy 17,9-62,9%. Zaaplikowany do pożywki w stężeniu  $50 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  całkowicie hamował zarodnikowanie *B. cinerea*. Natomiast wyciągi z ziela pokrzywy ( $50$  i  $25 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ) oraz liści orzecha włoskiego ( $25$  i  $10 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$ ) stymulowały wzrost liniowy kolonii, przyrost biomasy i zarodnikowanie grzybów *S. sclerotiorum* i *A. alternata*.

**Słowa kluczowe:** wyciągi roślinne; grzyby fitopatogenne; wzrost liniowy; biomasa; zarodnikowanie; badania

### 1. Wstęp

Poszukiwania alternatywnych do chemicznych środków ochrony roślin, zaowocowały badaniami nad możliwością zastąpienia ich przez związki naturalnie występujące nawet w pospolitych gatunkach roślin. Doniesienia z literatury wskazują na wysoką skuteczność olejków eterycznych i wyciągów sporządzonych z różnych gatunków roślin w odniesieniu do grzybów fitopatogennych [1-14]. W doświadczeniach *in vitro* ograniczają rozrost powierzchniowy, przyrost biomasy oraz hamują proces sporulacji grzybów. Poza tym wyciągi roślinne mogą być z powodzeniem stosowane w ochronie wielu gatunków roślin – warzywnych i ozdobnych [15-19].

Celem pracy było określenie wpływu różnych stężeń wodnych wyciągów z pokrzywy zwyczajnej, kory brzozy brodawkowatej i liści orzecha włoskiego na rozrost liniowy, biomasa i zarodnikowanie polifagicznych gatunków grzybów: *Phoma exigua* (Desm.), *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler i *Botrytis cinerea* Pers. Ex Nocca and Balb., które stanowią duże zagrożenie dla roślin uprawnych.

### 2. Materiał i metody badań

Do sporządzenia wodnych wyciągów roślinnych użyto

wysuszonego materiału roślinnego z ziela pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.), kory brzozy brodawkowatej (*Betula verrucosa* Ehrh.) oraz liści orzecha włoskiego (*Juglans regia*). Wcześniej przeprowadzone badania wykazały, że wodne wyciągi z tych roślin w warunkach *in vitro* mają silne właściwości fungicydowe [12]. Odważono po 50 g rozdrobnionego materiału roślinnego, zalano 1 l sterylnej wody destylowanej. Po upływie 24 godzin wymieszano i podgrzano do temperatury 45°C. Po schłodzeniu przecedzono przez sito z potrójną warstwą gazy.

Do testowania wodnych wyciągów roślinnych wykorzystano grzyby fitopatogenne pochodzące z kolekcji własnej Katedry Ochrony Środowiska Rolniczego: *Phoma exigua* (Desm.), *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler i *Botrytis cinerea* Pers. Ex Nocca and Balb. Wybrane gatunki grzybów są organizmami polifagicznymi, które wywołują różne choroby na licznych gatunkach roślin zarówno rolniczych, warzywnych, jak i ozdobnych.

Hodowlę poszczególnych grzybów fitopatogennych prowadzono w warunkach *in vitro* w pięciu powtórzeniach na podłożu PDA (glukozowo – ziemniaczanym) i temperaturze 23°C. Pożywkę PDA z dodatkiem wyciągów roślinnych sporządzono tak, aby uzyskać ich następujące stężenia w  $1 \text{ cm}^3$  podłoża: 10, 25 i  $50 \text{ mm}^3$ . Przygotowane pożywki inokulowano krążkiem agarowym o średnicy 5 mm przero-

śniętym dwutygodniową grzybnią badanego organizmu. Kontrolę stanowiły płytki Petriego z czystym podłożem PDA. Od momentu pojawienia się przyrostów grzybni codziennie mierzono średnicę kolonii, aż do chwili zarośnięcia całej płytki w którejkolwiek kombinacji.

Wpływ poszczególnych wyciągów roślinnych na wzrost liniowy badanych organizmów grzybowych przedstawiono jako różnicę między średnicą kolonii grzyba na szalkach kontrolnych, a średnicą kolonii grzybni na szalkach z poszczególnymi stężeniami wodnych wyciągów roślinnych. Otrzymane wyniki badań wyrażono współczynnikiem zahamowania wzrostu liniowego grzyba  $H$  [%] wyliczonego wg wzoru Abbota [20]

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

gdzie:

$H$  – współczynnik zahamowania rozrostu liniowego grzyba,  
 $K_0$  – średnica kolonii na szalce kontrolnej,  
 $F$  – średnica kolonii na szalce zawierającej określone stężenia wyciągu roślinnego.

Wyliczono również współczynnik tempa wzrostu liniowego:

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

gdzie:

$T$  – współczynnik wzrostu liniowego,  
 $A$  – średnia z pomiarów średnicy kolonii [mm],  
 $D$  – ilość dni od założenia kolonii od ostatniego pomiaru [mm],  
 $b_1, b_x$  – przyrost średnicy kolonii od ostatniego pomiaru [mm],  
 $d_1, d_x$  – ilość dni od ostatniego pomiaru.

Po dwóch tygodniach wzrostu kultur grzybów na podłożach PDA z wyciągami roślinnymi i kontroli w hemocytometrze Thoma pod mikroskopem świetlnym oceniono ich zarodnikowanie.

Wzrost biomasy grzybów testowych prowadzono w 300 ml kolbach Erlenmayera na 100 ml podłoża PDA zmodyfikowanego (bez agaru) z udziałem wodnych wyciągów ro-

ślinnych w takich samych stężeniach jak na płytkach Petriego. W sterylnym pomieszczeniu do przygotowanego podłoża wprowadzono inokulum grzybów. Kolby zamykano folią aluminiową. Hodowlę prowadzono przez 21 dni w temperaturze ok. 23°C. Po tym okresie płyn pohodowlany wraz z grzybnią sączone przez bibułowe sączki filtracyjne o średnicy 150 mm. Grzybnię suszono na sterylnym szkle w temperaturze 80°C do uzyskania stałej wagi, po czym ważono ją na elektronicznej wadze analitycznej.

Uzyskane wyniki badań dla poszczególnych gatunków grzybów poddano analizie wariancji przewidzianej dla doświadczeń dwuczynnikowych: I – pierwszy czynnik – rodzaj wyciągu roślinnego, II – drugi czynnik – stężenie wyciągu roślinnego. Istotność różnic między kombinacjami oceniono na podstawie testu  $t$  – Studenta przy  $\alpha = 0.05$ .

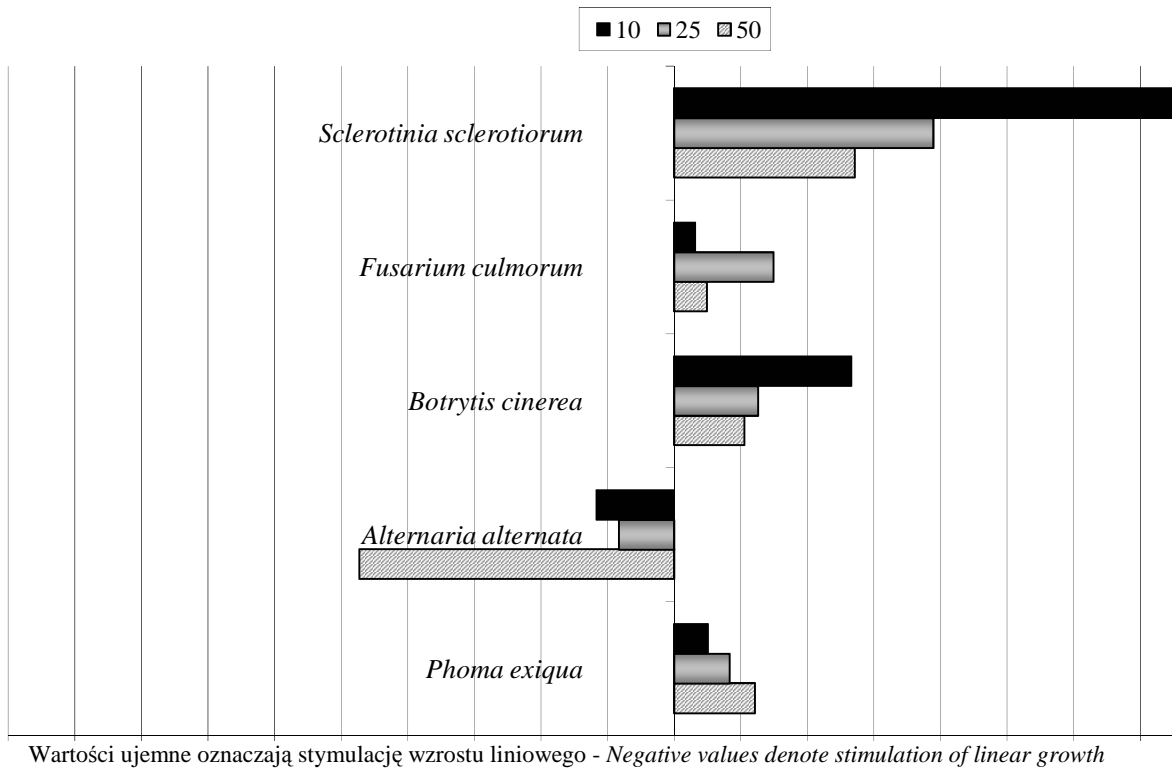
### 3. Wyniki badań i ich omówienie

Zastosowane wyciągi roślinne i ich stężenia modyfikowały rozrost powierzchniowy, biomasa oraz proces sporulacji grzybów testowych (tab. 1-3 i rys. 1-3). Przy czym poszczególne gatunki grzybów w różny sposób reagowały na udział w podłożu hodowlanym wodnych wyciągów roślinnych.

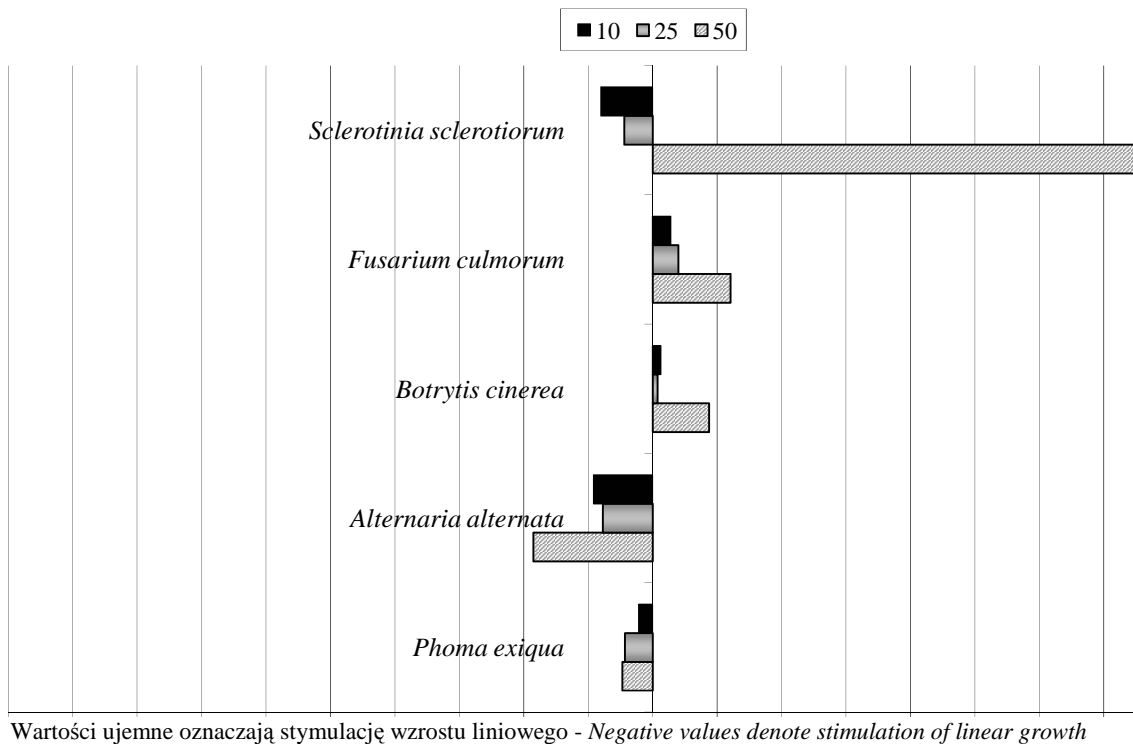
Analizując oddziaływanie wodnego wyciągu z kory brzozy stwierdzono, że niezależnie od zastosowanego stężenia istotnie ograniczał tempo wzrostu liniowego oraz przyrost biomasy kolonii: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea* i *Phoma exigua* (tab. 1-2). W odniesieniu do dwóch pierwszych gatunków aktywność fungistatyczna wzrastała wraz ze zmniejszającym się stężeniem tego wyciągu w podłożu hodowlanym, a odwrotną reakcją obserwowano dla *P. exigua* (rys. 1). Największe zahamowanie rozrostu powierzchniowego na poziomie 83,9% notowano dla *S. sclerotiorum* na pożywce z udziałem 10 mm<sup>3</sup>·cm<sup>-3</sup> wodnego wyciągu z kory brzozy. Z kolei przy tej samej koncentracji ograniczenie wzrostu liniowego *B. cinerea* wynosiło 26,6% i było to zarazem najsilniejsze ograniczenie spośród badanych wyciągów.

Tab. 1. Wpływ wyciągów roślinnych na tempo wzrostu liniowego grzybów testowych  
 Table 1. Effect of plant water extract on linear growth rate of tested fungi

Wodny wyciąg roślinny Plant water extract	Stężenie [mm <sup>3</sup> ·cm <sup>-3</sup> ] Concentration	Współczynnik tempa wzrostu liniowego [T] Coefficient of linear growth rate [T]				
		<i>Phoma exigua</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Urtica dioica</i> (herb)	50	73,82	33,52	44,44	51,95	48,71
	25	76,40	33,20	46,11	61,28	47,08
	10	72,01	23,65	49,31	62,96	27,34
Średnia - Mean		74,07	30,13	46,62	64,73	41,04
<i>Juglans regia</i> (leaves)	50	76,58	28,91	42,29	59,26	1,45
	25	76,54	26,36	48,58	63,19	28,44
	10	75,37	26,62	44,72	63,91	37,88
Średnia - Mean		76,16	27,29	45,26	62,12	22,59
<i>Betula verrucosa</i> (cortex)	50	65,52	38,32	44,72	63,53	21,83
	25	67,93	28,89	42,58	54,95	10,86
	10	68,72	28,14	33,23	63,89	1,54
Średnia / Mean		67,39	31,78	40,18	60,79	11,41
Kontrola / Control		72,09	24,36	53,29	65,89	29,61
NIR <sub>0,05</sub> dla rodzaju wyciągu / for kind of extract		1,73	3,97	5,59	r. n.	7,62
NIR <sub>0,05</sub> dla stężenia / for concentration		r. n.	3,44	r. n.	r. n.	6,60



Rys. 1. Fungistatyczna aktywność wyciągu z kory brzozy brodawkowatej  
 Fig. 1. Fungistatic activity of *Betula verrucosa* (cortex)



Rys. 2. Fungistatyczna aktywność wyciągu z liści orzecha włoskiego  
 Fig. 2. Fungistatic activity of *Juglans regia* (leaf)

W znacznie słabszym stopniu 5,1-12,1% wyciąg ten hamował rozrost powierzchniowy *P. exiqua*. Analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu wyciągu z kory brzozy na tempo rozrostu powierzchniowego mycelium *Fusarium culmorum*, jednakże notowano nieznaczne hamowanie w zakresie od 3,2 do 14,9% (tab. 1 i rys. 1). Z kolei odmienną reakcją na wodny wyciąg kory brzozy odznaczał

się grzyb *Alternaria alternata*. Wszystkie stężenia stymulowały tempo rozrostu powierzchniowego jego kolonii, jednak statystycznie istotnie wyższy współczynnik tempa wzrostu odnotowano dla największego stężenia. W tym przypadku średnica kolonii była większa o 47% w porównaniu z obiektem kontrolnym (tab. 1. i rys. 1). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dodatek do

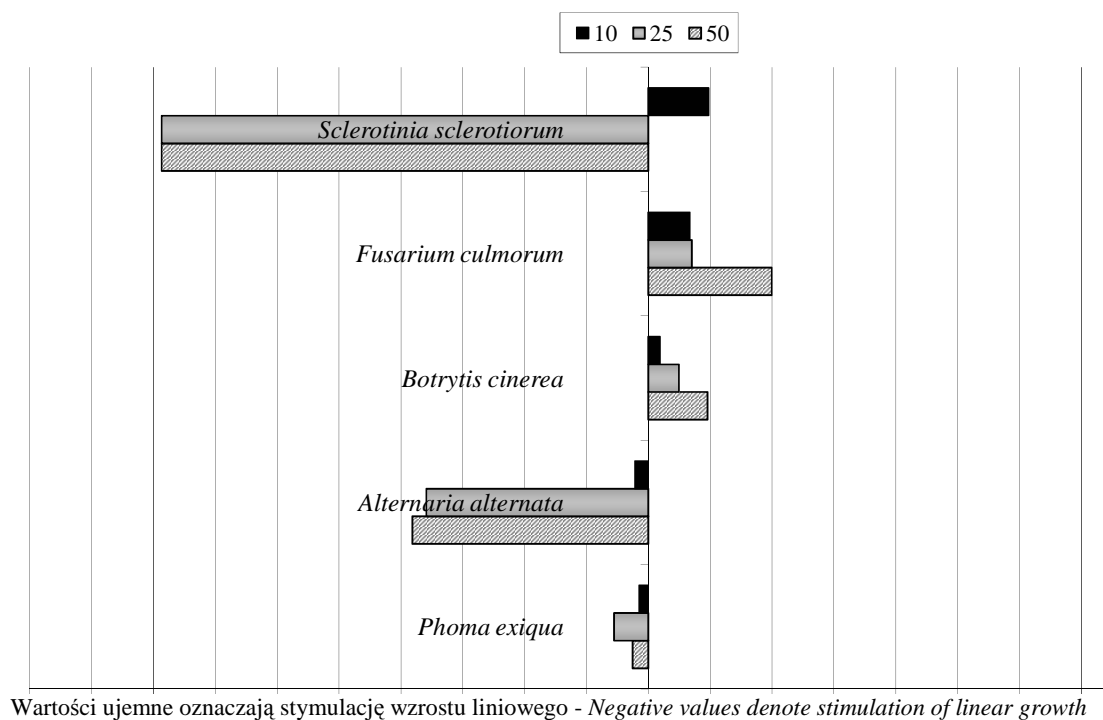
podłoża hodowlanego  $50 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  wodnego wyciągu z liści orzecha włoskiego w 84% hamuje rozrost liniowy *S. sclerotiorum* (rys. 2). Ponadto niezależnie od stężenia istotnie ogranicza tempo wzrostu liniowego *B. cinerea*, a współczynnik zahamowania wzrostu kształtuje się na poziomie 0,7 -8,7% (tab. 1 i rys. 2). Również w podobnym zakresie ograniczenie rozrostu powierzchniowego wystąpiło dla grzyba *F. culmorum*. Wodny wyciąg z liści orzecha włoskiego stymulował wzrost pozostałych gatunków grzybów testowych. Zbliżone, ale nieco wyższe wartości zahamowania rozrostu powierzchniowego: *B. cinerea* i *F. culmorum*, obserwowano na podłożach zawierających wodny wyciąg z ziela pokrzywy zwyczajnej (rys. 3). Ponadto najniższa koncentracja tego wyciągu przyczyniała się do 10% ograniczenia wzrostu liniowego *S. sclerotiorum*, podczas gdy w wyższych koncentracjach notowano silną stymulację (79%). Spośród badanych wyciągów najsłabiej na rozrost powierzchniowy kolonii grzybów testowych wpływał wodny wyciąg z ziela pokrzywy zwyczajnej. Z kolei wszystkie analizowane wodne wyciągi roślinne stymulowały wzrost liniowy mycelium *Alternaria alternata* (rys. 1-3). Na ogół wyższe stężenia wyciągów roślinnych bardziej sprzyjały rozwojowi powierzchniowemu tego organizmu grzybowego. Najsilniejszą stymulację (47,25%) obserwowano na pożywce z dodatkiem  $50 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  wodnego wyciągu z kory brzozy. Natomiast nieznacznie słabszą (38,19% i 35,90%) powodował wyciąg z ziela pokrzywy w najwyższej i średniej koncentracji. Wyniki te potwierdzają doniesienia Stompor-Chrzan [21], która badała wrażliwość tego gatunku na wodne wyciągi z liści: jeżyny fałdowanej, orzecha włoskiego, porzeczkii czarnej i topoli osiki.

Biomasa grzybów testowych na poszczególnych podłożach z wyciągami roślinnymi kształtowała się analogicznie do ich rozrostu powierzchniowego. Przy czym wszystkie wyciągi silniej hamowały przyrost biomasy niż tempo wzrostu liniowego *F. culmorum* i *B. cinerea* (tab. 1-2).

Wodne wyciągi z liści orzecha włoskiego, kory brzozy i ziela pokrzywy wykazały wysoką i zbliżoną aktywność w odniesieniu do *F. culmorum*, a średnie współczynniki zahamowania przyrostu biomasy wynosiły odpowiednio 46,3, 42,7 i 38,8%. Z kolei biomasa *B. cinerea* była istotnie mniejsza (53,8%) na podłożach zawierającym  $25 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  wodnego wyciągu z kory brzozy oraz  $50 \text{ mm}^3 \cdot \text{cm}^{-3}$  ziela pokrzywy zwyczajnej 53,7% (tab. 2). Stwierdzono istotnie bardzo silne ograniczenie przyrostu biomasy *P. exiqa* zwłaszcza pod wpływem najwyższego stężenia wodnego wyciągu z kory brzozy (62,9%). W testach na płytkach Petriego *P. exiqa* słabo reagował na ten wyciąg, obserwowano zahamowanie rozrostu powierzchniowego na poziomie 5,1-12,1% (rys. 1). Z kolei grzybem wykazującym odmienną reakcję na ten rodzaj wyciągu był *S. sclerotiorum*, jego rozrost liniowy był bardzo silnie hamowany natomiast inhibicja przyrostu biomasy w badanych stężeniach była odpowiednio słabsza (17,9-31,3%) (rys. 1 i tab. 2). Nie stwierdzono istotnego wpływu rodzaju wyciągu roślinnego na biomasę *A. alternata* (tab. 2).

Również badania Burgieła i in. [11] wskazują na odporność tego gatunku na ekstrakty z nasion roślin baldaszkowatych, jednocześnie potwierdzają wysoką aktywność fungistatyczną w odniesieniu do *B. cinerea*.

Potencjał infekcyjny grzybów chorobotwórczych w dużej mierze zależy od ich zdolności do wytwarzania zarodników. Zdaniem wielu autorów [22-25] zarodniki najczęściej dokonują infekcji organów roślinnych, rzadziej sprawcą tego pierwszego etapu procesu chorobotwórczego są strzępki grzyba. Analizując średnią liczebność zarodników wytworzonych przez poszczególne organizmy grzybowe stwierdzono, że wodne wyciągi roślinne różnie oddziaływały na proces ich sporulacji. Spośród badanych gatunków *A. alternata* i *S. sclerotiorum* na obecność w podłożu hodowlanym wszystkich rodzajów wodnych wyciągów roślinnych reagowały wzmożonym zarodnikowaniem (tab. 3).



Rys. 3. Fungistatyczna aktywność wyciągu z ziela pokrzywy  
Fig. 3. Fungistatic activity of *Urtica dioica* herb

Tab. 2. Biomasa grzybów testowych w zależności od rodzaju wyciągu roślinnego  
Table 2. Tested fungi biomass depending on the kind of plant extract

Wodny wyciąg roślinny Plant water extract	Stężenie [mm <sup>3</sup> ·cm <sup>-3</sup> ] Concentration	Biomasa grzybów [g] / Fungi biomass [g]									
		<i>Phoma exiqa</i>		<i>Alternaria alternata</i>		<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Fusarium culmorum</i>		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	
		[g]	[%]**	[g]	[%]	[g]	[%]	[g]	[%]	[g]	[%]
<i>Urtica dioica</i> (herb)	50	0,29	7,4	0,61	+5,6*	0,57	17,9	0,25	29,6	0,78	+16,4
	25	0,38	+40,7	0,59	+11,3	0,60	23,1	0,36	33,3	0,77	+14,9
	10	0,25	+7,4	0,50	+15,1	0,64	26,9	0,38	53,7	0,60	10,4
Średnia / Mean		0,31	+13,6	0,57	+10,6	0,60	22,6	0,33	38,8	0,72	+6,9
<i>Juglans regia</i> (leaves)	50	0,42	+55,5	0,57	+7,5	0,58	25,6	0,31	42,6	0,65	2,9
	25	0,31	+14,8	0,52	1,8	0,63	19,2	0,29	46,3	0,73	+8,9
	10	0,28	+3,7	0,55	+3,0	0,64	17,9	0,27	50,0	0,79	+17,9
Średnia / Mean		0,34	+24,6	0,55	+2,9	0,62	20,9	0,29	46,3	0,72	+7,9
<i>Betula verrucosa</i> (cortex)	50	0,10	62,9	0,66	+24,5	0,54	30,7	0,30	44,4	0,55	17,9
	25	0,12	55,5	0,52	1,8	0,48	38,4	0,25	53,7	0,51	23,8
	10	0,21	22,2	0,56	+5,6	0,36	53,8	0,28	48,1	0,46	31,4
Średnia / Mean		0,14	46,8	0,58	+9,4	0,46	40,9	0,28	48,7	0,50	24,4
Kontrola / Control		0,27	-	0,49	-	0,78	-	0,54	-	0,67	-
NIR <sub>0,05</sub> dla rodzaju wyciągu for kind of extract		0,11		r. n.		0,13		0,18		0,12	
NIR <sub>0,05</sub> dla stężenia for concentration		r. n.		r. n.		0,11		r. n.		0,11	

\*(+) – stymulacja przyrostu biomasy / stimulation of biomass increment

\*\*[%] – (H) współczynnik zahamowania/stymulacji przyrostu biomasy / coefficient of inhibition/stimulation of biomass increment

Tab. 3. Zarodnikowanie grzybów testowych w zależności od rodzaju wyciągu roślinnego  
Table 3. Sporulation of tested fungi depending on the kind of plant extract

Wodny wyciąg roślinny Plant water extract	Stężenie [mm <sup>3</sup> ·cm <sup>-3</sup> ] Concentration	Ilość zarodników w 1 cm <sup>3</sup> [x10 <sup>7</sup> ] / Number of spores per 1cm <sup>3</sup> [x10 <sup>7</sup> ]				
		<i>Phoma exiqa</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
<i>Urtica dioica</i> (herb)	50	36,00bc*	3,50ab	0,00a	9,25d	33,00d
	25	13,00a	3,00a	2,50ab	3,00a	31,00d
	10	27,00b	4,50b	1,50a	2,50a	17,50bc
<i>Juglans regia</i> (leaves)	50	26,00b	4,00ab	6,50c	5,25bc	21,00bc
	25	17,50a	6,00c	4,25b	5,00b	24,50c
	10	14,50a	6,00c	4,50b	5,00b	20,00bc
<i>Betula verrucosa</i> (cortex)	50	100,50f	5,00bc	5,00bc	5,25bc	24,00c
	25	95,00ef	4,50b	5,50c	4,90b	10,00b
	10	45,00d	3,60ab	5,50c	4,05b	9,50b
Kontrola / Control		52,50d	2,75a	8,50d	6,50c	5,50a

\* wartości w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie

\* values in columns marked with the same letter do not differ significantly

Prawie sześciokrotne zwiększenie liczby zarodników konidialnych *S. sclerotiorum* odnotowano w najwyższych stężeniach (50 i 25 mm<sup>3</sup>·cm<sup>-3</sup>) wodnego wyciągu z ziela pokrzywy. Wyciąg z kory brzozy zastosowany w wymienionych wyżej stężeniach dwukrotnie zwiększał liczbę zarodników u *Phoma exiqa*. Natomiast pozostałe dwa wodne wyciągi roślinne niezależnie od koncentracji średnio o 50% ograniczały liczbę wytworzonych zarodników przez ten gatunek grzyba. Podczas gdy jego rozrost powierzchniowy w tych kombinacjach był nieznacznie stymulowany (rys. 2-3). Z kolei istotne zwiększenie liczby makrokonidiów u *F. culmorum* notowano w kombinacji z 50 mm<sup>3</sup>·cm<sup>-3</sup> udziałem wyciągu ziela pokrzywy, w której wystąpiło najsilniejsze zahamowanie rozrostu kolonii. Przy ograniczonym wzroście strzępek grzybni, wzmoczone zarodnikowanie jest reakcją obronną na niekorzystne warunki, a jednocześnie stanowi zabezpieczenie trwałości

nowi zabezpieczenie trwałości kolonii [25].

Wyniki testów laboratoryjnych wskazują na możliwość wykorzystania wyciągów z ziela pokrzywy, kory brzozy i liści orzecha włoskiego do zwalczania przede wszystkim szarej pleśni (*B. cinerea*) oraz fuzarioz (*F. culmorum*). Istnieje więc potrzeba kontynuowania tego typu badań.

#### 4. Wnioski

1. W badaniach *in vitro* stwierdzono brak jednoznacznej reakcji testowanych grzybów fitopatogennych na badane wodne wyciągi roślinne i zastosowane ich stężenia.
2. Spośród testowanych grzybów najbardziej wrażliwym okazał się gatunek *Botrytis cinerea*. Wszystkie rodzaje testowanych wyciągów roślinnych niezależnie od zastosowanego stężenia hamują jego wzrost liniowy, przyrost bioma-

sy oraz proces sporulacji.

3. Wodny wyciąg z kory brzozy odznacza się silną aktywnością fungistatyczną w stosunku do: *B. cinerea* i *F. culmorum* przede wszystkim hamuje ich zarodnikowanie, istotnie ogranicza tempo wzrostu powierzchniowego oraz przyrost biomasy (17,9-62,9%).

4. Udział w podłożu hodowlanym 50 i 25 mm<sup>3</sup>·cm<sup>-3</sup> wodnego wyciągu z ziela pokrzywy oraz 25 i 10 mm<sup>3</sup>·cm<sup>-3</sup> liści orzecha włoskiego przyczynia się do znacznej stymulacji wzrostu powierzchniowego kolonii, przyrostu biomasy oraz zarodnikowania grzybów *Sclerotinia sclerotiorum* i *Alternaria alternata*.

## 5. Bibliografia

- [1] Burgiel Z.: Fungistatyczna aktywność wodnych wyciągów z ziela pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*) i korzeni żywokostu lekarskiego (*Symphytum officinale*). Pestycydy, 1995, 4.
- [2] Piotrowski W., Sas-Piotrowska B., Wyrostkiewicz K., Czajkowski P.: Wpływ wyciągów roślinnych na kiełkowanie zarodników niektórych grzybów patogenicznych dla roślin. Zesz. Nauk ART Bydgoszcz Rol., 1995, 36.
- [3] Wolski T., Gliński J., Buczek K., Wolska A.: Otrzymywanie i charakterystyka roślinnych ekstraktów furanokumarynowych o działaniu przeciugrzybiczym. Herba Polonica, 1996, 3(47): 168-173.
- [4] Burgiel Z J, Klein M.: Fungistatyczna aktywność wodnych wyciągów i działanie mitotyczne soku z korzeni chrzanu. Zesz. Nauk. AR Kraków, 1998, 57, 333.
- [5] Bartyńska M., Budzikur-Ramza E.: The action of some essential oils on fungi. Bull. Pol. Ac. Sc., Biological Sc., 2001, 49, 4: 327-331.
- [6] Boligłowa E, Znój K.: The effect of plant preparations on growth of selected phytopathogenic fungi. Journal of Research and Applications Agricultural Engineering, 2003, Vol. 48 (3), 24-27.
- [7] Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G.: The effectiveness of plant essentials oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Prot., 2003, 22: 39-44.
- [8] Kosalec I., Pepeljnjak S., Kuštrak D.: Antifungal activity of fluid extract and essentials oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., *Apiaceae*). Acta Pharm., 2005, 55, 377-385.
- [9] Boligłowa E., Pisulewska E., Gleń K.: *In vitro* effect of peppermint (*Mentha x piperita* L. var. *officinalis*) water extracts on *Fusarium* fung. Herba Polonica, 2007, Vol. 53, No 3, 33-40.
- [10] Siwulski M., Sobieralski K., Korszun S.: Wpływ wyciągu z liści miłorzębu dwuklapowego (*Ginkgo Biloba* L.) na wzrost grzybni bocznika (*Pleurotus spp*). Herba Polonica, 2007, Vol. 53, No. 3: 28-32.
- [11] Burgiel Z. J., Tomaszewicz-Potępa A., Vogt O., Burgiel M. M.: Fungistatyczne właściwości ekstraktów z nasion wybranych roślin należących do rodziny *Apiaceae*. Progr. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin, 2008, 48(2), 701-705.
- [12] Piwowar P., Woźniczka G., Nowicka A., Gleń K.: Ocena oddziaływania wodnych wyciągów roślinnych na wzrost wybranych grzybów fitopatogennych w warunkach *in vitro*. Materiały konferencyjne VI Międzynarodowej i VII Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej "Rolnictwo ekologiczne – rolnictwo przyszłości", 2008, 114-119.
- [13] Ribera A., Cotoras M., Zúñiga G. E.: Effect of extracts from *in vitro*-grown shoots of *Quillaja saponaria* Mol. on *Bortyis cinerea* Pers. World Journal Microbiology and Biotechnology, 2008, Vol. 24, 1803-1811.
- [14] Boligłowa E., Gleń K., Rópek D.: Preliminary research on an assesment of the effect of mint and eucalyptus oil on selected plant pathogenic fungi. Ecological Chemistry and Engineering, 2009, vol. 16, No 9, 1095-1110.
- [15] Sas-Piotrowska B., Piotrowski W., Misiak M.: The growth and development of potato pathogens on the media with extracts from Polygonaceae plants. Phytopathologia Polonica, 1996, 11, 103-109.
- [16] Orlikowski L.B., Skrzypczak G., Wojdyła A., Jaworska-Marosz A.: Wyciągi roślinne i mikroorganizmy w ochronie roślin przed chorobami. Zesz. Nauk. AR w Krakowie 2002, 387, 19-32.
- [17] Sas-Piotrowska B., Piotrowski W.: Impact of Plant Extracts on Vitality and Root Healthiness of Leguminous Plants Inoculated by *Fusarium oxysporum* (Schl.) Middle Pomeranian Scientific Society of the Environment Protection, 2003, 11, 191-202.
- [18] Wang S., Hu T., Hang F., Forrer H. R., Cao K.: Screening for plant extracts to control potato late blight. Front. Agric. China 2007, Vol. 1(1): 43-46.
- [19] Górski R., Sobieralski K., Siwulski M.: Effect of selected natural Essentials oils on *In vitro* development of fungus *Trichoderma harzianum* fund common mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation. Ecological Chemistry and Engineering, 2010, S. 17, 2, 177-185.
- [20] Kowalik R., Krechniak E.: Szczegółowa metodyka biologicznych i laboratoryjnych badań środków grzybobójczych. W: Materiały do metodyki badań biologicznej oceny środków ochrony roślin. IOR, Poznań, 1961.
- [21] Stompor-Chran E.: Wpływ wyciągów roślinnych na rozwój chorobotwórczych grzybów. Zeszyty Naukowe AR w Krakowie, 2001, Nr 388: 55-59.
- [22] Kirlay Z., Klement Z., Salymosy F., Voros J.: Fitopatologia – Wybór Metod Badawczych. Warszawa: PWRiL, 1997.
- [23] Borecki Z.: Nauka o chorobach roślin. Warszawa: PWRiL, 2001.
- [24] Marcinkowska J.: Oznaczanie rodzajów grzybów ważnych w patologii roślin. Fundacja. Rozwój SGGW. Warszawa, 2003.
- [25] Hodges C.F: Vegetative growth and sporulation of *Biopolaris sorokiniana* on sequentially older infected leaves of *Poa pratensis* exposed to postemergence herbicides, Mycopathologia, 1994, 128 (2), 105-109.