

Mgr Weronika Walkowiak

Streszczenie

„Ocena wrażliwości polifagicznych grzybów rodzaju *Fusarium* na olejki eteryczne”

Grzyby strzępkowe rodzaju *Fusarium* należą do polifagicznych, fakultatywnych pasożytów roślin mogących, także atakować organizm człowieka i zwierząt. Narastające zjawisko nabywania oporności na substancje grzybobójcze przez te grzyby oraz ich wysoka patogenność i silna toksynotwórczość sprawia, że poszukuje się nowych, bezpiecznych substancji hamujących ich rozwój.

Wiele doniesień naukowych wskazuje na skuteczność olejków eterycznych w ograniczaniu rozwoju fitopatogennych grzybów, ale informacje te nie są ściśle powiązane ze składem chemicznym olejków eterycznych i ich grzybobójczym działaniem oraz nie uwzględniają możliwości wykorzystania ich jako zapraw nasiennych. Badania będące przedmiotem niniejszej pracy stanowią próbę wyjaśnienia tych zależności.

W pracy postawiono hipotezę badawczą o tym, że grzybobójcze działanie olejków eterycznych w stężeniach do 2%, na grzyby rodzaju *Fusarium* może zależeć od składu chemicznego badanych olejków eterycznych, a zwłaszcza dominujących w nich związków chemicznych. Ułatwi to dobór olejków eterycznych hamujących rozwój grzybów *Fusarium* w środowisku naturalnym.

Celem pracy była ocena wrażliwości polifagicznych grzybów rodzaju *Fusarium* na podstawie zmian ich cech morfologicznych, takich jak wzrost i zabarwienie grzybni oraz kiełkowanie zarodników w obecności olejków eterycznych o zróżnicowanym składzie chemicznym i stężeniu. Wykorzystanie potencjału allelopacyjnego niskich stężeń olejków eterycznych, skutecznie hamujących rozwój fitopatogenów rodzaju *Fusarium*, do oceny zdolności kiełkowania zainfekowanych ziarniaków pszenicy.

Materiał badawczy stanowiło dziewięć fitopatogennych izolatów grzybów rodzaju *Fusarium* wyizolowanych z porażonych ziarniaków pszenicy na terenie: Niemiec (*F. graminearum* ZALF 24, *F. graminearum* ZALF 339, *F. culmorum* ZALF 186, *F. culmorum* ZALF 187 i *F. poae* ZALF 338) i Polski (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* i *F. avenaceum*). Testowano osiem olejków eterycznych o stężeniach: 0,025; 0,05; 0,125; 0,25; 0,50; 1,0 i 2,0%, takich jak: tymiankowy, z trawy cytrynowej, *Litsea cubeba*, werbenowy, z drzewa herbacianego, kajeputowy, czosnkowy i grejfrutowy

Walk

oraz zaprawę chemiczną Funaben T, którą potraktowano jako kontrolę względną skuteczności działania olejków eterycznych. Materiał siewny stanowiła pszenica jara odmiany Katoda (*Triticum aestivum* L.) pochodząca z Zakładu Hodowli Roślin „DANKO” Choryń.

Wyizolowane grzyby oznaczano do gatunku na podstawie cech makroskopowych i mikroskopowych równoległe w laboratorium Samodzielnej Katedry Biotechnologii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Opolskiego i w Leibniz - Zentrum für Agrarlandschaftsforschung ZALF e.V. Institut für Landschaftsbiogeochemie w Müncheberg, a przynależność gatunkową najbardziej wrażliwych izolatów potwierdzono badaniami molekularnymi, przeprowadzonymi w Bionicum Sp. z o.o. w Warszawie.

Skład chemiczny testowanych olejków eterycznych wyznaczono metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas GC/MS. Badania przeprowadzono w dwóch etapach.

W pierwszym etapie oceniono wpływ niskich stężeń olejków eterycznych na:

- wzrost grzybni izolatów *Fusarium* na podstawie indeksu tempa wzrostu
- aktywność fungistatyczną testowanych olejków na podstawie współczynnika zahamowania wzrostu [%],
- kiełkowanie zarodników izolatów *Fusarium* na podstawie indeksu kiełkowania zarodników.

Równoległe dokonano opisu zmian makroskopowych grzybni w obecności testowanych olejków eterycznych i wyznaczono także minimalne stężenie grzybobójczego (MFC) dla najefektywniej działającego olejku eterycznego

Drugi etap badań obejmował wykorzystanie potencjału allelopatycznego niskich stężeń olejków eterycznych, skutecznie hamujących rozwój *Fusarium*, do oceny zdolności kiełkowania zainfekowanych ziarniaków pszenicy jarej Katoda. Obejmował on ocenę:

- energii i zdolności kiełkowania ziarniaków pszenicy
- bezpośredniego działania roztworów olejków na rozwój siewek pszenicy oraz ograniczenie stopnia porażenia siewek przez fitopatogeny (doświadczenia wazonowe)
- nośników do konstruowania antygrzybowej zaprawy nasiennej na bazie olejku eterycznego o najwyższej aktywności grzybobójczej
- wpływu olejku tymiankowego i nośnika na ziarniaki pszenicy sztucznie innokulowane grzybami rodzaju *Fusarium* z wykorzystaniem mikrobiotestu – Phytotoxkit firmy MicroBio Tests Inc.

Wallep

Podjęto także próbę ustalenia zależności pomiędzy składem chemicznym olejków eterycznych, a zwłaszcza dominujących w nich związków chemicznych a aktywnością grzybobójczą w stosunku do wszystkich testowanych izolatów *Fusarium*.

Wrażliwość dziewięciu izolatów polifagicznych grzybów rodzaju *Fusarium*, pochodzących z różnych środowisk była zróżnicowana i zależała zarówno od rodzaju, jak i stężenia testowanych olejków. Efektem biologicznego działania olejków eterycznych było całkowite lub częściowe zahamowanie zarówno rozwoju grzybni, jak i kiełkowania zarodników, a także zmiana pigmentacji grzybni, co związane jest z wrażliwością szczepową grzybów.

Najwyższą wrażliwość testowane izolaty wykazywały na niskie stężenia olejków, których głównym składnikiem są związki terpenoidowe (olejki tymiankowy, z trawy cytrynowej i *Litsea-cubeba*), a najniższą na monoterpény, stanowiące główny składnik olejku grejpfrutowego i związki siarkoorganiczne występujące w olejku czosnkowym.

Aktywność grzybobójcza olejków zależała od dominujących w nich związków chemicznych takich, jak: tymol (olejek tymiankowy) wykazujący właściwości bójcze od stężenia 0,05%, α i β cytral (olejek z trawy cytrynowej, *Litsea cubeba* i werbenowy) od stężenia 0,125%, 1 - terpineol (olejek z drzewa herbacianego) od stężenia 0,5%, α - terpineol (olejek kajeputowy) od stężenia 1,0% i związki siarkoorganiczne oraz limonen (olejek czosnkowy i grejpfrutowy) od stężenia 2,0%. Rozwój badanych izolatów *Fusarium* (z wyjątkiem polskiego izolatu *F. oxysporum*) całkowicie hamował jedynie olejek tymiankowy niezależnie od zastosowanego stężenia. Izolat *F. oxysporum* był niewrażliwy na najniższe zastosowane stężenia (0,025 - 0,05%) tego olejku. Olejek tymiankowy o stężeniach 0,05% i 0,125% podobnie, jak zaprawa nasienna Funaben T skutecznie chronił siewki przed grzybami rodzaju *Fusarium*. Efektywność działania olejku tymiankowego o stężeniach: 0,025; 0,05 i 0,125% wzmacniała immobilizacja nośnikiem, który stanowił 1,5% alginian sodu z chlorkiem wapnia. Energia i zdolność kiełkowania ziarniaków pszenicy Katoda wynosiły wówczas ponad 85%. Badania własne potwierdzają założoną hipotezę o tym, że grzybobójcze działanie olejków eterycznych w stężeniach do 2% na grzyby rodzaju *Fusarium* zależy od składu chemicznego badanych olejków eterycznych, a zwłaszcza dominujących w nich związków chemicznych i może zostać wykorzystana do konstruowania zapraw nasiennych.

Weronika Walkowiak