Wpływ ekstraktów roślinnych na wzrost *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al.

GRZEGORZ KRUPIŃSKI*, PIOTR SOBICZEWSKI**

*Katedra Ochrony Roślin, Akademia Rolnicza, Al. 29-Listopada 54, 31-425 Kraków

** Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

*University of Agriculture in Kraków, Department of Plant Protection,
29-Listopada 54 Str., 31-425 Kraków, Poland, **Research Institute of Pomology and
Floriculture, Pomologiczna 18 Str., 96-100 Skierniewice Poland. The influence of plant
extracts on growth of *Erwinia amylovora* – the causal agent of fire blight.

(Otrzymano: 25.06.2001)

S u m m a r y

Ethanol and water extracts obtained on Soxhlet apparatus from various organs and parts (leaves, flowers, shoots, onion, bark, fruit) of 30 herbal and woody plants species were tested for growth inhibition of *Erwinia amylovora* using agar diffusion method. Active extracts were found in 23 plant species but in 13 of them it was found for the first time. The highest diameter of growth inhibition zone of this bacterium was caused by extracts from *Aloe arborescens*, *Juglans regia*, *Rhus typhina*, *Salvia officinalis* and *Satureja hortensis*. In almost all cases ethanol appeared to be a better solvent of active plant substances against *E. amylovora* than water.

Key words: *Erwinia amylovora*, growth inhibition, plant extracts

WSTĘP

Rośliny stanowią bogate źródło substancji odznaczających się biologiczną aktywnością. Według danych licznych badaczy ogromna większość roślin wyższych, bo aż 85%, wydziela do otaczającego środowiska związki, które oddziałują na organizmy żywe (W a s i n a, 1987). Niektóre z nich działają hamująco lub zabójczo na patogeny roślin, w tym na bakterię *Erwinia amylovora*, sprawcę zarazy ogniowej – choroby wyrządzającej straty o dużym znaczeniu gospodarczym m.in. w uprawach jabłoni i gruszy. Spośród etanolowych ekstraktów uzyskanych z ponad 100 gatunków roślin, do najbardziej aktywnych w ograniczaniu wzrostu tej bakterii należały ekstrakty z sumaka octowca (*Rhus typhina*), orzecha włoskiego (*Juglans regia*) i berberysu zwyczajnego (*Berberis vulgaris*) (M o s c h i n., 1990). Ich działanie oceniono na poziomie zbliżonym do streptomycyny. Tylko nieco gorsze były ekstrakty z ruty (*Ruta graveolens*) i topoli drżającej (*Populus tremula*). Patogen ten okazał się również bardzo wrażliwy na działanie allicyny, fitoncydu wytwarzanego przez czosnek (J a r o s z i L i p a, 1988). Bakteriostatyczną aktywność przeciwko *E. amylovora* wykazał także ekstrakt z merystemu wierzchołkowego gruszy odm. Bonkreta Williama (Zaccheo, 1990), a bakteriobójczą – wyciągi z oregano, cytrusów i geranium (S c o r t i c h i n i i R o s s, 1993).

Traktowanie roślin irgi (*Cotoneaster salicifolius* var. *floccosus*) ekstraktami z mahonii pospolitej (*Mahonia aquifolium*), berberysu zwyczajnego (*Berberis vulgaris*), sumaka octowca (*Rhus typhina*) i czosnku (*Allium sativum*) zapobiegało porażeniu kwiatów przez *E. amylovora* w ponad 53%. Należy podkreślić, że ekstrakty te były jednak mniej efektywne niż streptomycyna czy tlenochlorek miedzi (M o s c h i Z e l l e r, 1989). Tymczasem na siewkach jabłoni opryskiwanych w warunkach szklarniowych ekstraktami z bluszczu pospolitego (*Hedera helix*), wierzby białej (*Salix alba*) i przestępu pospolitego (*Bryonia dioica*) zaraza ogniowa wystąpiła w nasileniu o 80% niższym niż w kontroli. Natomiast w doświadczeniach polowych przeprowadzonych na jabłoniach odm. James Grieve i Golden Delicious oraz na irdze stwierdzono, że zastosowanie wymienionych ekstraktów było efektywne w 43-68%. Wyniki te były porównywalne ze skutecznością streptomycyny, a w niektórych przypadkach nawet lepsze (M o s c h i Z e l l e r, 1999).

Ważnym osiągnięciem badań nad wykorzystaniem ekstraktów roślinnych w ochronie roślin przed zarazą ogniową było udowodnienie, że niektóre z nich mogą indukować odporność na tę chorobę (M o s c h i n., 1993; M o s c h i n., 1996). Badania przeprowadzone na pigwie i irdze wykazały, że wśród kilku testowanych, najlepiej działały ekstrakty z jemioli pospolitej (*Viscum album*) i bluszczu pospolitego (*Hedera helix*). Po ich aplikacji na rośliny stwierdzono stymulację metabolizmu fenoli, indukcję enzymatycznej aktywności peroksydazy, oksydazy polifenolowej oraz fenyloalaninowej amoniakolizazy. Ponadto wystąpiły zmiany w zawartości tzw. białek odpornościowych (ang. pathogenesis related proteins), np. β -1,3-glukanazy i chitynazy (M o s c h i n., 1996).

Celem badań było wyekstrahowanie z różnych organów i części 30 gatunków roślin zielnych, drzewiastych i krzewów substancji rozpuszczalnych w etanolu i/lub w wodzie oraz określenie ich wpływu na wzrost bakterii *Erwinia amylovora*.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano świeże lub ususzone organy lub części pochodzące z roślin 30 gatunków (zielnych, drzewiastych i krzewów), o których dane z literatury farmaceutycznej lub fitopatologicznej wskazywały na aktywność uzyskanych z nich ekstraktów przeciwko różnym bakteriom, a także innym drobnoustrojom (Ożarowski i Jaroniewski, 1988; Psallidas i Tsiantos, 2000). Wykaz roślin wybranych do badań przedstawiono w tabeli 1.

A) przygotowanie alkoholowych i wodnych ekstraktów z roślin

Alkoholowe ekstrakty z części lub organów roślin uzyskano na aparacie Soxhleta zgodnie z metodą opisaną przez Mosch i Klingauf (1989). Próbkę świeżego lub ususzonego materiału roślinnego, odpowiednio po 20 lub 5 gramów, rozdrabniano sekatorem, umieszczano w niewielkich gilzach wykonanych z bibuły filtracyjnej, wstawiano do aparatu Soxhleta i zalewano 150 ml 95% alkoholu etylowego. Temperaturę rozpuszczalnika ustalono na 75°C. Po 4 godzinach ekstrakcji odmierzano 100 ml uzyskanego ekstraktu, umieszczano go w kolbie wyparki i dziesięciokrotnie zagęszczano (do 10% roztworu wyjściowego). Do czasu przeprowadzenia dalszych badań (po 1–2 dniach) ekstrakty przechowywano w lodówce w temperaturze 3°C.

Wodne ekstrakty tych samych roślin uzyskano w sposób podobny jak ekstrakty alkoholowe, z tym, że odważone próbki materiału roślinnego zalewano zamiast etanolem sterylną wodą destylowaną.

B) określenie aktywności wyciągów roślinnych (alkoholowych i wodnych) w stosunku do *E. amylovora*

Na zestaloną w płytkach Petriego o średnicy 10 cm pożywkę – agar odżywczy (2,3% Difco Nutrient Agar) z 5% dodatkiem sacharozy (NAS) – nanoszono 200 µl wodnej zawiesiny bakterii *Erwinia amylovora* (szczep 691 wyizolowany w 1998 roku z jabłoni, transmitancja zawiesiny T = 90%, co odpowiadało 10⁸ jtk/ml). Zawiesinę rozprowadzono równomiernie po powierzchni pożywki sterylną szklaną głąszczką. Po jej wyschnięciu wycinano korkoborem cztery symetrycznie rozmieszczone otwory (studzienki) o średnicy 10 mm. Do trzech z nich wprowadzono po 100 µl testowanego ekstraktu, a w czwartym odpowiednio 100 µl sterylnej wody destylowanej lub 95% etanolu (kontrola). Dla porównania w taki sam sposób przebadano wpływ streptomycyny (wodny roztwór w stężeniu 100 mg x l⁻¹) na wzrost bakterii. Płytki inkubowano w temperaturze 23°C przez dwie doby. Średnicę stref zahamowania wzrostu bakterii mierzono po jednej i dwóch dobach. Każdy ekstrakt testowano w czterech powtórzeniach (na 4 płytkach). Wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji, a istotność różnic między średnimi oceniono testem t-Duncana przy poziomie istotności 5%.

Tabela 1

Wykaz roślin, ich organów i części, z których uzyskano etanolowe i wodne ekstrakty

Table 1

List of plants, their organs and parts from which ethanol and water extracts were obtained

Nazwa rośliny	Część rośliny	Nazwa rośliny	Część rośliny
Aksamitka rozpierzchła <i>Tagetes patula</i> L.	Liść Leaf	Lebiodka pospolita <i>Origanum vulgare</i> L.	Liść Leaf
Aloes drzewiasty <i>Aloe arborescens</i> Mill.	Liść Leaf	Lipa drobnolistna <i>Tilia cordata</i> Mill.	Kwiatostan Inflorescence
Babka lancetowata <i>Plantago lanceolata</i> L.	Liść Leaf	Lubczyk ogrodowy <i>Levisticum officinale</i> Koch.	Liść Leaf
Babka zwyczajna <i>Plantago maior</i> L.	Liść Leaf	Macierzanka piaskowa <i>Thymus serpyllum</i> L. em Fr.	Kwiatostan Inflorescence
Bez czarny <i>Sambucus nigra</i> L.	Liść Leaf	Majeranek ogrodowy <i>Majorana hortensis</i> Moench.	Kwiatostan Inflorescence
Borówka brusznica <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.	Liść Leaf	Nagietek lekarski <i>Calendula officinalis</i> L.	Liść Leaf
Brzoza brodawkowata <i>Betula verrucosa</i> Ehrh.	Liść Leaf	Orzech włoski <i>Juglans regia</i> L.	Liść Leaf
Bylica estragon <i>Artemisia dracunculus</i> L.	Pęd Shoot	Rozmaryn lekarski <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Liść Leaf
Cebula jadalna <i>Allium cepa</i> L.	Cebula Bulb	Rumianek pospolity <i>Matricaria chamomilla</i> L.	Kwiatostan Inflorescence
Chmiel zwyczajny <i>Humulus lupulus</i> L.	Owocostan Infructescence	Sosna czarna <i>Pinus nigra</i> Arnold	Igła Needle
Cząber ogrodowy <i>Satureja hortensis</i> L.	Liść Leaf	Sumak octowiec <i>Rhus typhina</i> L.	Liść Leaf
Dąb szpulkowy <i>Quercus robur</i> L.	Kora Bark	Szałwia lekarska <i>Salvia officinalis</i> L.	Liść Leaf
Glistnik (jaskółcze ziele) <i>Chelidonium majus</i> L.	Liść Leaf	Tymianek pospolity <i>Thymus vulgaris</i> L.	Ziele Herb
Herbata chińska <i>Thea sinensis</i> L.	Liść Leaf	Wierzba biała <i>Salix alba</i> L.	Kora Bark
Jeżówka pospolita <i>Echinacea vulgare</i> L.	Kwiatostan Inflorescence	Żywotnik zachodni <i>Thuja occidentalis</i> L.	Pęd Shoot

WYNIKI

Spośród etanolowych ekstraktów, uzyskanych z 17 gatunków roślin zielnych, aktywność w ograniczaniu wzrostu *Erwinia amylovora* na agarze odżywczym z sacharozą (NAS) wykazały ekstrakty z: babki zwyczajnej, cząbrz ogrodowego, glistnika jaskółczego ziela, jeżówki purpurowej, lebiodki pospolitej, macierzanki piaskowej, majeranku ogrodowego, nagietka lekarskiego, rozmarynu pospolitego, szałwi lekarskiej i tymianku pospolitego (tab. 2). Największą aktywnością, określaną po jednej dobie od wprowadzenia ekstraktów na pożywkę zaszczerpioną bakteriami, wyróżnił się ekstrakt z szałwi lekarskiej. Wywołał on strefę zahamowania wzrostu sprawcy zarazy ogniowej o średnicy istotnie szerszej niż wodny roztwór streptomycyny w koncentracji $100 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$. Natomiast działanie podobne do streptomycyny wykazał ekstrakt z cząbrz ogrodowego. Nieco mniejsze strefy spowodowały ekstrakty z macierzanki piaskowej i majeranku ogrodowego, a najslabszym działaniem charakteryzowały się ekstrakty z jeżówki purpurowej i tymianku pospolitego.

Większość aktywnych ekstraktów etanolowych uzyskanych z roślin zielnych traciła swoje antybakteryjne zdolności w okresie między pierwszą a drugą dobą od ich wprowadzenia na pożywkę. Po dwóch dobach inkubacji wzrost *E. amylovora* hamowały tylko ekstrakty z glistnika jaskółczego ziela, majeranku ogrodowego, nagietka lekarskiego i tymianku pospolitego. Jednak tylko ekstrakty z majeranku i nagietka hamowały wzrost bakterii w stopniu podobnym do streptomycyny, pozostałe wykazywały słabsze działanie (tab. 2).

Czterokrotne rozcieńczenie wodą etanolowych ekstraktów uzyskanych z roślin zielnych spowodowało, że tylko ekstrakty z babki zwyczajnej, jeżówki purpurowej, majeranku ogrodowego i szałwi lekarskiej posiadały zdolność hamowania wzrostu *E. amylovora* (tab. 2). Żaden z wymienionych ekstraktów nie wykazał jednak aktywności podobnej do streptomycyny. Największą strefę zahamowania wzrostu bakterii wywołał ekstrakt z szałwi lekarskiej, który jednak jako jedyny z tej grupy stracił swą aktywność w okresie między pierwszą a drugą dobą od wprowadzenia na pożywkę zaszczerpioną bakteriami. Etanolowy ekstrakt z babki lancetowatej wykazał antybakteryjną aktywność dopiero po rozcieńczeniu wodą.

Tylko trzy spośród wodnych ekstraktów uzyskanych z 17 gatunków roślin zielnych wykazały aktywność przeciwko *E. amylovora*. Były to ekstrakty z aksamitki rozpierzchłej, jeżówki purpurowej i majeranku ogrodowego (tab. 2). Antybakteryjną aktywność w stopniu podobnym do streptomycyny wykazał tylko ekstrakt z aksamitki rozpierzchłej, który jako jedyny z wymienionych działał również po dwóch dobach kontaktu z bakteriami.

Prawie wszystkie spośród etanolowych ekstraktów uzyskanych z 13 roślin drzewiastych i krzewów posiadały zdolność hamowania wzrostu *E. amylovora* (tab. 3). Ekstrakty z aloesu drzewiastego, dębu szypułkowego, orzecha włoskiego i sumaka octowca wywołały strefy zahamowania wzrostu tej bakterii nawet istotnie szersze niż streptomycyna w stężeniu $100 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$. Ocena wykonana po dwóch dobach inkubacji wykazała, że podobnie jak w przypadku ekstraktów z roślin zielnych, antybakteryjna aktywność tych ekstraktów ulegała stopniowemu zmniejszaniu się, a niektóre utraciły

Tabela 2

Biologiczna aktywność ekstraktów z roślin zielnych przeciwko *Erwinia amylovora* wyrażona średnicą strefy zahamowania wzrostu (mm).

Table 2.

Biological activity of herbal plant extracts against *Erwinia amylovora* expressed as diameter of inhibition zone (mm)

Gatunek rośliny Plant species	Ekstrakt etanolowy Ethanol extract		Ekstrakt etanolowy rozcieńcz. w wodzie 1:4 Ethanol extract diluted in water 1:4		Ekstrakt wodny Water extract	
	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h
<i>Tagetes patula</i> L. **	0,0 a*	0,0 a	0,0 a	0,0 a	15,1 d	13,1 b
<i>Plantago lanceolata</i> L.	0,0 a	0,0 a	16,8 d	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Plantago maior</i> L.	15,9 c	0,0 a	17,6 e	14,9 c	0,0 a	0,0 a
<i>Artemisia dracuncul</i> L.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Allium cepa</i> L.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Satureja hortensis</i> L.	21,6 ef	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Chelidonium maius</i> L.	16,4 c	14,1 c	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Echinacea vulgare</i> L.	13,7 b	0,0 a	16,1 c	13,2 b	13,2 b	0,0 a
<i>Origanum vulgare</i> L.	15,9 c	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Levisticum officinale</i> Koch.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Thymus serpyllum</i> L. em Fr.	20,3 de	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Majorana hortensis</i> Moench.	20,8 de	18,6 d	15,1 b	13,9 b	13,9 c	0,0 a
<i>Calendula officinalis</i> L.	20,0 d	18,4 d	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	16,8 c	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Salvia officinalis</i> L.	28,3 g	0,0 a	19 f	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Thymus vulgaris</i> L.	13,7 b	13,1 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Streptomycyna w wodzie 100 mg x l ⁻¹	22,3 f	18,0 d	22,3 g	18,0 d	21,7 e	20,3 c
Streptomycin in water 100 mg x l ⁻¹						

*) ocenę istotności różnic między średnimi wykonano oddzielnie dla każdego rodzaju ekstraktu i terminu pomiaru strefy; wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy poziomie istotności 5% wg testu Duncana;

*) evaluation of significant differences was made separately for each type of extract and each term of zone measurement; mean values followed by the same letter(s) do not differ at 5% level of significance.

**) Wytłuszczono nazwy gatunków roślin, z których po raz pierwszy uzyskano ekstrakty aktywne przeciwko *E. amylovora*.

**) With bold letters were marked plant species from which active extracts against *E. amylovora* were obtained for the first time.

Tabela 3.

Biologiczna aktywność ekstraktów z roślin drzewiastych i krzewów przeciwko *Erwinia amylovora* wyrażona średnicą strefy zahamowania wzrostu (mm).

Table 3.

Biological activity of woody plant extracts against *Erwinia amylovora* expressed as diameter of inhibition zone (mm)

Gatunek rośliny Plant species	Ekstrakt etanolowy Ethanol extract		Ekstrakt etanolowy rozcieńcz. w wodzie 1:4 Ethanol extract diluted in water 1:4		Ekstrakt wodny Water extract	
	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h	Po 1 dobie After 24 h	Po 2 dobach After 48 h
<i>Aloe arborescens</i> Mill.*	25,9 g*	14,2 hb	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Sambucus nigra</i> L.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Vaccinium vitis – idaea</i> L.	0,0 c	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Betula verrucosa</i> Ehrh.	20,4 cd	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Humulus lupulus</i> L.	18,0 b	0,0 a	18,3 d	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Quercus robur</i> L.	23,6 ef	15,1 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Thea sinensis</i> L.	20,1 c	0,0 a	14,9 b	0,0 a	16,9 b	0,0 a
<i>Tilia cordata</i> Mill.	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
<i>Juglans regia</i> L.	25,8 g	21,0 e	22,3 e	16,6 c	18,3 c	16,5 b
<i>Pinus nigra</i> Arnold	21,5 de	14,2 b	14,5 b	13,1 b	0,0 a	0,0 a
<i>Rhus typhina</i> L.	25,8 g	21,3 e	17,1 c	16,1 c	18,3 c	16,5 b
<i>Salix alba</i> L.	20,6 cd	16,6 c	0,0 a	0,0 a	17,0 b	0,0 a
<i>Thuja occidentalis</i> L.	18,3 b	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Streptomycyna w wodzie 100 mg x l ⁻¹	22,3 e	18,0 d	22,3 e	18,0 d	21,7 d	20,3 c
Streptomycin in water 100 mg x l ⁻¹						

*, **) patrz tabela 2; see table 2

ją zupełnie. Tylko ekstrakty z sześciu gatunków roślin posiadały zdolność hamowania wzrostu bakterii po dwóch dobach od ich wprowadzenia do pożywki, a dwa – z orzecha włoskiego i sumaka octowca – były wciąż bardziej aktywne niż streptomycyna. Większość wymienionych wyżej aktywnych ekstraktów etanolowych traciła swe zdolności antybakteryjne po czterokrotnym rozcieńczeniu wodą (tab. 3). W tej grupie aktywne były tylko ekstrakty z chmielu zwyczajnego, herbaty chińskiej, sosny czarnej, sumaka octowca i orzecha włoskiego, który jako jedyny z wymienionych hamował wzrost bakterii w stopniu podobnym do streptomycyny. Ekstrakty z pozostałych roślin wykazały słabsze działanie. Po dwóch dobach inkubacji biologiczną aktywność zachowały tylko ekstrakty z orzecha włoskiego, sosny czarnej i sumaka octowca. Była ona jednak istotnie niższa jak streptomycyny.

Spośród wodnych ekstraktów uzyskanych z roślin drzewiastych i krzewów antybakteryjną aktywność posiadały tylko ekstrakty uzyskane z herbaty chińskiej, orzecha włoskiego, sumaka octowca i wierzby białej (tab. 3). Jednak żaden z nich nie wykazał zdolności hamowania wzrostu *E. amylovora* tak wysokiej jak streptomycyna. Najaktywniejsze w tej grupie okazały się ekstrakty z orzecha włoskiego i sumaka octowca, które jako jedyne utrzymały aktywność przez co najmniej dwie doby kontaktu z bakteriami.

DYSKUSJA

Przedstawione badania wykazały, że ekstrakty uzyskane z 23, spośród 30 wybranych do badań gatunków roślin, posiadały zdolność hamowania wzrostu *Erwinia amylovora*. Większość z nich nie była dotychczas oceniana pod względem biologicznej aktywności w stosunku do sprawcy zarazy ogniowej, a u 13 po raz pierwszy stwierdzono antybakteryjne działanie na tego patogena. Były to ekstrakty z aksamitki rozpierzchłej, babki lancetowatej, babki zwyczajnej, glistnika, jeżówki purpurowej, majeranku ogrodowego, nagietka lekarskiego, aloesu drzewiastego, brzozy brodawkowatej, chmielu zwyczajnego, herbaty chińskiej, wierzby białej, żywotnika zachodniego. Na uwagę zasługuje bardzo wysoka aktywność ekstraktów z aloesu drzewiastego, orzecha włoskiego i sumaka octowca.

Zastosowana metoda ekstrakcji związków aktywnych biologicznie przeciwko *E. amylovora* nie wykazała ich obecności m.in. w rumianku pospolitym. Tymczasem Scortichini i Rossi (1993) stosując destylację w parze wodnej i deterpentyzację udowodnili, że w wymienionej roślinie takie związki występują. Z kolei nie stwierdzili ich w lipie srebrnej (*Tilia tomentosa*) i szatwi (*Salvia sclarea*). Autorzy ci wykazali, że różne szczepy *E. amylovora* posiadały różną wrażliwość na działanie ekstraktów z roślin oraz że występuje zależność między koncentracją ekstraktów wprowadzonych do pożywki a ich bakteriobójczą aktywnością (Scortichini i Rossi, 1991; 1993). Moschi in. (1989) udowodnili, że ekstrakt z sumaka octowca działał już w stężeniu 1,25%, orzecha włoskiego 2,0%, ale szatwi lekarskiej dopiero w stężeniu 15%.

Porównanie aktywności alkoholowych i wodnych ekstraktów uzyskanych z tych samych roślin wskazuje, że w prawie wszystkich przypadkach alkohol etylowy okazał się lepszym rozpuszczalnikiem związków działających ograniczająco na

E. amylovora. W grupie ekstraktów pochodzących z roślin zielnych związki najsilniej działające na bakterie uzyskano z szałwi lekarskiej i cząbru ogrodowego. Jednak ich trwałość była stosunkowo krótka. Dłuższą trwałością charakteryzowały się ekstrakty z majeranku ogrodowego i nagietka lekarskiego. Rozcieńczenie ekstraktów alkoholowych wodą spowodowało zmniejszenie ich antybakteryjnej aktywności wobec sprawcy zarazy ogniowej, ale w dwóch przypadkach (ekstrakty z babki zwyczajnej i jeżówki purpurowej) wydłużyło ich trwałość. Trudnym do wytłumaczenia jest działanie rozcieńczonego wodą alkoholowego ekstraktu z babki lancetowatej, który w stanie bez rozcieńczenia w ogóle nie wykazał zdolności hamowania wzrostu bakterii. Fakt, że tylko wodny ekstrakt z aksamitki rozpierzchłej wykazał aktywność, wskazuje, że w przypadku tej rośliny związki biologicznie czynne były rozpuszczalne w wodzie, a nie w etanolu.

Uzyskane wyniki wskazują na brak aktywności ekstraktów z cebuli przeciwko *E. amylovora*. Tymczasem w Kanadzie udowodniono, że sok z cebuli i czosnku wpływał ograniczająco na bakterie właściwe, promieniowce i grzyby zasiedlające rizosferę tych gatunków roślin (G o r i n g i B a r t h o l o m e w, 1950). Wskazywałoby to na selektywne oddziaływanie aktywnych biologicznie związków występujących w różnych roślinach na różne mikroorganizmy.

Prawie wszystkie spośród etanolowych ekstraktów uzyskanych z roślin drzewiastych i krzewów oddziaływały antybakteryjnie na *E. amylovora*. Najczęściej traciły one swoją aktywność po rozcieńczeniu wodą. Spośród wodnych ekstraktów uzyskanych z tej grupy roślin, związki biologicznie czynne stwierdzono tylko w 4 gatunkach, ale działały one słabiej niż ich alkoholowe odpowiedniki. Żaden z wodnych ekstraktów nie wykazał jednak silniejszego działania niż streptomycyna.

Przeprowadzone badania wykazały, że rośliny stanowią cenne źródło związków działających ograniczająco na *E. amylovora*. Wydaje się, że niektóre z nich przy odpowiednim wykorzystaniu, mogą stanowić alternatywę lub uzupełnienie dla stosowanych w praktyce przeciwko zarazie ogniowej preparatów chemicznych zawierających związki miedzi czy antybiotyki. Już ponad 10 lat temu M o s c h i Z e l l e r (1989) oraz M o s c h i i n. (1990) udowodnili, że ekstrakty z berberysu, sumaka octowca, mahonii i czosnku zapobiegały porażeniu kwiatów irgi przez *E. amylovora*. Spośród licznych aktywnych biologicznie związków roślinnych takich jak: fenole, aldehydy, alkohole, olejki eteryczne, kwasy i terpeny, wiele wykazuje działanie antybakteryjne. Badacze niemieccy wskazują na możliwość wykorzystania ekstraktów z roślin jako induktorów odporności na zarazę ogniową (M e n d e i n., 1994; M o s c h i i n, 1996; M o s c h i Z e l l e r, 1999). Natomiast innym autorom udało się wywołać odporność różnych roślin, m.in. tytoniu i papryki, na choroby wirusowe po zastosowaniu ekstraktów z celozji (B a r a n w a l i V e r m a, 1992), a odporność kapusty na czarną zgniliznę kapusty (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) po zastosowaniu ekstraktów z wierzby białej czy bluszczu pospolitego (G e h r i s c h S t a n g e n b e r g i n., 1996).

Wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań wskazują wyłącznie na bezpośrednie oddziaływanie ekstraktów z wybranych gatunków roślin na *E. amylovora*. Niektóre z nich mogą stanowić materiał do kontynuacji prac nad opracowaniem środków ochrony roślin przeciwko zarazie ogniowej, a także środków indukujących odporność roślin na tę chorobę.

LITERATURA

- Baranwal V. K., Verma H. N., 1992. Localised resistance against virus infection by leaf extract of *Celosia cristata*. *Plant Pathology* 41: 633–638.
- Gehrisch-Stangenberg H., Mosch J., Zeller W., 1996. Studies on induced resistance of plant extracts against blackrot of cabbage (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*). *Mitt. Biol. Bundesanst.* 321.
- Goring C. A. I., Bartholomew W. V., 1950. The rhizosphere effect of onion and garlic on soil microflora. *Soil Science Soc. Proc.*: 186–189.
- Jarosz J., Lipa J. J., 1988. Bacteriostatic and bactericidal activity of garlic preparations against six species of phytopathogenic bacteria of the genera *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Roczniki Nauk Rolniczych, Seria E*, t. 18, z. 2: 191–199.
- Mende A., Mosch J., Zeller W., 1994. Untersuchungen zur resistenzinduction durch ausgewählte Pflanzenextracte gegen Feuerbrand (*Erwinia amylovora*). *Z. Pflkrankh. Pflschutz.* 101 (2): 141–147.
- Mosch J., Klingauf F., 1989. In-vitro-Untersuchungen über die Wirkung von Pflanzenextracten auf den Erreger des Feuerbrandes, *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* 41 (8/9): 121–123.
- Mosch J., Zeller W., 1989. Bekämpfung des Feuerbrades (*Erwinia amylovora*) mit ausgewählten Pflanzenextracten. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig)* 41 (8/9), 149–151.
- Mosch J., Klingauf F., Zeller W., 1990. On the effect of plant extracts against fire blight (*Erwinia amylovora*). *Acta Hort.* 273: 355–361.
- Mosch J., Rieck M., Ullrich W., Mende A., Zeller W., 1993. Plant extracts with a resistance induction effect against fire blight (*Erwinia amylovora*). *Acta Hort.* 338: 389–393.
- Mosch J., Zeller W., Rieck M., Ullrich W., 1996. Further studies on plant extracts with a resistance induction effect against *Erwinia amylovora*. *Acta Hort.* 411: 361–366.
- Mosch J., Zeller W., 1998. Control of fire blight with plant extracts based on resistance induction. *Acta Hort.* 489: 577–582.
- Ożarowski A., Jaroniewski W., 1987. *Rośliny lecznicze i ich praktyczne zastosowanie*. Warszawa. Instytut Wydawnictw Związków Zawodowych. 436 str.
- Psallidas P. G., Tsiantos J., 2000. Chemical control of fire blight. W: *Fire blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*. (ed J. Vanneste). CAB Int. Wallingford.: 199–234.
- Scortichini M., Rossi M. P., 1991. In vitro susceptibility of *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. to geraniol and citronellol. *Journal of Applied Bacteriology* 71: 113–118.
- Scortichini M., Rossi M. P., 1993. In vitro behaviour of *Erwinia amylovora* towards some natural products showing bactericidal activity. *Acta Hort.* 338: 191–198.
- Wasina A., 1987. Wykorzystanie roślin do zwalczania szkodników w sadach i ogrodach. *PWRiL*, Warszawa. 78 str.
- Zaccheo A., 1990. Growth of *Erwinia amylovora* on extracts of susceptible *Rosaceae*. *Acta Hort.* 273: 339–341.

Wpływ ekstraktów roślinnych na wzrost *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al.

Streszczenie

Metodą ekstrakcji na aparacie Soxhleta uzyskano etanolowe i wodne ekstrakty z różnych organów i części 30 gatunków roślin zielnych, drzewiastych i krzewów. Biologiczną aktywność tych ekstraktów w stosunku do bakterii *Erwinia amylovora* badano metodą dyfuzyjną na pożywce agarowej. Stwierdzono, że związki aktywne występowały u 23 gatunków roślin, a u 13 z nich wykryto je po raz pierwszy. Największą strefę zahamowania wzrostu sprawcy zarazy ogniowej powodowały ekstrakty z aloesu drzewiastego (*Aloe arborescens*), orzecha włoskiego (*Juglans regia*), sumaka octowca (*Rhus typhina*), szalwi lekarskiej (*Salvia officinalis*) i cząbrku ogrodowego (*Satureja hortensis*). W prawie wszystkich przypadkach etanol okazał się lepszym rozpuszczalnikiem roślinnych substancji przeciwko *E. amylovora* niż woda.