



**ANTIBIOTIČNO IN ANTIMIKOTIČNO DELOVANJE  
RASTLINSKIH EKSTRAKTOV INVAZIVK  
NA POVZROČITELJE BOLEZNI KROMPIRJA**

**RAZISKOVALNA NALOGA  
GIBANJE ZNANOST MLADINI  
PODROČJE: BIOTEHNOLOGIJA**

Avtorice: Klara DOLAR, Rika DOLŽAN, Vida ŽEMLJA, 4. M

Program: Strokovna gimnazija

Mentorica: mag. Marjetka KASTELIC ŠVAB, prof. biol., gosp.

Strahinj, marec 2025

## KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE.....	I
KAZALO SLIK .....	III
KAZALO TABEL.....	IV
KAZALO GRAFIKONOV .....	V
SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV .....	VI
POVZETEK.....	1
ABSTRACT.....	2
ZAHVALA .....	3
1 UVOD.....	4
2 DELOVNE HIPOTEZE.....	6
3 TEORETIČEN DEL.....	7
3.1 BAKTERIJE.....	7
3.1.1 <i>Streptomyces scabies</i> .....	7
3.2 GLIVE .....	8
3.2.1 Oomicete.....	8
3.2.2 <i>Phytophthora infestans</i> .....	8
3.3 INVAZIVNE RASTLINE .....	10
3.3.1 Ambrozija .....	11
3.3.2 Japonski dresnik .....	12
3.3.3 Kanadska zlata rozga.....	13
3.3.4 Žlezava nedotika.....	13
3.4 BARVANJE PO GRAMU .....	14
3.5 DIFUZIJSKI ANTIBIOGRAM.....	14
3.6 EKSTRAKCIJA POTENCIALNIH PROTIMIKROBNIH UČINKOVIN.....	15
4 EKSPERIMENTALNI DEL.....	16
4.1 NABIRANJE INVAZIVNIH TUJERODNIH RASTLIN .....	16
4.2 PRIPRAVA GOJIŠČ .....	16
4.2.1 Priprava PCA (Plate Count Agar) .....	16
4.2.2 Priprava krompirjevega agarja .....	17

4.3	IZOLACIJA ČISTE KULTURE .....	18
4.3.1	Izolacija <i>Streptomyces scabies</i> .....	18
4.3.2	Izolacija <i>Phytophthora infestans</i> .....	18
4.4	BARVANJE PO GRAMU .....	19
4.5	PRIPRAVA RASTLINSKIH EKSTRAKTOV .....	20
4.6	PRIPRAVA ANTIBIOTIČNIH IN ANTIMIKOTIČNIH DISKOV .....	21
4.7	IZVEDBA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA.....	21
5	REZULTATI.....	23
5.1	REZULTATI RASTI IZBRANIH KULTUR ( <i>S. scabies</i> , <i>P. infestans</i> ) NA GOJIŠČU.....	23
5.2	REZULTATI DIFERENCIALNEGA BRAVANJA PO GRAMU IN ENOSTAVNEGA BARVANJA .....	23
5.3	REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z ETANOLNIMI EKSTRAKTI IVAZIVK NA BAKTERIJO <i>S. scabies</i> .....	23
5.4	REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z VODNIMI EKSTRAKTI IVAZIVK NA BAKTERIJO <i>S. scabies</i> .....	26
5.5	PRIMERJAVA UČINKOVANJA ETANOLNIH IN VODNIH EKSTRAKTOV INVAZIVNIH RASTLIN NA ZAVIRANJE RASTI BAKTERIJE <i>S. scabies</i> .....	28
5.6	REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z ETANOLNIMI EKSTRAKTI IVAZIVK NA OOMICETO <i>P. infestans</i> .....	28
5.7	REZULTATI DIFUZIJSKIH ANTIBIOGRAMOV Z VODNIMI EKSTRAKTI NA OOMICETO <i>P. infestans</i> .....	31
5.8	PRIMERJAVA KORENINSKIH EKSTRAKTOV RASTLIN INVAZIVK.....	31
6	RAZPRAVA .....	32
7	ZAKLJUČEK.....	35
	VIRI IN LITERATURA.....	37
	SPLETNI VIRI.....	38

## KAZALO SLIK

Slika 1: Gomolj okužen s krastavostjo.....	7
Slika 2: Gomolj okužen s krompirjevo plesnijo .....	9
Slika 3: <i>P. infestans</i> pod 1000x povečavo .....	9
Slika 4: Življenjski cikel oomicet rodu <i>Phytophthora</i> .....	10
Slika 5: Ambrozija.....	11
Slika 6: Japonski dresnik .....	12
Slika 7: Kanadska zlata rozga.....	13
Slika 8: Žlezava nedotika.....	13
Slika 9: Difuzijski antibiogram.....	14
Slika 10: Stiskanje krompirja za pripravo krompirjevega gojišča .....	17
Slika 11: Čista kultura <i>S. scabies</i> .....	18
Slika 12: Odvzem vzorca okuženega gomolja krompirja.....	19
Slika 13: Mikrocentrifugiranje .....	20
Slika 14: Nacepljanje biokulture za izvedbo difuzijskega antibiograma .....	22
Slika 15: Kolonija bakterije <i>S. scabies</i> .....	23
Slika 16: Kolonija oomicete <i>P. infestans</i> .....	23
Slika 17: Učinek etanolnega ekstrakta korenin japonskega dresnika na rast bakterije <i>S. scabies</i> .....	25
Slika 18: Učinek etanolnega ekstrakta korenin japonskega dresnika na rast oomicete <i>P. infestans</i> ....	30

## **KAZALO TABEL**

Tabela 1: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti <i>S. scabies</i> .....	24
Tabela 2: Delovanje vodnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti <i>S. scabies</i> .....	26
Tabela 3: Delovanje etanolnih ekstrakti invazivni rastlin na zaviranje rasti oomicete <i>P. infestans</i> .....	29

## **KAZALO GRAFIKONOV**

Graf 1: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti bakterije <i>S. scabies</i> .....	25
Graf 2: Delovanje vodnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti bakterije <i>S. scabies</i> .....	27
Graf 3: Primerjava med delovanjem etanolnih in vodnih ekstraktov invazivk na zaviranje rasti bakterije <i>S. scabies</i> .....	28
Graf 4: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivni rastlin na zaviranje rasti oomicete <i>P. infestans</i> .....	30

## SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

g – gram

ml – mililiter

cm – centimeter

mm – milimeter

°C – stopinj Celzija

PCA – Plate count agar

h – ura

min – minuta

kg – kilogram

% - procent

## POVZETEK

Krompir je ena pomembnejših kulturnih rastlin, ki se med rastjo in skladiščenjem lahko okuži z različnimi bakterijami, glivami, ali ga napadejo razni škodljivci. Vse to lahko povzroči manjši pridelek ali pa manjšo odkupno ceno krompirja na trgu.

Glavni namen raziskovalne naloge je bil raziskati ali lahko najpogostejši boleznih krompirja, krompirjevo plesen in krastavost, zatiramo s pomočjo ekstraktov pripravljenih iz invazivnih tujerodnih rastlin, ki tako ali tako predstavljajo v okolju problem in jih želimo izkoreninjati oz. omejevati v njihovi razrasti. Tako bi ubili dve muhi na en mah. Zaradi invazivnih rastlin se biotska pestrost v našem okolju manjša, nekatere so celo strupene ali alergene, iz okolja pa jih je zaradi hitrega razmnoževanja in odpornosti proti tukajšnjim škodljivcem ter boleznim, skoraj nemogoče izkoreniniti. Pri raziskovanju smo uporabili invazivne rastline kot so ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga in žlezava nedotika.

Praktični del smo pričeli z nabiranjem invazivnih tujerodnih rastlin v naši okolici. Rastline smo posušili in posamezne rastlinske dele oziroma rastlinske droge (listi, cvetovi, korenine, stebila) zmleli. Pripravili smo ekstrakte, kjer smo uporabili dve topili, etanol in hladno destilirano vodo. Z okuženega krompirjevega gomolja s krompirjevo krastavostjo in krompirjevo plesnijo, smo odvzeli brise in jih dali na primerno gojišče. Bolezen krastavost povzroča bakterija *Streptomyces scabies* (*S. scabies*), zato smo jo nacepljali na PCA gojišče. Povzročitelj krompirjeve plesni pa je oomiceta *Phytophthora infestans* (*P. infestans*), katero smo nacepljali na krompirjev agar. Glede na morfološke lastnosti kultur in z opazovanjem pod mikroskopom smo določili, da delamo res z željenima kulturama. Z metodo difuzijskega antibiograma smo opazovali antibiotične in antimikotične učinke ekstraktov izbranih invazivnih rastlin na izbrani povzročiteljici boleznih pri krompirju.

Celotno raziskavo smo opravili v šolskem mikrobiološkem laboratoriju. V raziskovalni nalogi smo izvedli difuzijske antibiogramne s petindvajsetimi različno pripravljenimi ekstrakti rastlinskih drog invazivnih rastlin. Z raziskavo smo dokazali, da na bakterijo *S. scabies*, povzročiteljico krastavosti pri krompirju, enako učinkovito zaviralno delujejo etanolni in vodni ekstrakti iz korenin japonskega dresnika, nato iz listov japonskega dresnika in korenin žlezave nedotike in ambrozije. Na oomiceto *P. infestans*, povzročiteljico krompirjeve plesni, pa najbolj zaviralno delujejo samo etanolni ekstrakti stebila ambrozije, korenin japonskega dresnika, korenin žlezave nedotike ter stebila žlezave nedotike. Zaviralni učinki ekstraktov na *S. scabies* so bili vidni pri vodnih kot pri etanolnih ekstraktih, z razliko od *P. infestans*, kjer vodni ekstrakti niso imeli zaviralnega učinka.

Ključne besede: okužbe krompirja, krompirjeva plesen, *Phytophthora infestans*, krastavost, *Streptomyces scabies*, invazivne tujerodne rastline, naravni antibiotiki, naravni antimikotiki, difuzijski antibiogram

## ABSTRACT

Potatoes are one of our most important crops, but during growth and storage they can become infected by various bacteria, fungi or pests. All this can lead to lower yields or a lower farm gate price for potatoes on the market.

The main objective of the research was to investigate whether the most important potato diseases, potato blight and potato scab, can be controlled by using extracts prepared from invasive non-native plants. Invasive plants are reducing the biodiversity of our environment, some of them are even toxic or allergenic, and they are almost impossible to eradicate from the environment due to their rapid reproduction and their resistance to local pests and diseases. We have used Ragweed, Japanese knotweed, Canadian goldenrod and *Impatiens glandulifera* in our research.

We started the practical part by collecting invasive non-native plants in our surroundings. The plants were dried and the individual plant parts or plant drugs (leaves, flowers, roots, stems) were ground. Extracts were prepared using two solvents: ethanol and cold distilled water. Potato tubers infected with potato scab and potato blight were swabbed and placed on a suitable medium. The scab disease is caused by *Streptomyces scabies* (*S. scabies*) and was inoculated on PCA medium. Potato blight is caused by the oomycete *Phytophthora infestans* (*P. infestans*), which was inoculated on potato agar. Based on the morphological characteristics of the cultures and by observation under a microscope, we determined that we were indeed working with the desired cultures. The antibiotic and antimycotic effects of the extracts of the selected invasive plants were observed using the diffusion antibiogram method.

The entire study was carried out in the school's microbiology laboratory. In the research work, diffusion antibiograms were performed with twenty-five differently prepared extracts of plant drugs from invasive plants of ragweed, Japanese knotweed, *Solidago canadensis* and *Impatiens glandulifera*. We have shown that ethanol and aqueous extracts of Japanese knotweed roots, followed by Japanese knotweed leaves and glandular ryegrass roots, have equally effective inhibitory effects on *S. scabies*, the causal agent of potato scab. However, the most inhibitory effects on the oomycete *P. infestans*, the causal agent of potato blight, are observed with ethanolic extracts of ragweed stems, Japanese knotweed roots, glandular ryegrass roots and glandular ryegrass stems. The inhibitory effects on *S. scabies* were different for both aqueous and ethanolic extracts, in contrast to *P. infestans* where aqueous extracts had no inhibitory effect.

Keywords: potato infections, potato blight, *Phytophthora infestans*, *Streptomyces scabies*, invasive non - native plants, natural antibiotics, natural antimycotics, diffusion antibiogram

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujemo naši mentorici, mag. Marjetki Kastelic Švab, za njeno strokovno vodstvo, podporo in potrpežljivost pri nastajanju te raziskovalne naloge. S svojim znanjem in nasveti nas je usmerjala skozi raziskovalni proces, ter nam pomagala pri reševanju izzivov, s katerimi smo se srečevale.

Zahvalo izrekamo tudi laborantom na naši šoli, Meti Žefran in Nejcju Gubancu za pomoč pri laboratorijskem delu in pripravi potrebnega materiala. Njuna pripravljenost nam je bistveno pomagala pri uspešno opravljenem eksperimentalnem delu.

Hvala tudi sošolki Terezi Zmrzlikar, ki nam je iz svoje domače kmetije prinesla krompir, ki smo ga uporabili v raziskovalni nalogi.

# 1 UVOD

Invazivne tujerodne rastline (invazivke) v ekosistemu predstavljajo velik problem. Človek jih je v naše okolje prinesel namenoma kot gospodarske rastline, ali tudi ne namenoma, s turizmom in prometom. Ker v novem okolju tujerodne rastline nimajo naravnih sovražnikov, se lahko hitro širijo in izpodrivajo domače rastline. S tem ogrožajo domačo biotsko pestrost (Invazivne tujerodne vrste rastlin in živali, 13. 2. 2025).

Krompir med skladiščenjem lahko okužijo razne bakterije ali glive, za katere se takrat ustvarijo primerni pogoji za razmnoževanje. Velikokrat je vzrok za nastanek boleznih previsoka vlažnost. Veliko okužb lahko krompir dobi že med rastjo na njivi. Nekatere bolezni zmanjšujejo količino pridelka, nekatere pa le zmanjšujejo ceno krompirja na trgu zaradi izgleda. V obeh primerih pa bolezni krompirja povzročijo ekonomsko škodo pridelovalcu krompirja (Jenko, 2022).

Namen raziskovalne naloge je bil preučiti učinkovitost vodnih in alkoholnih ekstraktov nekaterih invazivnih rastlin, za zatiranje dveh pogostih boleznih krompirja – krastavosti in krompirjeve plesni. Krastavost povzroča bakterija *Streptomyces scabies* (*S. scabies*), krompirjevo plesen pa oomiceta *Phytophthora infestans* (*P. infestans*). Za izdelavo ekstraktov smo uporabili različne dele rastlin ambrozije, japonskega dresnika, kanadske zlate rozge in žlezave nedotike.

V teoretičnem delu smo predstavili splošne značilnosti bakterij in gliv ter bolj natančno opisali bakterijo *S. scabies* in oomiceto *P. infestans*. Predstavili smo glavne značilnosti ambrozije, japonskega dresnika, kanadske zlate rozge in žlezave nedotike ter nekaj splošnih lastnosti tujerodnih invazivnih rastlin. Teoretično smo opisali tudi difuzijski antibiogram, s katerim smo v raziskovalni nalogi dokazovali antimikrobne učinke izbranih invazivnih rastlin.

Praktični del raziskovalne naloge smo začeli z iskanjem in nabiranjem invazivnih rastlin v naši okolici. Nabrali smo liste, stebela, cvetje in korenine in jih posušili. Iz krompirja smo poskusili izolirati čim več za krompir patogenih mikroorganizmov. Uspešno smo izolirali bakterijo *S. scabies* in oomiceto *P. infestans*. Obe smo nacepili vsako na svoje izbrano gojišče in ju inkubirali. Oomiceto smo uspešno nacepili in kultivirali na krompirjev agar z dodanim antibiotikom, bakterijo pa na PCA gojišče.

Z metodo difuzijskega antibiograma smo ugotavljali ali/ in kateri deli nabranih invazivnih rastlin imajo antibiotični ali antimikotični učinek, pri zaviranju rasti izoliranih za krompir patogenih mikroorganizmov. Z metodo ekstrakcije trdno - tekoče smo pripravili etanolne in vodne ekstrakte delov rastlinskih drog invazivnih rastlin.

Naš cilj je bil ugotoviti, ali naravne spojine teh invazivnih rastlin lahko zavirajo rast omenjenih patogenov. S tem bi lahko invazivne rastline dobile koristno vlogo pri zatiranju boleznih krompirja, ki kmetom prinaša veliko težav.

Že narejene raziskave v laboratoriju kažejo, da invazivne rastline celo zaviralno delujejo na kalitev določenih semen oziroma na rast rastlin. Japonski dresnik zavira kalitev semen ajde (Hrovat, 2023) in rast čebule in drugih rastlin (Osolnik, 2017). Žlezava nedotika zaradi alelopatskih aktivnosti zaviralno vpliva na kalitev oljne ogrščice in bele gorjušice (Mišič, 2022).

Dokazano je, da nekatere invazivne rastline vsebujejo bioaktivne spojine, ki delujejo antibiotično in antimikotično. Japonski dresnik (*Fallopia japonica*) vsebuje resveratrol, emodin in polidatin, ki delujejo antibakterijsko in antimikotično. Te spojine zavirajo rast bakterij *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* in drugih mikroorganizmov (Cucu in sodel., 2021). Preučili so, da vodni ekstrakti iz japonskega dresnika in kanadske zlate rozge delujejo proti koloradskemu hrošču, ki velja za najpogostejšega škodljivca krompirja. Pri japonskem dresniku je smrtnost koloradskih hroščev največja, če zatiramo že ličinke. Tudi kanadska zlata rozga (*Solidago canadensis*) ima številne bioaktivne snovi, ki zavirajo rast bakterij in gliv. Dokazano je bilo, da vodni ekstrakti kanadske zlate rozge zmanjšujejo okužbo s krompirjevo plesnijo (Bergant, 2020). Žlezava nedotika (*Impatiens glandulifera*) ima dokazane antibiotične učinke na bakterijo *Staphylococcus epidermidis* (Krajnik, 2021).

In vivo raziskave so pokazale, da 46 %-ni etanolni izvleček rastlinske droge navadne zlate rozge (*Solidago virgaurea*) zmanjša vnetje tac pri artritičnih podganah. V klinični raziskavi pa so bolniki z okužbami sečil 33 dni trikrat dnevno jemali suhi izvleček zeli navadne zlate rozge. Približno 10 % bolnikov se po takem zdravljenju ni več pritoževalo nad bolečim, pekočim ali oviranim uriniranjem. Ugotovili so, da je bolj učinkovito zdravljenje z navadno zlato rozgo potrebno zdraviti vzporedno še z antibiotiki. V tem primeru so takšno dodatno zdravljenje bolniki ocenili kot učinkovito v 90 % kot dobro oziroma zelo dobro (Kreft s sodel., 2013).

## 2 DELOVNE HIPOTEZE

Pred začetkom opravljanja praktičnega dela smo si postavili naslednje hipoteze.

- Pričakujemo, da bodo izbrane tujerodne invazivne rastline imele antibiotske in antimikotične učinke na rast bakterije *S. scabies* in na rast oomicete *P. infestans*.
- Domnevamo, da bodo vodni ekstrakti delovali slabše od ekstraktov z etanolom pri zaviranju rasti bakterije *S. scabies* in oomicete *P. infestans*.
- Predvidevamo, da se bodo največje inhibicijske cone pojavile pri izvlečkih japonskega dresnika, ker je pogosto v literaturi naveden, da ima antibakterijski učinek.
- Domnevamo, da bodo izvlečki iz koreninskih delov rastlin vseh izbranih invazivnih rastlin najbolj učinkovali na zaviranje rasti bakterije *S. scabies* in oomicete *P. infestans*.

## 3 TEORETIČEN DEL

### 3.1 BAKTERIJE

Bakterije so ubikvitarni enocelični mikroorganizmi, ki jih uvrščamo v domeno prokariotov. Lahko so neškodljive ali patogene. Neškodljive bakterije so npr. del naše mikrobiote, katere del so lahko tudi razni oportunisti. Oportunisti so bakterije, ki v manjšem številu ne povzročajo težav. Če pa se ti preveč namnožijo, lahko povzročijo nastanek bolezni pri organizmu.

Najpogosteje se delijo z nespolnim razmnoževanjem oz. s cepitvijo. Cepitev poteka z razdvojitvijo večje materinske celice na dve genetsko enaki, manjši hčerinski celici. Čas, ki je potreben za nastanek dveh novonastalih celic iz ene večje, imenujemo generacijski čas. Ta lahko traja med 15 in 25 minutami, pri nekaterih bakterijah lahko traja tudi po več kot 24 ur. Hčerinski celici nato rastejo individualno ali pa ostaneta povezani skupaj bodisi z ostalimi celicami tvorita par, verižico ali grozd. Bakterije se med seboj razlikujejo tudi glede na obliko celic. Delimo jih na kroglaste oz. koke, paličaste oz. bacile ter zavite oz. spiralne bakterije.

Bakterijsko celico omejuje celična stena iz peptidoglikana oz. mureina. Glede na sestavo in debelino celične stene posameznih vrst bakterij, jih med seboj lahko razlikujemo na Gram + in Gram – bakterije. Gramnegativne bakterije imajo tanjšo celično steno kot grampozitivne (Oržen Adamič, Sernec, 2015).

#### 3.1.1 *Streptomyces scabies*

*S. scabies* je patogena grampozitivna bakterija, ki pri določenih poljščinah, predvsem krompirju, povzroča bolezen imenovano krastavost (slika 1).



Slika 1: Gomolj okužen s krastavostjo

(lasten vir, 17. 12. 2024)

Bolezen se prenaša iz tal ali preko semen. Razvije se v zgodnji fazi rasti gomolja ali pa neposredno prodre skozi povrhnjico gomolja. Začetni simptomi bolezni so globoke luknjaste plitve lezije, ki so

posledica programirane celične smrti v bližini okuženih predelov. Lezije se razvijejo na gomoljih in so okroglih oblik. Če se te združijo, razvijejo asimetrične kraste. Bolezen negativno vpliva na pridelavo krompirja, saj povzroča slabo kakovost semen. Okuženost gomoljev vpliva na manjši pridelek, manjši dobiček kmetom ter ima negativen vpliv na gospodarstvo (Ismail idr. 2020).

## 3.2 GLIVE

Glive so organizmi, ki spadajo v domeno evkariontov, ki jih uvrščamo v samostojno kraljestvo gliv. Prehranjujejo se s črpanjem organskih snovi iz okolja, zato sodijo med heterotrofne organizme. V naravi se pojavljajo kot parazitske, saprofitske ali simbiotske glive. Lahko so enocelične, kamor uvrščamo kvasovke, ali večcelične, med katere sodijo plesni in gobe. Plesni gradijo cevaste celice, ki tvorijo razvejane niti oz. hife. Hife se med seboj povezujejo v mrežasto tvorbo imenovano micelij. Lahko proizvajajo spolne ali nespolne spore oziroma trose. Spolni trosi so produkt združitve dveh spolnih celic in njihovih jeder, medtem ko nespolne trose tvori micelij z nespolnim razmnoževanjem. Celično steno imajo iz hitina. Glive, ki povzročajo bolezni pri drugih organizmih imenujemo patogene glive (Oržen Adamič, Serbec, 2015).

### 3.2.1 Oomicete

Oomicete ali "jajčne glive" so organizmi, ki jih uvrščamo v kraljestvo protistov. Rod *Oomyceta* tvorijo ločeno filogenetsko linijo glivam podobnih enoceličnih evkariontskih mikroorganizmov (MO) znotraj *Stramenopiles*. So nitasti in heterotrofni ter se lahko razmnožujejo spolno kot nespolno. Prehranjujejo se z absorpcijo hranilnih snovi iz tal, vode ali pa delujejo kot paraziti, ki za potrebe absorpcije vdirajo v telo drugega organizma. Vseeno so jih že nekoč zaradi podobne nitaste rasti in podobnega načina prehranjevanja uvrščali v kraljestvo gliv. Oomicete in ostale glive se predvsem razlikujejo v zgradbi celične stene ter tvorbi hif. Glavna komponenta celične stene oomicet je celuloza in ne hitin, značilen za večino gliv. Oomicetske hife so diploidne, medtem ko so hife ostalih gliv haploidne. Patogene oomicete povzročajo bolezni pri človeku, rastlinah in ribah (Introduction to the Oomycota b. d.).

### 3.2.2 *Phytophthora infestans*

*P. infestans* je rastlinska patogena oomiceta in je povzročiteljica boleznih imenovane krompirjeva plesen. Poleg krompirja okužuje tudi številne druge vrste rastlin, predvsem iz družine razhudnikovk (npr. paradižnik). Prvi simptomi boleznih so rumenorjave pege, ki se pojavijo na zgornji strani listov. Bolezen se kasneje lahko razširi še na listne peclje, steblo, cvet, plod ter gomolj. Micelij *P. infestans* (slika 3) se tvori v obolelih tkivih rastlinskih celic, od koder črpa hranilne snovi za potrebe svojega metabolizma. Ob deževnem vremenu ali jutranji rosi je krompirjevo plesen mogoče prepoznati po snežno beli prevleki na spodnji strani listov. To plesnivo prevleko tvorijo trosonosci in trosovniki (zoosporangiji). V primeru okuženega stebela se pojavijo temne pege, ki povzročijo sušenje rastline. Okužen gomolj pa je moč

prepoznati po sivorjavih, nekoliko udrtih pegah (slika 2), pod katerimi meso krompirja porjavi v obliki rjastih meglic. Ko je enkrat gomolj okužen, začnejo tkiva propadati in krompir začne gniti. K samemu gnitju velikokrat prispevajo tudi saprofitske bakterije. Gomolj se v primeru vlažnih tal spremeni v kašasto gmoto (Maček, 1991).

Nastanek trosovnikov *P. infestans* je odvisen od relativne zračne vlage ter temperature. Temperaturni optimum je od 18 °C do 22 °C. Trosovniki se ne formirajo v primeru, ko je temperatura zraka manjša od 3°C ali višja od 26 °C. Tvorba trosovnikov zahteva tudi veliko zračne vlažnosti. Najugodnejša je 100 % relativna zračna vlažnost, pod 91 % pa tvorba le-teh ni več mogoča. Inkubacija oomicet in razvoj prvih bolezenskih znakov traja tri do pet dni pri temperaturi med 18 °C in 22 °C. Bolezen se najpogosteje pojavi v deževnih ter hladnih poletjih (Zajc, 2022).

Slika 4 prikazuje vstop *P. infestans* preko sporangijev v gostiteljski organizem, ki ga sprva ohranja živega. Ko se ta dovolj razširi in namnoži, njegove hife prodrejo v endoderm (notranja plast rastlinske skorje) gostitelja, kjer z izločanjem encimov povzročijo razgradnjo celične stene in posledično propad celic. *P. infestans* nato sporulira, saj za razliko od ostalih saprofitskih organizmov ni zmožen preživetja v odmrlem tkivu (Blatnik, 2023).



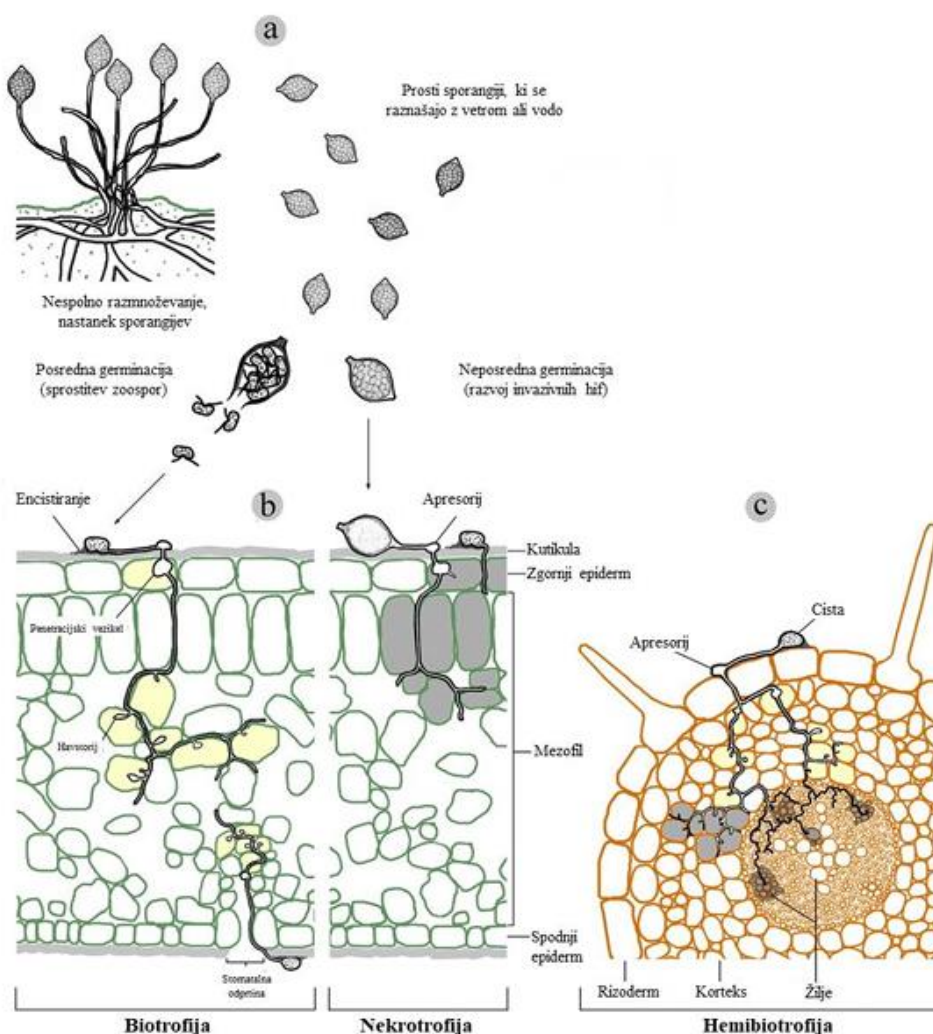
Slika 2: Gomolj okužen s krompirjevo plesnijo

(lasten vir, 7. 1. 2025)



Slika 3: *P. infestans* pod 1000x povečavo

(lasten vir, 7. 1. 2025)



Slika 4: Življenjski cikel oomicet rodu *Phytophthora*

Vir: [https://www.researchgate.net/figure/nfection-strategies-and-lifestyles-of-selected-oomycetes-a-Typical-asexual\\_fig1\\_277780639](https://www.researchgate.net/figure/nfection-strategies-and-lifestyles-of-selected-oomycetes-a-Typical-asexual_fig1_277780639), 21. 2. 2025

### 3.3 INVAZIVNE RASTLINE

Invazivne tujerodne rastline so vse rastline, ki jih je človek v preteklosti prinesel od drugje v svoje, domače okolje. Prinesel jih je kot okrasne rastline, hrana za čebele, vir lesa in drugo, ne zavedajoč se, kakšno škodo bo ta rastlina lahko povzročila. Mnoge invazivke negativno vplivajo tudi na gospodarstvo in zdravje ljudi. V Sloveniji poznamo približno 750 različnih tujerodnih rastlin. Približno 10 % teh rastlin je postalo invazivnih, kar pomeni, da so se začele zelo hitro razmnoževati, izpodrivati, škoditi in ogrožati ekosisteme domorodnih avtohtonih rastlin. Nekatere invazivke so tudi strupene, močno alergene in agresivne. Lahko so zelo odporne in zato jih je zelo težko izkoreniniti iz okolja. Semena se širijo z vetrom, s ptiči, po vodi, z mehanizacijo in drugo (Paulus, 2012).

Če invazivke ne začnemo odstranjevati takoj, ko ta začne rasti, nam bo to kasneje predstavljalo velik ekološki problem. Invazivke lahko odstranjujemo mehansko (puljenje, košenje) ali kemično (s pesticidi). Ker tujerodne rastline v novem okolju nimajo naravnega sovražnika, bi tega morali naseliti iz tujine, od koder rastlina izvira. To pomeni novo ekološko tveganje za ogrožanje avtohtonih vrst. Odstranjevanje invazivk ni nujno popolnoma uspešno. Če se tega lotimo prepozno, rastlino lahko le še omejujemo pri njenem širjenju (Paulus, 2012).

### 3.3.1 Ambrozija

Ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia*) je znana tudi pod imenom pelinolistna žvrklja, ki izhaja iz Severne Amerike. V Sloveniji se največ razrašča po Prekmurju ob cestah, železnicah, njivah in poljskih poteh. Širjenje ambrozije je v zadnjih desetletjih postalo veliko večje, kar povzroča številne težave v kmetijstvu in zdravju ljudi (Rozman, 2016). Ambrozija je enoletna rastlina, ki zraste od 5 cm pa vse do 2 metra visoko (slika 5). Cveti od sredine julija do konca oktobra. Ambrozija se zelo hitro širi, saj ena rastlina lahko proizvede do 2500 semen, ki lahko ostanejo kaljiva tudi do 30 let. Semena lahko prenašajo živali ali potujejo po vodni površini. Prenesejo se tudi preko pnevmatik kmetijskih strojev ter z izkopanim materialom (Rozman, 2016).

V Sloveniji je od leta 2010 predpisano obvezno zatiranje ambrozije, in sicer z zakonom o zdravstvenem varstvu rastlin ter odredbo o ukrepih za zatiranje škodljivih rastlin iz rodu *Ambrosia*. V skladu s temi predpisi so lastniki zemljišč dolžni odstranjevati ambrozijo na vseh površinah, vključno s kmetijskih in nekmetijskih zemljišč (Pelinolistna žvrklja ali ambrozija b. d.).

Ambrozija je izredno alergena rastlina, njen pelod lahko povzroči težave kot so seneni nahod, vnetje oči, astmo. Poleg tega ima tudi nekaj zdravilnih učinkov. Nekoč so zmečkane liste polagali na vneta mesta pikov insektov. Iz posušenih listov pa so si pripravljali čaj proti otekanju nog. Danes jo lahko uporabljamo v obliki kapljic proti prebavnim težavam (Škodljive rastline iz rodu *Ambrosia* b. d.).



Slika 5: Ambrozija

(lasten vir, 17. 9. 2024)

### 3.3.2 Japonski dresnik

Japonski dresnik (*Fallopia japonica*) je invazivna tujerodna rastlina, ki izvira iz Vzhodne Azije. V Evropo je bila prvič prinesena kot okrasna rastlina, kasneje pa so jo uporabljali tudi za utrjevanje brežin in preprečevanje erozije (Frajman, 2008). Cveti od konca julija do jeseni (slika 6). Ima izjemno razvejan koreninski sistem. Sega več metrov v globino in širino, kar mu omogoča preživetje tudi v ekstremnih razmerah. (Rozman, 2016). Rastlina se širi s prevozom zemlje in kamenja, saj ima izjemno sposobnost zrasti tudi iz zelo majhnih delov korenike. Najbolj mu ustrezajo vlažna in sončna rastišča predvsem ob rekah in potokih. Uspeva tudi v polsenici in celo na zasenčenih gozdnih tleh. Danes ga najdemo povsod po Sloveniji. Japonski dresnik velja za eno najbolj invazivnih rastlin v Evropi. Zaradi gostega razraščanja omejuje rast drugih rastlin, s čimer zmanjšuje biodiverzitetu v domačem okolju. Njegova korenika lahko prodre skozi asfalt in celo poškoduje temelje stavb, cest, jezov in nasipov, kar povzroča visoke stroške vzdrževanje infrastrukture (Prelovšek, 2012).

Čeprav velja za škodljivo invazivko, ima japonski dresnik tudi koristne lastnosti. Vsebuje bioaktivne snovi, kot sta resveratrol in emodin, ki imata antioksidativne, antibiotične in antimikotične učinke. Že stoletja ga uporabljajo v tradicionalni kitajski medicini za zdravljenje različnih bolezni. Ekstrakti iz rastline se preučujejo tudi kot potencialna sredstva proti rakavim celicam. V kozmetiki se uporablja za čiščenje nečiste kože, saj naj bi uravnaval delovanje lojnic in pomagal pri odstranjevanju aken. Poleg tega naj bi upočasnjeval staranje kože. Mlade poganjke rastline lahko uživamo kot spomladansko zelenjavo, podobno kot rabarbaro ali beluše (Rozman, 2016).



Slika 6: Japonski dresnik

(lasten vir, 17. 9. 2024)

### 3.3.3 Kanadska zlata rozga

Kanadska zlata rozga (*Solidago canadensis*) izhaja iz Amerike. Zraste od 70- 210 centimetrov visoko. Majhni rumeni cvetovi (slika 7), s številnimi koški se združujejo v socvetja ter se na rastlini pojavijo od sredine julija do oktobra (Rozman, 2016).

Razširjena je po vsej Sloveniji in jo najdemo na redko košenih travnikih, ob železnicah in cestah ter ob vodah in gozdnih robovih. Kjer se močno razraste, ne izriva samo domorodnih rastlin, ampak tudi zmanjšuje raznovrstnost oprasovalcev in zmanjšuje življenjski prostor nekaterih ogroženih travniških ptic. Širi se predvsem s pomočjo semen, ki jih prenaša veter, in z podzemnimi poganjki (Rozman, 2016).

Zdravilni del zlate rozge je njena zel (cvetoč nadzemni del rastline). V farmaciji se pojavi v zdravilnem čaju za lajšanje blagih vnetij sečil. Učinkovita naj bi bila tudi pri težavah s prostato, pri revmi in raznih kožnih obolenjih. Nekoč so kanadsko zlato rozgo uporabljali za hitrejše celjenje ran (Mlinarič 2007) .



Slika 7: Kanadska zlata rozga

(lasten vir, 17. 9. 2024)

### 3.3.4 Žlezava nedotika

Žlezava nedotika (*Impatiens glandulifera*) izvira iz zahodne Himalaje in je danes prisotna v številnih evropskih državah. V Sloveniji se najpogosteje pojavlja v severnem in severovzhodnem delu, ob vodotokih, v močvirnih gozdovih in ob robovih travnikov, kjer močno vpliva na stabilnost brežin. Za uspevanje potrebuje vlažna tla, vendar je občutljiva na pozne pomladanske in zgodnje jesenske zmrzali. Zraste lahko do dva metra visoko, njeni cvetovi so škrlatno obarvani (slika 8). Je enoletnica, ki cveti med julijem in oktobrom (Rozman, 2016).



Slika 8: Žlezava nedotika

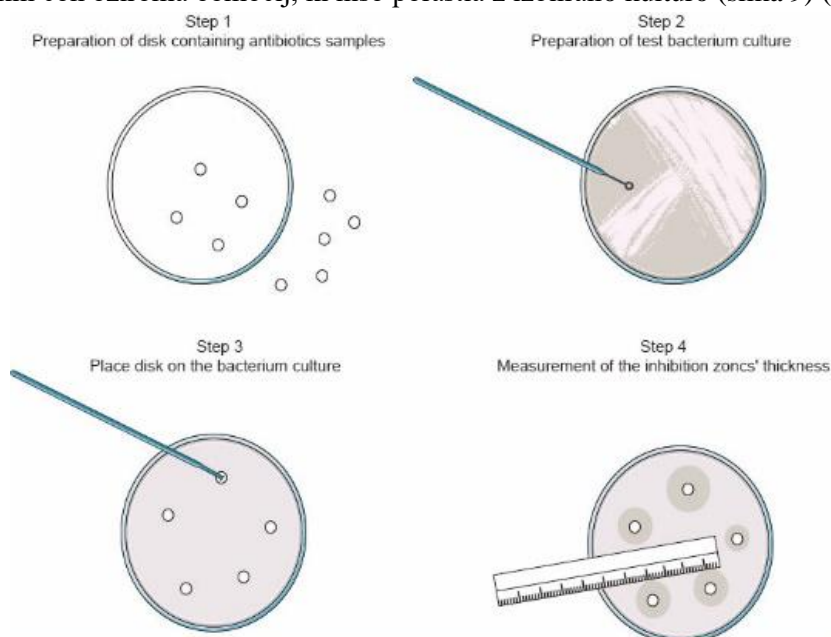
(lasten vir, 17. 9. 2024)

### 3.4 BARVANJE PO GRAMU

Barvanje po Gramu je metoda, ki omogoča ločevanje bakterij glede na zgradbo in debelino njihove celične stene. Ločimo grampozitivne in gramnegativne bakterije. Grampozitivne bakterije imajo več peptidoglikana in manj lipidov kot gramnegativne bakterije. Postopek barvanja po Gramu se začne z barvanjem, pri katerem bakterije obarvamo s kristal vijoličnim barvilom, ki prodre v njihovo celično steno. Nato barvilo fiksiramo z dodatkom joda (Lugolovo raztopino), ki tvori stabilen kompleks z barvilom in prepreči, da bi se barvilo hitro izpralo. Nato sledi razbarvanje z etanolom, kar pri gramnegativnih bakterijah razgradi lipidno plast celične stene in omogoči izpiranje barvila. Pri grampozitivnih bakterijah dehidracija celične stene prepreči njegovo izpiranje, zato te ostanejo vijolično obarvane. Zadnji korak je kontrastno barvanje s fuksinom ali safraninom, ki gramnegativne bakterije obarva rdeče ali roza, medtem ko grampozitivne ohranijo vijolično barvo (Herženjak Stanko, 2011).

### 3.5 DIFUZIJSKI ANTIBIOGRAM

Difuzijski antibiogram je preprosta kvalitativna metoda za določanje učinkovitosti delovanja antibiotičnih ali antimikotičnih snovi na rast izbrane izolirane biokulture. Na gojišče nanese primerno skoncentrirano celično suspenzijo čiste biokulture. Suspenzijo nato s hokejko enakomerno razmažemo po celotni površini gojišča in nanj položimo diske prepojene z izbranimi antibiotičnimi učinkovinami ekstraktov. Učinkovine difundirajo v gojišče in potencialno preprečijo rast in razmnoževanje izolirani kulturi. Rezultat antibiograma odčitamo po inkubaciji, z merjenjem premera nastalih inhibicijskih con oziroma območij, ki niso porastla z izolirano kulturo (slika 9) (Jereb, 2015).



Slika 9: Difuzijski antibiogram

Vir fotografije: [https://www.researchgate.net/figure/Disk-diffusion-method-with-NPs\\_fig2\\_332522731](https://www.researchgate.net/figure/Disk-diffusion-method-with-NPs_fig2_332522731), dostop 16. 2. 2025

### **3.6 EKSTRAKCIJA POTENCIALNIH PROTIMIKROBNIH UČINKOVIN**

Ekstrakcija je postopek, kjer potencialne učinkovine iz trdne ali tekoče zmesi prenesemo v topilo. Pridobljena zmes se imenuje ekstrakt. Poznamo ekstrakcijo tekoče- tekoče, kjer imamo raztopino, iz katere s tekočino izoliramo neko snov. Pri ekstrakciji trdno- tekoče pa imamo snov v trdnem agregatnem stanju, ki jo ekstrahiramo v topilu. Na hitrost ekstrakcije vplivajo temperatura, izbrano topilo, mešanje in velikost delcev (Travica, 2020).

Pri ekstrakciji trdno- tekoče, kjer izoliramo potencialne mikrobne snovi iz rastline je pomembno, da najprej rastlino posušimo in zmeljemo, da dobimo homogen vzorec. Topilo izbiramo glede na topnost bioaktivnih snovi v topilu. Topilo lahko močno vpliva na antimikrobno delovanje. Največ ekstraktov je narejenih z alkoholnimi topili, kjer malo dodane vode ekstrakcijo lahko še izboljša (Gioahin, 2016).

## 4 EKSPERIMENTALNI DEL

Za izvedbo eksperimentalnega dela smo sami nabrali in posušili različne dele rastlin invazivk in jih zmleli za pripravo vodnih in etanolnih ekstraktov. Nato smo pripravili PCA gojišče za kultivacijo bakterijskega patogena krastavosti krompirja *S. scabies* in krompirjev agar za kultivacijo oomicete *P. infestans*, ki povzroča krompirjevo plesen.

S pomočjo izgleda obolenja krompirja in izbranih danih identifikacijskih metod (opazovanje kolonij na gojišču, enostavno barvanje, diferencialno barvanje po Gramu ter mikroskopiranje) smo uspeli identificirati obe kulturi, s katerima smo nadalje ugotavljali antibiotično oz. antimikotično delovanje trinajstih vodnih in dvanajstih etanolnih ekstraktov štirih izbranih invazivk (ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga in žlezava nedotika). Pri vsaki rastlini smo pripravili ekstrakte iz različnih rastlinskih drog oz. delov. Vse ekstrakte zmletih rastlinskih drog invazivk smo pripravili po principu ekstrakcije trdno- tekoče z vodo in etanolom.

### 4.1 NABIRANJE INVAZIVNIH TUJERODNIH RASTLIN

Inazivke smo nabirali 17. septembra, 2024, v občini Žirovnica. Rastline smo našli ob železnici in na zapuščenih kupih peska in prsti. Nabrali smo korenine, liste, cvetove in stebela ambrozije, japonskega dresnika, kanadske zlate rozge in žlezave nedotike. Rastline smo ločili in jih sušili en mesec na zraku na časopisnem papirju.

### 4.2 PRIPRAVA GOJIŠČ

#### 4.2.1 Priprava PCA (Plate Count Agar)

Material:

- 500 ml destilirane vode
- 11, 75 g PCA agar
- magnetno mešalo
- erlenmajerica
- reagenčne stekleničke

Postopek dela:

Ko smo odmerili 500ml destilirane vode smo vanjo dodali 11,75 g PCA ter ga postavili na magnetno mešalo z gretjem. Gojišče smo vreli do zbitritve. Nato smo ga prelili v reagenčne stekleničke ter avtoklavirali (121° C, 30 min).

## 4.2.2 Priprava krompirjevega agarja

Material:

- 0,5 kg krompirja
- 1000 ml destilirane vode
- 16 g agar- agar
- 20g glukoze
- 0,06g antibiotika kloramfenikol
- merilni valj
- lupilec krompirja
- posoda za kuhanje
- gaza
- erlenmajerica
- magnetno mešalo
- reagenčne stekleničke

Postopek dela:

Najprej smo natehtali 0,5 kg krompirja, ga olupili, narezali na majhne koščke ter ga kuhali v destilirani vodi. Skuhan krompir ter vodo smo nato prefiltrirali preko gaza (slika 10) in dopolnili volumen do 1000 ml. V krompirjev dekstrozni filtrat smo dodali sladkor in antibiotik. Gojišče smo prelili v reagenčne stekleničke ter ga avtoklavirali (121° C, 30 min).



*Slika 10: Stiskanje krompirja za pripravo krompirjevega gojišča*

*(lasten vir, 10. 12. 2024)*

## 4.3 IZOLACIJA ČISTE KULTURE

### 4.3.1 Izolacija *Streptomyces scabies*

Bakterijo *S. scabies* smo izolirali iz gomolja, ki je bil okužen s krastavostjo. Z aseptično tehniko smo z ezo postrgali okužen gomolj in jo pomočili v 9 ml sterilizirane fiziološke raztopine. Epruveto z odvzetim vzorcem smo nato stresali in prenesli 1 ml celične suspenzije na trdno gojišča PCA. Gojišče s celično suspenzijo smo inkubirali 48 ur na 37 °C. Po inkubaciji smo opazovali morfološke značilnosti posameznih kolonij mešane kulture in jih primerjali z morfološkimi značilnosti *S. scabies*. Prepoznano kolonijo smo nato opazovali še pod mikroskopom in jo uspešno izolirali iz mešane kulture porasle na PCA gojišču (slika 11).



Slika 11: Čista kultura *S. scabies*

(lasten vir, 17. 12. 2024)

### 4.3.2 Izolacija *Phytophthora infestans*

Oomiceto *P. infestans* smo izolirali iz okuženega gomolja krompirja s prepoznano krompirjevo plesnijo. Z aseptično tehniko smo z ezo postrgali okužen gomolj (slika 12) in jo pomočili v 9 ml sterilizirane fiziološke raztopine. Po stresanju smo prenesli 1 ml celične suspenzije na trdno gojišče s krompirjevim agarjem. Gojišče s celično suspenzijo smo nato inkubirali 5 dni na sobni temperaturi (22 °C) ter nato še 10 dni v hladilniku (6°C). Po inkubaciji smo opazovali morfološke značilnosti posameznih kolonij mešane kulture. Kolonije smo primerjali z morfološkimi lastnosti *P. infestans*. Ko smo izbrali kolonijo, ki je bila morfološko podobna *P. infestans* smo opazovali še pod mikroskopom. Kulturo smo nato uspešno izolirali do čiste kulture.



*Slika 12: Odvzem vzorca okuženega gomolja krompirja*

*(lasten arhiv, 26. 11. 2024)*

#### **4.4 BARVANJE PO GRAMU**

Material:

- gorilnik
- vžigalice
- lesene klešče
- imerzijsko olje
- mikroskop
- destilirana voda
- etanol
- cepilna zanka
- safranin
- Lugolova raztopina
- kristal vijolično barvilo

Na objektno stekelce smo najprej dodali kapljico destilirane vode, nato pa s cepilno zanko prenesli del bakterijske kulture z gojišča. Bakterije smo enakomerno razmazali po stekelcu. Bakterije smo fiksirali tako, da smo preparat nekajkrat povlekli čez plamen. Sledilo je dvominutno barvanje s kristal vijoličnim barvilom, ki smo ga nato sprali z destilirano vodo. Nato smo nanесли Lugolovo raztopino in po eni minuti ponovno sprali z vodo. Za razbarvanje smo uporabili etanol, ki je deloval 30 sekund, nato pa smo preparat za 30 sekund obarvali še s safraninom. Po zadnjem spiranju z vodo smo vzorec opazovali pod mikroskopom pri 1000- kratni povečavi.

#### 4.5 PRIPRAVA RASTLINSKIH EKSTRAKTOV

Material:

- električni mlinček
- terilnica in pestilo
- čaša
- epice
- tehtnica
- etanol
- destilirana voda
- posušeni rastlinski deli invazivk ( ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga in žlezava nedotika)
- mikrocentrifuga
- avtomatska pipeta

Posušene rastlinske dele smo ločili vsakega posebej. Z električnim mlinčkom smo vsak del posebej zmleli in jih v vsako epico natehtali 0, 25 g. Nato smo v vsako epico dodali cca. 1, 5 ml hladne destilirane vode za pripravo vodnih ekstraktov in cca. 1, 5 ml etanola za pripravo etanolnih ekstraktov. Tekočino smo odmerjali z avtomatsko pipeto in si količine zapisovali v tabelo. Nato smo vse ekstrakte mikrocentrifugirali za 5 min na 14000 obratov (slika 13). Pripravljene vodne in etanolne rastlinske ekstrakte smo dali v zamrzovalnik (- 20°C).



Slika 13: Mikrocentrifugiranje

(lasten vir, 19. 11. 2024)

## 4.6 PRIPRAVA ANTIBIOTIČNIH IN ANTIMIKOTIČNIH DISKOV

Material:

- sterilni diski iz kromatografskega papirja
- etanolni ekstrakti invazivk (ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga, žlezava nedotika)
- vodni ekstrakti rastlin
- kapalka
- petrijevka

Najprej smo pripravili okrogle diske iz filtrirnega papirja. Da bi skoncentrirali čim več sestavin ekstrakta, smo naredili diske dvoplastne. Za vsak ekstrakt smo pripravili po več diskov za tri do šest paralelk poskusov antibiograma. S kapalko z ekstrakti rastlinskih delov izbranih invazivk smo tako prepojili diske s potencialnimi antibiotičnimi oz. antimikotičnimi učinkovinami.

## 4.7 IZVEDBA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA

Material:

- sterilne petrijevke
- epruvete z 9 ml fiziološke raztopine
- krompirjev agar in PCA gojišče
- gorilnik
- eza
- diski
- hokejke
- avtomatska pipeta
- gojišča s kulturam
- stresalnik

Na sterilne petrijevke smo aseptično prelili krompirjev agar in PCA gojišče in počakali, da se strdi. Z gojišča s kulturo smo s prežarjeno ohlajeno ezo vzeli kulturo in jo prenesli v fiziološko raztopino in stresali na stresalniku. Nato smo 1ml suspenzije celic aseptično nanesti na gojišče (slika 14) in razmazali s hokejko. Na sredino vsake petrijevke z gojiščem smo nato nanesti disk. Za vsak ekstrakt smo naredili po vsaj tri (ponekod tudi šest) paralelk, na eni petrijevki sta bila po dva diska. *P. infestans* smo inkubirali

Klara Dolar, Rika Dolžan, Vida Žemlja. Antibiotično in antimikotično delovanje rastlinskih ekstraktov invazivk na povzročitelje boleznih krompirja. Biotehniški center Naklo- Stokovna gimnazija, 2025

na sobni temperaturi (22 °C) za 5 dni, nato smo petrijevke še za 10 dni postavili v hladilnik. Bakterijo *S. scabies* smo inkubirali 2 dni na 37 °C.



*Slika 14: Nacepljanje biokulture za izvedbo difuzijskega antibiograma*

*(lasten vir, 26. 11. 2024)*

## 5 REZULTATI

S postavljenimi delovnimi hipotezami ugotavljanja zaviralnega učinka rastlin invazivk, smo iz mešane kulture uspešno izolirali in identificirali kulturi, bakterijo *S. scabies* in oomiceto *P. infestans*. Izvedli smo difuzijske antibiograme s 25- mi različnimi rastlinskimi ekstrakti štirih različnih vrst invazivk in njihovimi rastlinskimi deli, s po šestimi ali tremi paralelkami za vsako izolirano kulturo.

### 5.1 REZULTATI RASTI IZBRANIH KULTUR (*S. scabies*, *P. infestans*) NA GOJIŠČU

Kolonija čiste kulture bakterije *S. scabies* je na PCA gojišču oker barve, okrogle oblike z ravnimi robovi in je lahko mazljiva (slika 15). Čista kultura oomicete *P. infestans* pa se je na krompirjevem agarju razrasla kot bela kolonija s puhastim micelijem (slika 16).



Slika 15: Kolonija bakterije *S. scabies*

(lasten vir, 17. 12. 2024)



Slika 16: Kolonija oomicete *P. infestans*

(lasten vir, 17. 12. 2024)

### 5.2 REZULTATI DIFERENCIALNEGA BARVANJA PO GRAMU IN ENOSTAVNEGA BARVANJA

Za identifikacijo bakterije *S. scabies* smo izvedli diferencialno barvanje po Gramu, kjer smo potrdili, da je ta bakterija res Gram –, saj so se celice obarvale rdeče. Pri oomiceti *P. infestans* pa smo barvali z enostavnim barvanjem z metilenskim modrilom, kjer smo opazovali njihovo značilno obliko hif in razrasti micelija.

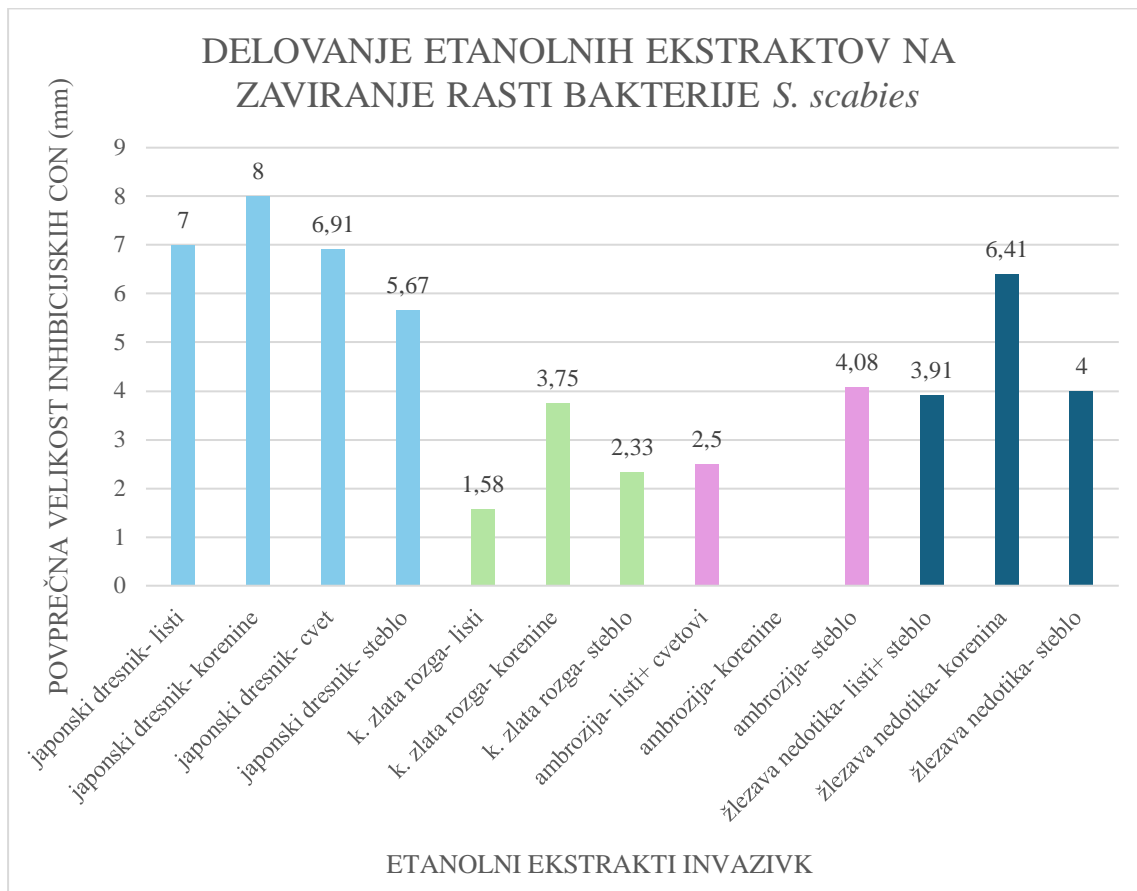
### 5.3 REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z ETANOLNIMI EKSTRAKTI INVAZIVK NA BAKTERIJO *S. scabies*

Tabela 1 prikazuje rezultate difuzijskih antibiogramov delovanja etanolnih izvlečkov na rast *S. scabies*. Največje inhibicijske cone smo izmerili pri etanolnih ekstraktih korenine japonskega dresnika, listov

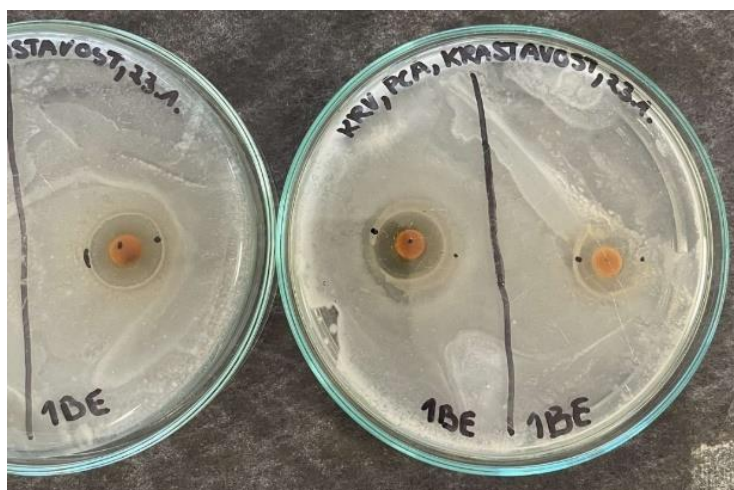
japonskega dresnika, cvetov japonskega dresnika, korenine žlezave nedotike, stebila japonskega dresnika, stebila ambrozije in korenine zlate rozge. Pri japonskem dresniku smo torej opazili v povprečju najboljše zaviralno delovanje, kar pomeni, da vsi deli rastline vsebujejo antibiotične učinkovine, ki uspešno zavirajo rast bakterije *S. scabies*. Največji premer inhibicijske cone smo izmerili pri ekstraktu iz korenin japonskega dresnika (8 mm) (slika 17). Takoj za njim so najboljše delovali ekstrakti žlezave nedotike in nato kanadske zlate rozge in ambrozije. Najslabše je deloval etanolni ekstrakt listov kanadske zlate rozge (1,58 mm) (graf 1).

Tabela 1: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti *S. scabies*

Etanolni ekstrakti	1. petrijevka (mm)	2. petrijevka (mm)	3. petrijevka (mm)	4. petrijevka (mm)	5. petrijevka (mm)	6. petrijevka (mm)	<b>Povprečna velikost inhibicijske cone (mm)</b>
japonski dresnik- listi	8,5	5	7,5	6,5	8,5	6	<b>7</b>
japonski dresnik- korenine	8	10	5,5	8	9,5	7	<b>8</b>
japonski dresnik- cvet	4,5	5,5	10	6	6	9,5	<b>6,91</b>
japonski dresnik- steblo	0	7,5	5,5	5,5	10	5,5	<b>5,67</b>
kanadska zlata rozga - listi	0	0	0	5,5	4	0	<b>1,58</b>
kanadska zlata rozga- korenine	6,5	5,5	3,5	7	0	0	<b>3,75</b>
kanadska zlata rozga- steblo	0	0	0	0	6	8	<b>2,33</b>
ambrozija- listi + cvetovi	3,5	4,5	0	7	0	0	<b>2,5</b>
ambrozija- steblo	5	0	4	5,5	5	5	<b>4,08</b>
žlezava nedotika- listi+ steblo	0	0	0	8	7,5	8	<b>3,91</b>
žlezava nedotika- korenina	5	5,5	4,5	7	9	7,5	<b>6,41</b>
žlezava nedotika- steblo	0	0	4	8	6	6	<b>4</b>



Graf 1: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti bakterije *S. scabies*



Slika 17: Učinek etanolnega ekstrakta korenin japonskega dresnika na rast bakterije *S. scabies*

(lasten vir, 28. 1. 2025)

#### 5.4 REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z VODNIMI EKSTRAKTI INVAZIVK NA BAKTERIJO *S. scabies*

Tabela 2 prikazuje rezultate meritev pri delovanju vodnih izvlečkov invazivnih rastlin na rast bakterije *S. scabies*. Pri vodnih ekstraktih japonskega dresnika so se inhibicijske cone pojavile pri ekstraktih iz listov in korenin. Iz tabele 2 lahko razberemo, da so bile povprečno inhibicijske cone največje pri koreninah (7, 67mm). Ekstrakt cvetov ni pokazal zaviralnega učinka.

Vsi ekstrakti iz kanadske zlate rozge so zavirali rast bakterije, torej so se inhibicijske cone pojavile pri ekstraktih iz vseh delov rastline. Največje inhibicijske cone so se pojavile pri ekstraktu z listi (7mm) (graf 2).

Tudi pri vseh vodnih ekstraktih ambrozije smo izmerili inhibicijske cone. Največja se je pojavila pri ekstraktu iz korenine (9,83 mm). V povprečju so vodni ekstrakti ambrozije najboljše zavirali rast bakterije *S. scabies* (graf 2).

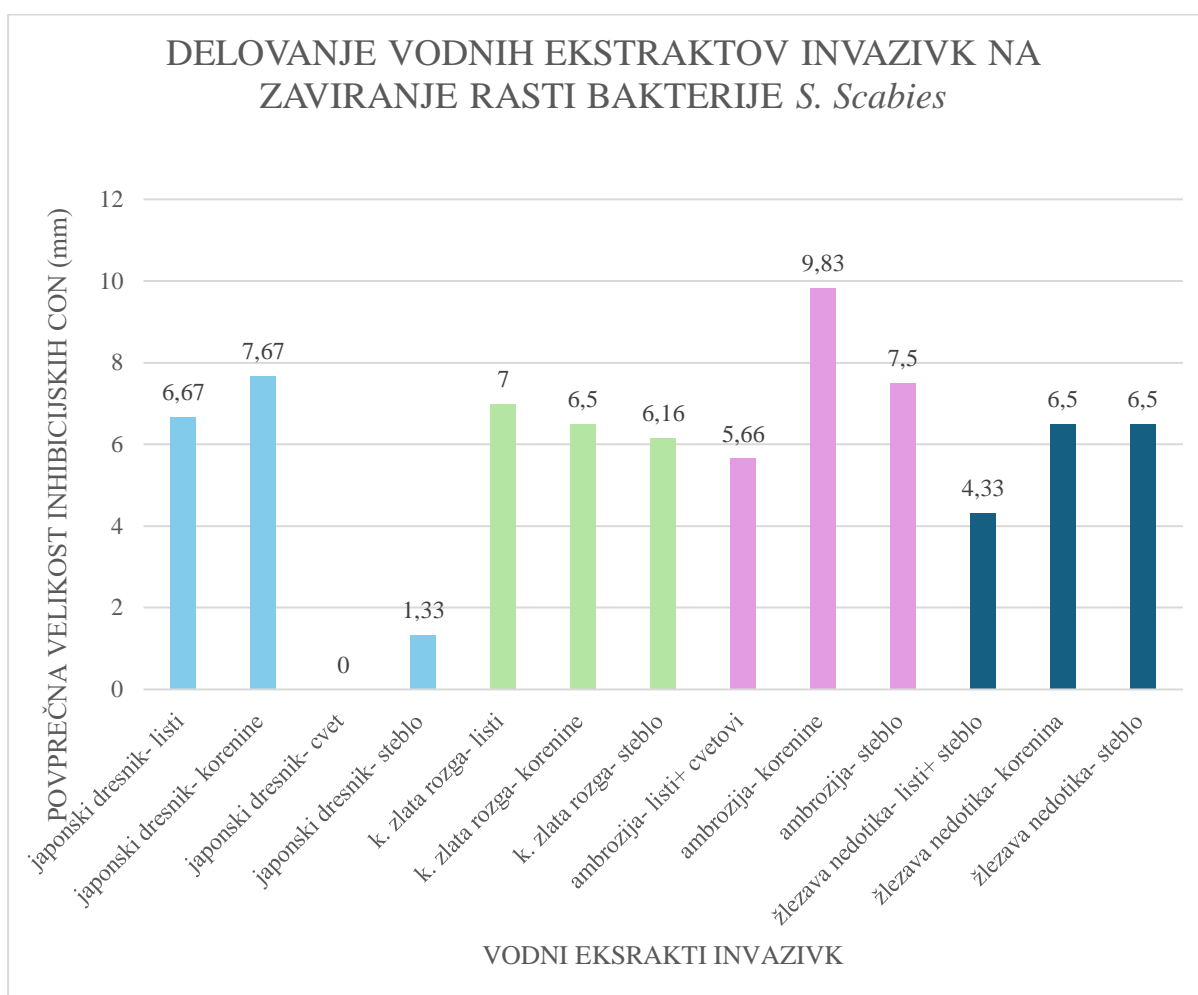
Pri ekstraktih iz žlezave nedotike so se pojavile inhibicijske cone pri ekstraktih iz vseh delov rastline, pri čemer sta bila vzorca iz listov in cvetja združena v enemu ekstraktu. Največja inhibicijska cona se je pojavila pri ekstraktu iz korenine (6, 5 mm) (graf 2).

Iz grafa 2 je lepo razvidno, da večinoma vsi vodni ekstrakti zavirajo rast bakterije *S. scabies* razen ekstrakt iz cvetov japonskega dresnika (0 mm) in stebila japonskega dresnika (1, 33 mm), kjer so bile inhibicijske cone najmanjše.

Tabela 2: Delovanje vodnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti *S. scabies*

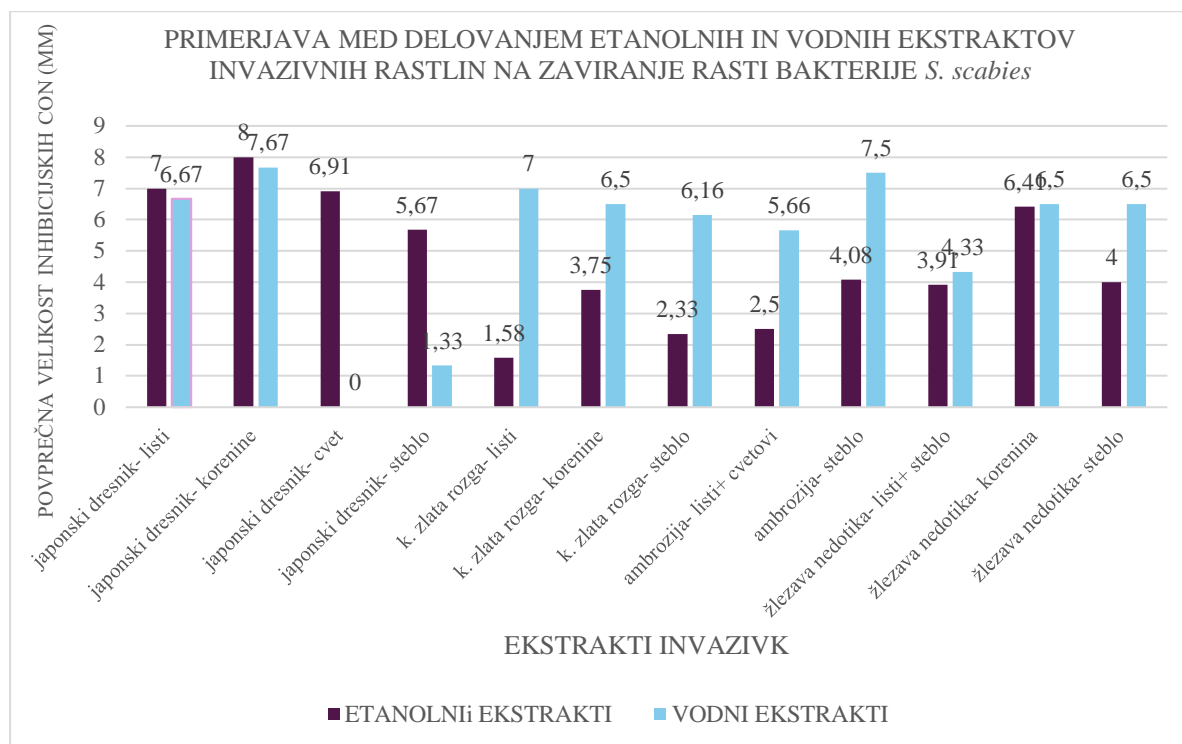
Vodni ekstrakti	1. petrijevka (mm)	2. petrijevka (mm)	3. petrijevka (mm)	Povprečna velikost inhibicijske cone (mm)
japonski dresnik- listi	10	4,5	5,5	<b>6,67</b>
japonski dresnik- korenine	7	9	7	<b>7,67</b>
japonski dresnik- cvet	0	0	0	<b>0</b>
japonski dresnik- steblo	0	4	0	<b>1,33</b>
kanadska zlata rozga- listi	9	4	8	<b>7</b>
kanadska zlata rozga- korenine	6	6,5	7	<b>6,5</b>

kanadska zlata rozga- steblo	5,5	7	6	<b>6,16</b>
ambrozija- listi+ cvetovi	5,5	7,5	4	<b>5,66</b>
ambrozija- korenine	8	11	10,5	<b>9,83</b>
ambrozija- steblo	8	8	6,5	<b>7,5</b>
žlezava nedotika- listi+ cvet	6,5	0	6,5	<b>4,33</b>
žlezava nedotika- korenina	6,5	6	7	<b>6,5</b>
žlezava nedotika- steblo	7	6	6,5	<b>6,5</b>



Graf 2: Delovanje vodnih ekstraktov invazivnih rastlin na zaviranje rasti bakterije *S. scabies*

## 5.5 PRIMERJAVA UČINKOVANJA ETANOLNIH IN VODNIH EKSTRAKTOV INVAZIVNIH RASTLIN NA ZAVIRANJE RASTI BAKTERIJE *S. scabies*



Graf 3: Primerjava med delovanjem etanolnih in vodnih ekstraktov invazivk na zaviranje rasti bakterije *S. scabies*

Graf 3 prikazuje primerjavo med učinkovitostjo delovanja etanolnih in vodnih ekstraktov invazivk. Opazili smo, da so tako etanolni in vodni ekstrakti, pridobljeni iz listov in korenin japonskega dresnika ter korenin žlezave nedotike, dobro zaviralno učinkovali, v večini primerov vodni ekstrakti bolje. Cvetovi japonskega dresnika nimajo antibiotičnih učinkovin, ki bi zavirale rast *S. scabies*. Pri japonskem dresniku so v glavnem bolje učinkovali etanolni ekstrakti medtem, ko so pri kanadski zlati rozgi, ambroziji ter žlezavi nedotiki boljše učinkovali vodni ekstrakti. Največja inhibicijska cona se je pojavila pri etanolnem ekstraktu korenin japonskega dresnika.

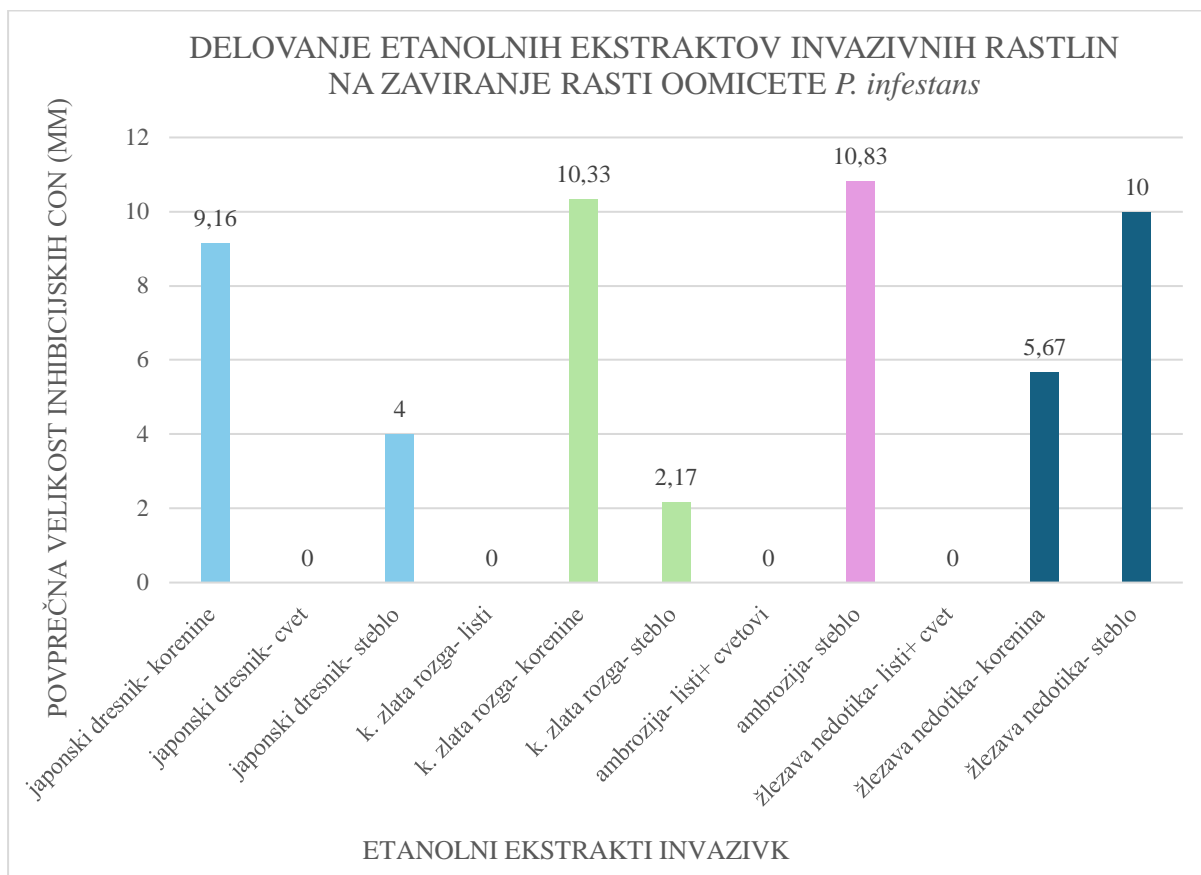
## 5.6 REZULTATI POTEKA DIFUZIJSKEGA ANTIBIOGRAMA Z ETANOLNIMI EKSTRAKTI INVAZIVK NA OOMICETO *P. infestans*

Rezultate izmerjenih premerov inhibicijskih con smo predstavili v tabeli 3. Največje inhibicijske cone smo izmerili pri etanolnih ekstraktih stebela ambrozije (10,83 mm), koreninah kanadske zlate rozge (10,33 mm), stebela žlezave nedotike (10 mm), koreninah japonskega dresnika (9,16 mm) (slika 18), koreninah žlezave nedotike (5,67 mm) in stebela japonskega dresnika (4 mm).

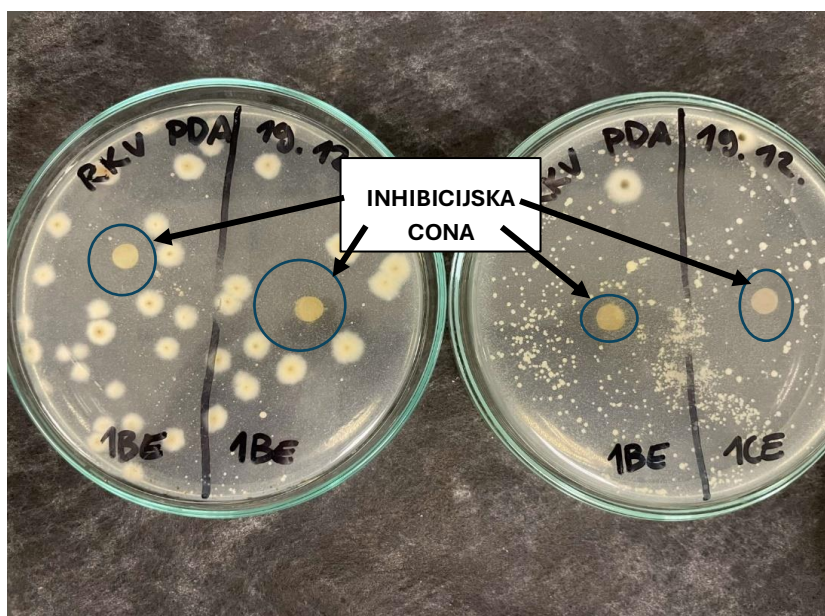
Iz grafa 4 opazimo, da so najboljše učinkovali etanolni izvlečki pripravljene iz korenin kanadske zlate rozge, stebela ambrozije, stebela žlezave nedotike in korenin japonskega dresnika. Opazili smo, da antimikotične učinkovine pri žlezavi nedotiki v največji meri vsebujejo ekstrakti pridobljeni iz korenin in stebela. Cvetovi pri vseh izbranih invazivkah ne vsebujejo snovi, ki bi zavirale rast *P. infestans*.

Tabela 3: Delovanje etanolnih ekstrakti invazivni rastlin na zaviranje rasti oomicete *P. infestans*

Etanolni ekstrakti	1. petrijevka (mm)	2. petrijevka (mm)	3. petrijevka (mm)	Povprečna velikost inhibicijske cone (mm)
japonski dresnik- korenine	7,5	11	9	<b>9,16</b>
japonski dresnik- cvet	/	/	/	<b>0</b>
japonski dresnik- steblo	4	4,5	3,5	<b>4</b>
kanadska zlata rozga- listi	/	/	/	<b>0</b>
kanadska zlata rozga- korenine	8	13	10	<b>10,33</b>
kanadska zlata rozga- steblo	/	/	6,5	<b>2,17</b>
ambrozija- listi+ cvetovi	/	/	/	<b>0</b>
ambrozija- steblo	13	9,5	10	<b>10,83</b>
žlezava nedotika- listi+ cvet	/	/	/	<b>0</b>
žlezava nedotika- korenina	8	5	4	<b>5,67</b>
žlezava nedotika- steblo	7,5	13	9,5	<b>10</b>



Graf 4: Delovanje etanolnih ekstraktov invazivni rastlin na zaviranje rasti oomicete *P. infestans*



Slika 18: Učinek etanolnega ekstrakta korenin japonskega dresnika na rast oomicete *P. infestans*

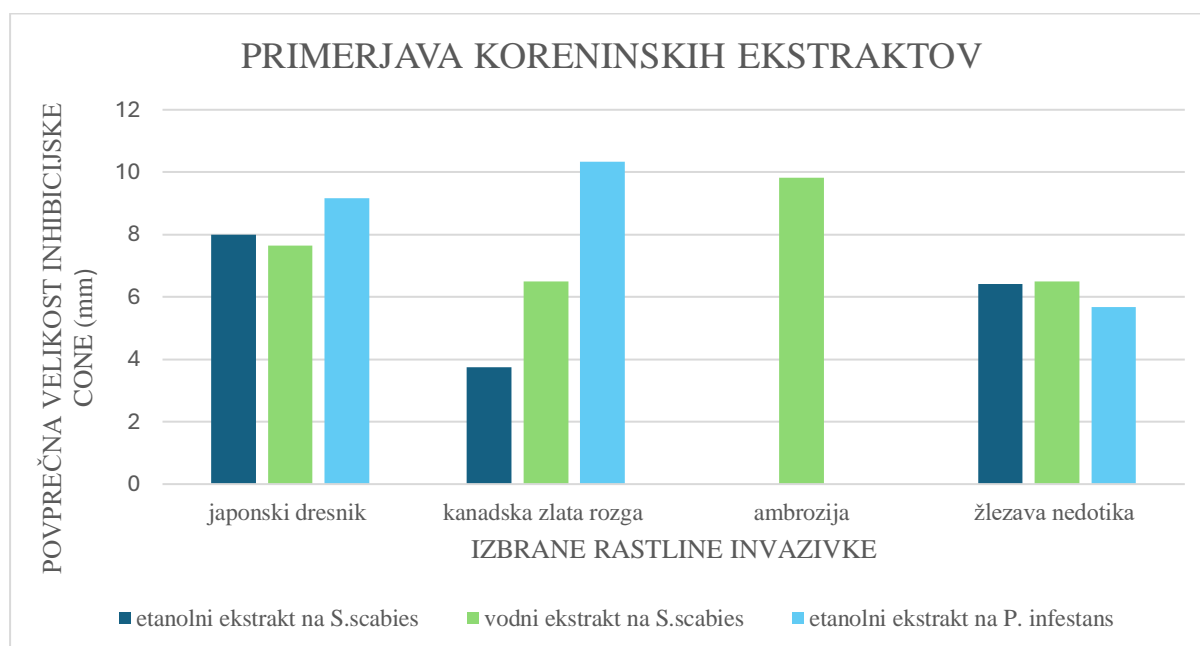
(lasten vir, 7. 1. 2025)

## 5.7 REZULTATI DIFUZIJSKIH ANTIBIOGRAMOV Z VODNIMI EKSTRAKTI NA OOMICETO *P. infestans*

Difuzijski antibiogrami, izvedeni z vsemi vodnimi ekstrakti invazivnih rastlin iz njihovih rastlinskih delov na oomiceto *P. infestans*, so pokazali popolnoma neučinkovito antimikotično delovanje ekstraktov. V nobenem primeru se na gojiščih z biokulturo *P. infestans* niso pojavile inhibicijske cone, kar pomeni, da so antimikotične učinkovine izbranih invazivnih rastlin (ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga in žlezava nedotika) netopne v vodi.

## 5.8 PRIMERJAVA DELOVANJA KORENINSKIH EKSTRAKTOV RASTLIN INVAZIVK

Iz grafa 5 je razvidno, da ima etanolni ekstrakt korenin zlate rozge največji zaviralni učinek pri zaviranju oomicete *P. infestans* (10, 33 mm). Vodni ekstrakt korenin ambrozije pa je najbolj učinkovit pri zatiranju bakterije *S. scabies* (9, 83 mm). Ekstrakt korenine japonskega dresnika ima enako dobro delovanje na bakterijo *S. scabies* (v povprečju 7, 8 mm), ne glede na vrsto ekstrakta medtem, ko etanolni ekstrakt te rastline korenin najboljše zavira *P. infestans* (9, 16 mm). Koreninski ekstrakt žlezave nedotike ima pri vseh ekstraktih podobno zaviralno učinkovitost (približno 6 mm).



Graf 5: Delovanje koreninskih ekstraktov invazivnih rastlin na *S. scabies* in *P. infestans*

## 6 RAZPRAVA

Cilj naše raziskovalne naloge je najti invazivno rastlino, ki bi s svojimi antimikrobnimi učinkovinami najbolj zavirala rast oomicete *P. infestans* in bakterije *S. scabies*, ki povzročata bolezen krompirja med skladiščenjem. Oomiceta *P. infestans* pri krompirju povzroča bolezen krompirjeve plesni, bakterija *S. scabies* pa bolezen imenovana krompirjeva krastavost.

Pri raziskovanju smo uporabili liste, cvetove, stebela in korenine japonskega dresnika, kanadske zlate rozge, ambrozije in žlezave nedotike. Iz rastlinskih drog smo pripravili etanolne in vodne ekstrakte in primerjali njihovo učinkovitost na zgoraj omenjeni kulturi.

Pri izdelovanju etanolnih in vodnih ekstraktov smo v epice z natehtanimi posušenimi rastlinskimi deli dodajali topilo. V 13 epic smo odpipetirali hladno destilirano vodo, v 12 epic pa etanol. Vzrok za manjše število etanolnih vzorcev je posledica premajhne količine nabranega materiala (korenine ambrozije). Zato nimamo rezultatov delovanja z etanolnimi ekstrakti korenine ambrozije. Ko smo v epice z rastlinsko drogo dodali topilo, smo mikrocentrifugirali. Po končanem centrifugiranju se je veliko etanolnih ekstraktov zelo močno obarvalo medtem, ko so vodni ekstrakti bili bolj neintenzivnih barv oz. so ostali brezbarvni, še posebej pri vodnih ekstraktih. Prav tako smo opazili, da smo pri nekaterih vzorcih morali po centrifugiranju ponovno dodati vodo in etanol, saj so rastlinski deli absorbirali vse topilo. Največ vode so absorbirali listi in cvetovi ambrozije, največ etanola pa so absorbirali ekstrakti pripravljene iz zmletih korenin japonskega dresnika.

Bakterijo *S. scabies* smo izolirali s tehnikami izolacije spread plate in prenos z brisom. Pri obeh tehnikah se je *S. scabies* uspešno razrasla na gojišču, da smo jo lahko uspešno identificirali pod mikroskopom in nacepili na sveže gojišče.

Petrijevke s kulturo *S. scabies* in diski smo inkubirali na 37 °C za dva dni. Opazili smo, da so bile inhibicijske cone pri nekaterih vzorcih, po nekaj dneh v hladilniku manjše kot takoj po inkubaciji. Predvidevamo, da so streptomicete že začele razvijati rezistenco na določene antibiotične snovi v ekstraktih.

Pri etanolnih ekstraktih japonskega dresnika so se inhibicijske cone pri bakteriji *S. scabies* pojavile pri vseh delih rastline. Največji učinek so imele korenine, kjer je bila inhibicijska cona velika med 7 in 10 mm. Pri vodnih ekstraktih japonskega dresnika se inhibicijske cone pri bakteriji niso pojavile pri vseh delih rastline, oziroma so bile te manjše. Iz tega lahko sklepamo, da se bioaktivne snovi v japonskem dresniku, ki zavirajo rast bakterij, bolje topijo v etanolu kot v vodi. To potrjuje predhodne raziskave, ki japonskemu dresniku pripisujejo antimikrobne lastnosti zaradi vsebnosti resveratrola in emodina. Slednja sta veliko bolj topna v etanolu (Emodin 2020), (V. Filip, M. Idr. 2003).

Pri ekstraktih iz ambrozije, kanadske zlate rozge in žlezave nedotike so rezultati pri zaviranju rasti bakterije *S. scabies* pokazale, da vodni ekstrakti delujejo bolje, saj se je tam pri vseh delih rastlin izmerila večja inhibicijska cona. Iz tega lahko sklepamo, da so antibakterijske snovi, ki zavirajo rast bakterije *S. scabies*, bolj polarne in se bolje vežejo z vodo.

Kulturo oomicete *P. infestans* smo iz okuženega gomolja krompirja izolirali na dva načina. Prvi način je tehnika spread plate razmaza po gojišču, druga metoda pa je direkten prenos z brisom sterilne vatirane palčke po delih okuženega krompirja na selektivno gojišče. Pri obeh tehnikah se je po inkubaciji uspešno razrasla mešana kultura. Ker je bila razrast mešane kulture pri spread plate bolj enakomerno razporejena po celotni površini, smo v nadaljevanju uporabljali le to tehniko. Kolonijo, ki je bila po morfoloških značilnostih najbolj podobna *P. infestans*, smo preučili še pod mikroskopom. S tem smo se prepričali, da smo uspešno izolirali *P. infestans*. Kulturo smo nato s spread plate tehniko stalno precepljali na sveža gojišča s krompirjevim agarjem.

Med shranjevanjem *P. infestans* smo opazili, da se je barva kolonij spremenila. Iz bele barve se je obarvala rožnato. Predvidevamo, da je to posledica izločanja sekundarnih barvnih metabolitov na račun slabših pogojev rasti pri nižji temperaturi v hladilniku. Ker so se inhibicijske cone pri prvem poskusu pojavile šele, ko je bila kultura že nekaj dni v hladilniku smo se odločili, da bomo vse nadaljnje poskuse prav tako enako časa pustili še v hladilniku preden smo izmerili inhibicijske cone. Inhibicijske cone smo torej merili po petnajstih dneh, in sicer po petih dneh inkubacije na sobni temperaturi in še po dodatnih desetih dneh v laboratorijskem hladilniku.

Pri zatiranju rasti oomicete *P. infestans* so se inhibicijske cone pojavile pri vseh etanolnih koreninskih in stebelnih izvlečkih rastlin. Etanolni ekstrakti iz listov in cvetov niso pokazali antimikotičnega delovanja, saj se je oomiceta razrasla po celem gojišču, tudi okoli diskov.

Ker noben vodni ekstrakt invazivk ni pokazal zaviralnega učinka na rast oomicete *P. infestans*, lahko sklepamo, da se antimikotične snovi, ki zatirajo rast tega mikroorganizma, ne raztapljajo v vodi ampak samo v etanolu. Glede na to, da so se pri etanolnih ekstraktih inhibicijske cone pojavile, je etanol boljše izbira topila pri pripravi ekstraktov za zaviranje krompirjeve plesni.

Ob koncu raziskovanja smo ugotovili, da je oomiceta splošno manj občutljiv patogen krompirja, kajti noben vodni ekstrakt s potencialnimi antimikotičnimi učinkovinami ni deloval zaviralno na njeno rast.

Na podlagi rezultatov smo ugotovili, da na bakterijo *S. scabies*, povzročiteljico krompirjeve krastavosti, najbolj zaviralno delujejo etanolni in vodni ekstrakti iz korenine japonskega dresnika, listov japonskega dresnika in korenine žlezave nedotike. Na povzročitelja krompirjeve plesni *P. infestans*, pa najbolj zaviralno delujejo samo etanolni ekstrakti stebela ambrozije, korenine japonskega dresnika in žlezave nedotike ter stebela žlezave nedotike. Tako ugotavljamo, da bi bila še posebej žlezava nedotika in

Klara Dolar, Rika Dolžan, Vida Žemlja. Antibiotično in antimikotično delovanje rastlinskih ekstraktov invazivk na povzročitelje bolezni krompirja. Biotehniški center Naklo- Strokovna gimnazija, 2025

japonski dresnik invazivni rastlini, ki sta zanimivi za obdelavo in predelavo v različne pripravke škropiv ekstrahirani z etanolom ter ambrozija ekstrahirana z vodo, za zaščito pred boleznijo krompirja med skladiščenjem.

## 7 ZAKLJUČEK

Pred samim začetkom raziskovanja smo postavili nekaj delovnih hipotez. Prvo hipotezo smo postavili glede na številne raziskave, ki so bile do sedaj že opravljene na temo bioaktivnih snovi v invazivnih rastlinah. Našo hipotezo, da bo večina izbranih tujerodnih invazivnih rastlin imela antimikotične ali antibiotične učinke na rast *P. infestans* in *S. scabies*, lahko potrdimo. Nastale inhibicijske cone dokazujejo prisotnost antimikrobnih snovi pri vseh invazivnih rastlinah, ki smo jih uporabili pri našem raziskovanju (ambrozija, japonski dresnik, kanadska zlata rozga in žlezava nedotika).

Naša druga hipoteza je bila, da bodo vodni ekstrakti delovali slabše na zaviranje rasti bakterije *S. scabies* in oomicete *P. infestans* od ekstraktov z etanolom. To hipotezo lahko delno potrdimo. Pri oomiceti *P. infestans* vodni ekstrakti niso zavirali njene rasti. Pri etanolnih ekstraktih pa so nastale inhibicijske cone. V tem primeru hipotezo lahko potrdimo. Na bakterijo *S. scabies* so zaviralno delovali etanolni in vodni ekstrakti. Kljub pričakovanju, da bodo tudi tukaj etanolni ekstrakti delovali bolje se je izkazalo ravno obratno. Pri večini vodnih ekstraktov so nastale večje inhibicijske cone kot pri etanolnih. Zato v tem primeru ta del naše hipoteze lahko ovržemo.

Delno lahko potrdimo hipotezo, da se bodo največje inhibicijske cone, pri bakteriji *S. scabies* in oomiceti *P. infestans*, pojavile pri ekstraktih japonskega dresnika. Na rast kulture *P. infestans* je najbolj zaviralno deloval etanolni ekstrakt stebela ambrozije. Rast kulture *S. scabies* pa je najbolj zaviral etanolni izvleček korenine japonskega dresnika in vodni ekstrakt korenine ambrozije.

Pri zadnji hipotezi smo predvidevali, da bodo koreninski ekstrakti rastlin najbolj učinkovali na zaviranje rasti *P. infestans* in *S. scabies*. Tudi to hipotezo lahko delno potrdimo. Največje inhibicijske cone pri bakteriji *S. scabies* so bile izražene pri koreninskem etanolnem in vodnem ekstraktu japonskega dresnika, pri etanolnem ekstraktu korenin kanadske zlate rozge in pri obeh ekstraktih korenin žlezave nedotike. Pri ambroziji nismo imeli etanolnega koreninskega ekstrakta, ker nam je med raziskovanjem manjkalo sušene rastlinske droge iz korenin. Pri bakteriji lahko to hipotezo ovržemo v primeru vodnih ekstraktov kanadske zlate rozge, kjer se je največja inhibicijska cona pojavila pri ekstraktu iz listov. Glede na zaviranje rasti oomicete *P. infestans*, pa lahko hipotezo delno potrdimo. Največje inhibicijske cone so se pojavile pri etanolnih koreninskih ekstraktih japonskega dresnika in kanadske zlate rozge. Pri žlezavi nedotiki pa je bila inhibicijska cona večja pri stebelnem etanolnem ekstraktu.

Da bi dobili še bolj učinkovite rezultate pri našem raziskovanju, bi morali za vsako vrsto ekstrakta opraviti difuzijske antibiogramе z bolj koncentriranimi diski. Lahko bi kulturi nacepili na bolj optimalna selektivna gojišča, da bi se kultura oomicet še bolj konfluentno razrasla. Morali bi si priskrbeti tudi več nabranih korenin ambrozije, ki pa jih zaradi prihajajoče zime nismo mogli več najti. Tako bi imeli od vseh štirih rastlin vse njihove dele in bi jih lahko med seboj v zaviralnem delovanju še bolje primerjali.

Naša raziskovalna naloga odpira vrata za še nadaljnje raziskave. Glede na to, koliko problemov povzročajo invazivne tujerodne rastline in kako težko jih je odstraniti, bi bilo vsem v interesu, da jih začnemo uporabljati v našo korist. Glede na naše dobljene rezultate, bi lahko antibiotične in antimikotične snovi v rastlinskih delih invazivk uporabljali za škropiva, katera bi zatirala krompirjevo plesen in krastavost med skladiščenjem krompirja.

Lahko bi raziskali tudi sinergistično delovanje več invazivnih rastlin skupaj. Tako bi lahko združili vse rastlinske dele, ki so imeli največje zaviralne učinke in dobili ekstrakt, ki bi deloval še bolje. Če bi škropiva izdelovali iz bioaktivnih snovi invazivnih rastlinah na bazi vode bi bila škropiva pridelku in okolju bolj prijazna. Prav tako bi zaraščena območja z invazivnimi rastlinami dobila svoj pomen. Kmetje, ki jim ta z invazivkami zaraščena zemljišča pripadajo, bi lahko s prodajo invazivnih rastlin še dodatno nekaj zaslužili.

V nadaljnjih raziskavah bi lahko natančneje raziskali, katera topila so najboljša za izdelavo rastlinskih ekstraktov teh rastlin na povzročitelje boleznih pri krompirju.

Nekateri rezultati so nas glede na prebrano literaturo presenetili. Najbolj nas je presenetila učinkovitost vodnih ekstraktov pri zaviranju bakterije *S. scabies*. Pričakovali smo, da bodo etanolni ekstrakti povsod delovali bolje, kar se je izkazalo samo pri japonskem dresniku. Pa tudi tu so imeli vodni ekstrakti precej veliko inhibicijsko delovanje. Presenetil nas je tudi zaviralni učinek stebela ambrozije na oomiceto *P. infestans*. Ker od ambrozijinih bioaktivnih snovi nismo našli skoraj nič literature, nismo pričakovali tako močnega delovanja.

Ugotovili smo torej, da je na rast glivne kulture *P. infestans* najbolj zaviralno deloval etanolni ekstrakt stebela ambrozije. Rast bakterijske kulture *S. scabies* pa je najbolj zaviral etanolni izvleček korenine japonskega dresnika in vodni ekstrakt korenine ambrozije.

Naše raziskovalno delo ne prikazuje le antibiotične in antimikotične učinke invazivnih rastlin, vendar odpira tudi nove možnosti za njihovo uporabo v kmetijstvu na bolj trajnosten način še posebej na reševanje dolgotrajne hrambe pridelkov. Nadaljnje raziskave, bi lahko pomagale bolje izkoristiti potencial teh invazivk. Ne bi jih več dojemali kot škodljivce, temveč kot vir naravnih učinkovin za preprečevanje nastanka rastlinskih boleznih med rastjo in skladiščenjem poljščin.

## VIRI IN LITERATURA

- Bergant K. (2020). Laboratorijsko preučevanje insekticidnega delovanja vodnih izvlečkov izbranih tujerodnih rastlin pri zatiranju koloradskega hrošča (*Leptinotarsa decemlineata* [Say]). <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=135228&lang=slv>
- Blatnik E. (2023). Preučevanje odpornosti krompirja (*Solanum tuberosum*) proti krompirjevi plesni (*phytophthora infestans*), posredovane z genom Rpi-Smira2. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=165961&lang=slv>
- Cucu A., Baci G., Dezsı S., Nap M., Beteg F., Bonta V.... Dezmirean D. (2021). New Approaches on Japanese Knotweed (*Fallopia japonica*) Bioactive Compounds and Their Potential of Pharmacological and Beekeeping Activities: Challenges and Future Directions. <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/12/2621>
- Frajman B., 2008. Japonski dresnik *Fallopia japonica*, Informativni list 1, Spletna stran tujerodne-vrste.info/informativni-listi/INF1-japonski-dresnik.pdf, Projekt Thuja. Datum dostopa: 14.2. 2023
- Gioahin E. (2016). Protimikrobna aktivnost eteričnega olja in izvlečkov japonskega dresnika. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=132602&lang=slv>
- Herženjak Stanko, Timea, 2011, Izolacija in identifikacija bakterij rodu *Alicyclobacillus*. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=1397>
- Hrovat, Alenka, 2023, Vpliv vodnih izvlečkov iz japonskega dresnika (*Fallopia japonica* (Houtt.) Ronse Decraene) na kalitev semen izbranih rastlinskih vrst v laboratorijskih razmerah. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=151934>
- Ismail S., Jiang B., Nasimi Z., Inam-Ul-Haq M., Yamamoto N., Danso Ofori A., Khan N., Arshad M., Abbas K., Zheng A., 2020. Investigation of *Streptomyces scabies* Causing Potato Scab by Various Detection Techniques, Its Pathogenicity and Determination of Host-Disease Resistance in Potato Germplasm. Pridobljeno 26. 2. 2025 s <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32957549/>
- Jenko K. (2022). Pridelava krompirja (*Solanum tuberosum* L.) s sortami prilagojenimi danim rastnim razmeram. <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=160983&lang=slv>
- Jereb T. (2015) Opredelitev občutljivosti enterobakterij, ki izločajo betalaktamaze razširjenega spektra delovanja, na piperacilin s tazobaktamom. [https://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/diplome/2015/Jereb\\_Tina\\_dipl\\_nal\\_2015.pdf](https://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/diplome/2015/Jereb_Tina_dipl_nal_2015.pdf)
- Kreft S. in Kočevar Glavač N.: Sodobna fitoterapija. Z dokazi podprta uporaba zdravnih rastlin. Ljubljana, Slovensko farmacevtsko društvo, 2013, str. 401-402.

- Maček, J.: Knjižica za pospeševanje kmetijstva. Bolezni poljščin. Ljubljana, Narodna in univerzitetna knjižica, 1991, str. 73-79
- Mišič, Eva, 2022, Testiranje inhibitornega delovanja ekstraktov invazivnih tujerodnih rastlin. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=140036>
- Oržen Adamič A. in Sernec K. (Kožuh). Mikrobiologija. Učbenik za farmacevtske in kozmetične tehnike, 1. izd. Ljubljana: DZS, 2015, str. 38-46 in 58-60
- Osolnik, Teja, 2017, Vpliv izvlečka iz listov in korenin japonskega dresnika na celično delitev pri čebuli. <http://pefprints.pef.uni-lj.si/4641/>
- Paulus A. (2012). Invazivne tujerodne rastline. [https://www.pzs.si/javno/kvgn\\_dokumenti/Seminarske%20naloge%20VGN/Invazivne%20tujerodne%20vrste,%20VGN%20Alojzija%20Paulus,%202012.pdf](https://www.pzs.si/javno/kvgn_dokumenti/Seminarske%20naloge%20VGN/Invazivne%20tujerodne%20vrste,%20VGN%20Alojzija%20Paulus,%202012.pdf)
- Perlovšek J. (2012) Širjenje invazivne vrste - Japonski dresnik. [https://www.pzs.si/javno/kvgn\\_dokumenti/Seminarske%20naloge%20VGN/%C5%A0irjenje%20invazivne%20vrste-japonski%20dresnik,%20VGN%20Janja%20Prelov%C5%A1ek,%202012.pdf](https://www.pzs.si/javno/kvgn_dokumenti/Seminarske%20naloge%20VGN/%C5%A0irjenje%20invazivne%20vrste-japonski%20dresnik,%20VGN%20Janja%20Prelov%C5%A1ek,%202012.pdf)
- Rozman S. (2016). Invazivne rastline v kmetijski krajini. Ljubljana: Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano.
- Travica M. (2020). Superkritična ekstrakcija. Pridobljeno s <https://repozitorij.uni-lj.si/Dokument.php?id=132515&lang=slv>

## SPLETNI VIRI

- Ambrozija (b. d.). Na <https://www.nlzoh.si/>. Pridobljeno 15. 2. 2025 s <https://www.nlzoh.si/ambrozija/>
- Emodin (2020). Na <https://www.fermentek.com/>. Pridobljeno 25. 2. 2025 s <https://www.fermentek.com/product/emodin>
- Invazivne tujerodne vrste rastlin in živali (2023). Na <https://www.gov.si/>. Pridobljeno 1. 2. 2025 s <https://www.gov.si teme/invazivne-tujerodne-vrste-rastlin-in-zivali/>
- Introduction to the Oomycota (b. d.). Na <https://ucmp.berkeley.edu/>. Pridobljeno 30. 1. 2025 s <https://ucmp.berkeley.edu/chromista/oomycota.html>
- Japonski dresnik (2018). Na <https://www.tujerodne-vrste.info/>. Pridobljeno 14. 1. 2025 s <https://www.tujerodne-vrste.info/vrste/japonski-dresnik/>
- Krajnik V. (2021) Žlezava nedotika – neuporaben plevel ali zeleno zlato? Pridobljeno 26. 2. 2025 s [https://zbirke.zotks.si/2021/resources/SS\\_Ekologija\\_z\\_varstvom\\_okolja\\_638900.pdf](https://zbirke.zotks.si/2021/resources/SS_Ekologija_z_varstvom_okolja_638900.pdf)
- Mlinarič A. (2007) Zdravilna moč zlate rozge. Na <https://www.nasa-lekarna.si/>. Pridobljeno 15. 2. 2025 s <https://www.nasa-lekarna.si/clanki/clanek/zdravilna-moc-zlate-rozge/>

- Pelinolistna žvrklja ali ambrozija (b. d.) Na <https://www.tujerodne-vrste.info/>. Pridobljeno 15. 2. 2025 s <https://www.tujerodne-vrste.info/vrste/pelinolistna-zvrklja-ali-ambrozija/>
- Škodljive rastline iz rodu AMBROSIA (b. d.). Na <https://www.gov.si/>. Pridobljeno 14. 2. 2025 s [https://www.gov.si/assets/organi-v-sestavu/UVHVVR/Zdravje-rastlin/Skodljivi-organizmi-rastlin/Ambrozija/Ambrozija\\_zlozenka\\_2013.pdf](https://www.gov.si/assets/organi-v-sestavu/UVHVVR/Zdravje-rastlin/Skodljivi-organizmi-rastlin/Ambrozija/Ambrozija_zlozenka_2013.pdf)
- Zlata rozga (2016). Na <https://www.gorenjske-lekarne.si/>. Pridobljeno 15. 2. 2025 s <https://www.gorenjske-lekarne.si/svetovanje-clanek/zlata-rozga>
- Leandro Alegsa. (2022). Oomycota. Pridobljeno 30. 1. 2025 s <https://sl.alegsaonline.com/art/72714>
- V. Filip, M. Plocková, J. Šmidrkal, Z. Špičková, K. Melzoch, Š. Schmidt (2003) Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. Na <https://www.sciencedirect.com/>. Pridobljeno 25. 2. 2005 s <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814603001572#preview-section-abstract>
- Zajc J. (2022) Krompirjeva plesen. Pridobljeno s <https://www.ivr.si/skodljivec/krompirjeva-plesen/>