



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie



Wydział
Kształtowania
Środowiska i Rolnictwa

Mgr inż. Paweł Michał Kiedos

Ocena możliwości wykorzystania przeciwdrobnoustrojowych
właściwości lebiodki pospolitej (*Origanum vulgare* L.) w pozbiorczym
traktowaniu produktów ogrodniczych

Assessment of the possibility of using the antimicrobial properties of
oregano (*Origanum vulgare* L.) in post-harvest treatment of horticultural
products

Rozprawa doktorska napisana pod kierunkiem:

dr hab. inż. Barbary Wójcik-Stopczyńskiej

Katedra Ogrodnictwa

Szczecin, 2020

*Pragnę bardzo gorąco podziękować
mojemu promotorowi Pani dr hab. inż. Barbarze Wójcik-Stopczyńskiej
za pełną zaangażowania i troski opiekę merytoryczną nad moją pracą doktorską
jak również za cenne rady, dzięki którym powstała niniejsza praca.*

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	7
2. PRZEGLĄD LITERATURY	9
3. CEL PRACY	28
4. MATERIAŁ I METODY BADAŃ	29
4.1. Materiał badawczy	29
4.2. Zakres i metody badań	31
4.2.1. Badania <i>in vitro</i>	31
4.2.2. Badania <i>in vivo</i>	33
4.2.3. Metody badań chemicznych	35
4.2.4. Opracowanie statystyczne wyników badań.....	37
4.3. Warunki meteorologiczne i glebowe w trakcie uprawy.....	37
4.3.1. Warunki meteorologiczne	37
4.3.2. Warunki glebowe w czasie uprawy	39
5. WYNIKI	41
5.1. Plon, skład chemiczny i aktywność przeciwutleniająca ziela lebiodki	41
5.2. Skład chemiczny olejków	46
5.3. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa lebiodki pospolitej <i>in vitro</i>	49
5.3.1. Aktywność przeciwgrzybowa olejków, sproszkowanego suszu i wywarów otrzymanych z ziela ssp. <i>hirtum</i>	49
5.3.2. Aktywność przeciwgrzybowa olejków, sproszkowanego suszu i wywarów otrzymanych z ziela ssp. <i>vulgare</i>	62
5.3.3. Porównanie aktywności przeciwbakteryjnej olejków ssp. <i>hirtum</i> i ssp. <i>vulgare</i> ...	66
5.4. Wyniki doświadczeń „ <i>in vivo</i> ”	67
5.4.1. Doświadczenia z owocami truskawek	67
5.4.2. Doświadczenia z owocami śliwek.....	71
5.4.3. Doświadczenie z korzeniami marchwi 'Perfekcja'	74
5.4.4. Doświadczenie z pomidorami <i>cherry</i>	76
5.4.5. Wpływ olejku i wywaru ssp. <i>hirtum</i> na stan mikrobiologiczny i skład chemiczny przechowywanych korzeni marchwi i pietruszki.....	77
5.4.5.1. Wyniki doświadczeń z korzeniami marchwi 'Major F ₁ ' i 'Romance F ₁ '	77
5.4.5.2. Wyniki doświadczeń z korzeniami pietruszki 'Hanacka' i 'Berlińska'	81
5.4.6. Trwałość ciętych kwiatostanów wyżlinu większego w roztworach olejku i wywaru z ssp. <i>hirtum</i>	85
6. DYSKUSJA	89
7. WNIOSKI	106
8. PIŚMIENNICTWO	109

9. SPIS TABEL, RYSUNKÓW I FOTOGRAFII.....119

Streszczenie

Przedmiotem badań było ziele dwóch podgatunków lebidki pospolitej *Origanum vulgare* L., ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*. Przeprowadzono dwa cykle uprawy (w latach 2015-17 i 2016-18) i porównano plon, skład chemiczny i aktywność przeciwutleniającą ziela roślin jednorocznych dwu- i trzyletnich, skład chemiczny olejków oraz aktywność przeciwdrobnoustrojową (*in vitro* i *in vivo*) olejków, sproszkowanego suszu i wywarów. Na tej podstawie określono potencjalną przydatność podgatunku, w celu wykorzystania aktywności ziela i pozyskanych z niego pochodnych, do pozbiorczego traktowania niektórych produktów ogrodniczych.

Stwierdzono, że plon świeżego ziela ssp. *vulgare* w okresie wielolecia (2015-2018) oraz w każdym roku wegetacji roślin dwu- i trzyletnich był większy niż ssp. *hirtum*. Powietrznie suche ziele obu podgatunków odznaczało się zbliżoną zawartością cukrów ogółem, polifenoli ogółem oraz zdolnością neutralizacji rodników DPPH, natomiast ziele ssp. *hirtum* istotnie większą zawartością suchej masy, a zwłaszcza olejku. Olejek ssp. *hirtum* reprezentował chemotyp fenolowy (karwakrolowy), a olejek ssp. *vulgare* chemotyp germakren D/kariofilen E. W odróżnieniu od podobnego poziomu aktywności przeciwutleniającej ziela obu podgatunków, w badaniach *in vitro* wykazywały one w odmienną aktywność przeciwdrobnoustrojową – wysoką susz, wywar i olejek ssp. *hirtum*, a niską – ssp. *vulgare*. Aktywność przeciwgrzybowa zależała od dawki i szczepu grzyba, była też zmienna w zależności od roku uprawy, ale średnie strefy hamowania wzrostu grzybów przez olejki roślin ssp. *hirtum* jednorocznych, dwu- i trzyletnich nie różniły się istotnie (przy dawce 10 i 5 μl /krążek), natomiast sproszkowany susz i wywar z roślin dwu- i trzyletnich miały większą aktywność niż z jednorocznych. Badania *in vivo* wykazały wysoką skuteczność olejku ssp. *hirtum* w hamowaniu rozwoju szarej pleśni (*Botrytis cinerea*) na owocach truskawek ('Senga-Sengana', 'Roxana') i śliwek ('Węgierka Zwykła'), *Alternaria* sp. na owocach pomidora *cherry* oraz *Sclerotinia sclerotiorum* na korzeniach marchwi ('Perfekcja'). Wpływ olejku i wywaru ssp. *hirtum*, użytych do traktowania przechowywanych 2 miesiące korzeni marchwi ('Major F₁' i 'Romance F₁') i pietruszki ('Hanacka' i 'Berlińska'), na liczbę bakterii i grzybów, był mniejszy od oczekiwanego oraz zależny od odmiany marchwi i pietruszki. Wywar wpływał też niekorzystnie na skład chemiczny korzeni, natomiast traktowanie owoców i warzyw olejkiem nie powodowało negatywnych zmian w ich wyglądzie i składzie chemicznym. W odróżnieniu od wywaru, olejek ssp. *hirtum* (w dawce 100 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$) okazał się skutecznym środkiem przedłużającym trwałość ciętych kwiatostanów wyżlinu większego.

Słowa kluczowe: *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*, skład chemiczny, aktywność przeciwgrzybowa, olejek, wywar, susz, przechowywanie

Summary

The subject of this study was the herb of two subspecies of marjoram *Origanum vulgare* L., i.e. ssp. *hirtum* and ssp. *vulgare*. Two cultivation cycles were carried out (in 2015-17 and 2016-18) and the yield, chemical composition and antioxidant activity of the herb of two- and three-year-old plants were compared, as well as the chemical composition of oils, antimicrobial activity (*in vitro* and *in vivo*) of oils, powdered dried herb and decoctions. On this basis, the potential usefulness of a subspecies was determined with a view to using the activity of the herb and its derivatives for post-harvest treatment of some horticultural products.

It was found that the yield of fresh herb of spp. *vulgare* in the multi-annual period (2015-2018) and in each year of vegetation of two- and three-year-old plants was higher than that of sp. *hirtum*. The air-dried herb of both subspecies was characterised by a similar content of total sugars, total polyphenols and the ability to neutralise DPPH radicals, while the herb of ssp. *hirtum* by significantly higher content of dry matter and especially of oil. The oil from ssp. *hirtum* represented the phenolic (carvacrol) chemotype, while that of ssp. *vulgare* the germacrene D/caryophyllene E chemotype. Unlike the similar level of antioxidant activity of the herb of both subspecies, *in vitro* they showed different antimicrobial activity – it was high in powdered dried herb, decoction and oil from ssp. *hirtum*, and low in ssp. *vulgare*. Anti-fungal activity depended on the dose and the fungus strain; it also varied depending on the year of cultivation, but the average inhibition zones of fungi growth caused by oils (dose 10; 5 $\mu\text{l}/\text{disc}$) from the herb of one-, two- and three-year-old plants of ssp. *hirtum* not being significantly different, whereas powdered dried herb and decoction from two- and three-year-old plants were more active than from one-year-old ones. *In vivo* tests showed the high effectiveness of the oil from ssp. *hirtum* in inhibiting the development of grey mould (*Botrytis cinerea*) on strawberries (cultivars 'Senga-Sengana' and 'Roxana') and plums (cultivar 'Węgierka Zwykła'), *Alternaria* sp. on cherry tomato fruits, and *Sclerotinia sclerotiorum* on carrot roots (cultivar 'Perfekcja'). The effect of the oil and decoction from spp. *hirtum*, used to treat carrot roots (cultivars 'Major F₁' and 'Romance F₁') and parsley (cultivars 'Hanacka' and 'Berlińska') stored for 2 months, on the number of bacteria and fungi was smaller than expected and dependent on carrot and parsley cultivar. Decoction also adversely affected the chemical composition of the roots, while treatment of fruits and vegetables with oil did not cause any negative changes in their appearance and chemical composition. In contrast to the decoction, the oil from ssp. *hirtum* (at a dose of 100 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$) proved to be an effective preservative extending the life of cut flowers of the common snapdragon.

Key words: *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* and ssp. *vulgare*, chemical composition, anti-fungal activity, oil, decoction, powdered dried herb, storage

1. Wstęp

Zioła towarzyszą człowiekowi od czasów starożytnych. Już wtedy wykorzystywano ich właściwości przyprawowe i lecznicze. Współcześnie, biologicznie czynne substancje wytwarzane przez rośliny zielarskie, są przedmiotem nieustającego zainteresowania nauki, m.in. ze względu na ich niską toksyczność i zdolność do biodegradacji. Dzięki tym właściwościom, możliwe jest wykorzystanie naturalnych preparatów roślinnych w celu chociaż częściowego zastąpienia chemicznych konserwantów i pestycydów – efektywnych, lecz niekorzystnie wpływających na ekosystem, zdrowie ludzi i zwierząt.

Przedmiotem licznych badań poziomu aktywności biologicznej są rośliny z rodziny *Lamiaceae*, do której należy rodzaj *Origanum* i gatunek *Origanum vulgare* L., czyli lebiodka pospolita – wieloletnia roślina olejkodajna. Zainteresowanie wzbudzają jej właściwości antyoksydacyjne, antymutagenne, antywirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybowe, owadobójcze i przeciw pasożytnicze. Opinia o zazwyczaj wysokim poziomie aktywności biologicznej odnosząca się do gatunku *O. vulgare* L., wydaje się zbyt uogólniona. Gatunek ten jest bowiem bardzo zróżnicowany, obejmuje sześć podgatunków, spośród których największe znaczenie użytkowe mają *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* – charakterystyczny dla terenów centralnej Europy (i Polski) oraz *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* – typowy dla regionu śródziemnomorskiego (Lukas i in. 2015, Kossakowska, Czupa 2018). Rośliny tych podgatunków różnią się nie tylko cechami morfologicznymi, ale także składem chemicznym ziela i olejku (Baranauskienė i in. 2013, Goncariuc i in. 2015), co z kolei ma wpływ na zróżnicowanie ich aktywności biologicznej. Skład chemiczny ziela i olejku zależy jednak nie tylko od cech genetycznych, lecz również szeregu czynników środowiskowych i agrotechnicznych. Dlatego podejmowane są badania mające na celu optymalizację warunków uprawy lebiodki (Karagiannidis i in. 2011, De Falco i in. 2013, Karamanos, Sotiropoulou 2013) oraz ocenę zmian zawartości w niej substancji biologicznie czynnych (m.in. olejków i związków fenolowych) w zależności od fazy rozwoju wegetacyjnego i organu roślin (Grevsen i in. 2009, Nurzyńska-Wierdak 2009, Król i in. 2019). Rezultaty tych badań prowadzą do określenia m. in. optymalnego terminu zbioru ziela, aby uzyskać surowiec o wysokiej koncentracji związków kształtujących określoną aktywność biologiczną.

W wielu dotychczasowych badaniach aktywność przeciwdrobnoustrojowa, a zwłaszcza przeciwgrzybowa ziół jest przedmiotem zainteresowania w związku z możliwością jej wykorzystania do pozbiorczej ochrony produktów ogrodniczych (Solgi,

Ghorbanpour 2014). Rozwój porażenia przez grzyby pleśniowe (m.in. z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*) stanowi podstawową przyczynę strat podczas przechowywania i transportu świeżych owoców i warzyw. Głównym sposobem kontroli rozwoju chorób grzybowych jest stosowanie chemicznych fungicydów – są skuteczne, ale stwarzają zagrożenia zdrowotne dla konsumentów ze względu na możliwe zanieczyszczenie owoców i warzyw pozostałościami środków roślin, obserwuje się też wzrost odporności patogenów na stosowane substancje chemiczne. Wyniki prowadzonych badań wskazują, że roślinne ekstrakty działają selektywnie, ale są bezpieczne i mogą stanowić użyteczną alternatywę dla syntetycznych fungicydów (Vitoratos i in. 2013).

Analiza źródeł literaturowych wykazała, że w prowadzonych *in vitro* badaniach przeciwdrobnoustrojowej aktywności *O. vulgare* L. wykorzystuje się najczęściej olejki oraz ekstrakty alkoholowe i wodne. Niekiedy nie określa się jednak jakiego podgatunku dotyczą badania i nie podaje się składu chemicznego olejków lub ekstraktów. Nieliczne są prace porównujące aktywność przeciwdrobnoustrojową *O. vulgare* L., ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*, przy czym dotyczą one głównie aktywności przeciwbakteryjnej olejków (Sarikurcu i in. 2015). Mniej jest badań określających i porównujących aktywność przeciwgrzybową sproszkowanego suszu i wywarów wymienionych podgatunków lebidki. Aktywność hamująca wzrost grzybów pleśniowych może też podlegać zmianom, ponieważ skład chemiczny ziela, w tym ilościowy i jakościowy skład olejków, może zmieniać się w zależności od roku uprawy, a w przypadku roślin wieloletnich, także sezonu uprawy. Brak jest jednak danych, czy i jak zmienia się aktywność przeciwgrzybowa lebidki w kolejnych sezonach wegetacji. Stosunkowo nieliczne są badania *in vivo* aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejku oreganowego z użyciem owoców i warzyw. W ostatnich latach podejmowane są też prace nad możliwością stosowania olejków dla przedłużania trwałości kwiatów ciętych, ale w dostępnych źródłach nie ma doniesień na temat wykorzystania w tym celu olejku oreganowego. W badaniach *in vivo* nie stosowano też wywaru z lebidki. Wyniki niektórych prac wskazują, że w doświadczeniach *in vivo* konieczna jest również ocena wpływu olejku, lub innych pochodnych, na cechy jakościowe traktowanych nimi produktów ogrodniczych. Badania przeprowadzone w niniejszej pracy wpisują się w obszar wymienionych zagadnień, prowadząc do określenia potencjalnej przydatności podgatunku *O. vulgare* L. ssp. *vulgare* lub *O. vulgare* L. ssp. *hirtum*, do pozbiornego traktowania niektórych produktów ogrodniczych.

2. Przegląd literatury

Opis botaniczny i systematyka lebiodki

Lebiodka zwyczajna (*Origanum vulgare* L.) znana jest pod nazwą oregano, a w Polsce także jako dziki majeranek, macierzanka wysoka, macierduszka i duszka. Pod potoczną nazwą „oregano” występują na świecie różne gatunki roślin, powszechnie stosowane dla swoich właściwości przyprawowych. Są to np. oregano hiszpańskie (*Coridothymus capitatus* L.), oregano tureckie (*Origanum onites* L.), czy oregano meksykańskie (*Lippia graveolens*) (Russo i in. 1998). Jednak w większości krajów europejskich jedynym i powszechnie znanym jako „oregano” jest gatunek *Origanum vulgare* L. należący do rodzaju *Origanum* z rodziny jasnotowatych – *Lamiaceae* (D’Antuono i in. 2000). Rodzaj *Origanum* obejmuje rośliny zielne roczne, wieloletnie oraz krzaczaste (Sahin i in. 2004) i jest szeroko rozpowszechniony w obszarze śródziemnomorskim, eurosyberyjskim i południowo-azjatyckim (Kokkini 1997).

Klasyfikację rodzaju *Origanum* zaproponował w 1980 roku Ietswaart (1980), który w jego obrębie na podstawie cech morfologicznych wyróżnił: 3 grupy, 10 sekcji, 38 gatunków, sześć podgatunków i 17 hybryd (De Martino i in. 2009). Klasyfikacja *Origanum* sp. opracowana przez Ietswaart została powszechnie zaakceptowana, ale rozwija się nadal, gdyż rodzaj ten jest bardzo zróżnicowany morfologicznie i chemicznie, tworząc na świecie wiele form przejściowych (Veres i in. 2003). Obecnie podaje się, że *Origanum* sp. obejmuje ok. 50-60 gatunków i 18 hybryd (Abd El-Wahab i in. 2016, Chishti i in. 2016, Elezi i in. 2013, Karan i in. 2018).

Za najbardziej zróżnicowany gatunek rodzaju *Origanum* uważany jest *Origanum vulgare* L. Obejmuje on 6 podgatunków wieloletnich, olejkodajnych roślin: *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desfontaines) Ietswaart, *Origanum vulgare* L. ssp. *gracile* (Koch) Ietsw., *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietsw., *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (Hoffmanns & Link) Ietsw., *Origanum vulgare* L. ssp. *viridulum* (Martrin-Donos) Nyman oraz *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* (De Martino i in. 2009, Gonceariuc i in. 2015, Kosakowska i Czupa 2018, Viturro i in. 2010). Wśród podgatunków *O. vulgare* L. największą wartość użytkową mają ssp. *vulgare* oraz ssp. *hirtum*.

Lebiodka jest typową rośliną strefy umiarkowanej, występuje w Europie, Azji Mniejszej, Północnej Afryce oraz w Ameryce Północnej i Południowej (Said-Al Ahl i in. 2009, Kosakowska i in. 2013, Kołodziej 2018, Kosakowska i Czupa 2018). Podgatunek *O. vulgare* ssp. *hirtum* jest charakterystyczny dla Grecji (nazywany jest często greckim oregano), Albanii i Turcji (Viturro i in. 2010). *O. vulgare* ssp. *vulgare* rozprzestrzeniony

jest w Europie (głównie w jej północnej i centralnej części), Iranie, Indiach i Chinach (Kosakowska i Czupa 2018). W Polsce lebiodka na stanowiskach naturalnych występuje od obszarów nizinnych po tereny podgórskie, w takich miejscach jak: brzegi lasów, zarośla, widne lasy, miedze, suche pagórki (Nurzyńska-Wierdak 2012, Kosakowska i in. 2013, Kołodziej 2018). Oba podgatunki podlegają też uprawie, przy czym ssp. *hirtum* na szeroką skalę uprawiany jest głównie w krajach śródziemnomorskich, a ssp. *vulgare* – w środkowych i północnych rejonach Europy (Kosakowska i in. 2013).

Lebiodka pospolita jest byliną dorastającą do 80-100 cm wysokości (Nurzyńska-Wierdak 2012, Kołodziej 2018, Kosakowska i Czupa 2018, Martyniak-Przybyszewska i Majkowska-Gadomska 2006). Pędy są czterokanciaste, o pokroju wzniesionym, z licznymi rozgałęzieniami, ulistnione naprzeciwległe. Liście są ogonkowate, małe, pełne, o kształcie szeroko jajowatym, owłosione. Według De Mastro i in. (2009) 1 cm² blaszki liściowej oregano może zawierać od 207 do 734 włosków olejkowych. Włoski pokrywają też pozostałe części rośliny, która posiada intensywny zapach, przypominający macierzankę. W Polsce okres kwitnienia lebiodki może trwać od maja do października, ale zwykle kwitnienie obejmuje okres od czerwca do września. Kwiatostany w formie podbaldachów tworzą się na wierzchołkach pędów. Kwiaty są koloru różowego, blad różowego i białego. Owocem lebiodki jest rozłupnia o czterech kulistych nasionach. Masa 1000 nasion wynosi 0,6-1,2 g. Część podziemną lebiodki stanowią korzenie oraz zdrewniałe rozłogi (Kołodziej 2018, Kosakowska i Czupa 2018, Nurzyńska-Wierdak 2012).

Rośliny ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare* różnią się od siebie owłosieniem liści i łodyg, liczbą gruczołków, umiejscowionych na liściach, przylistkach i kielichach oraz wielkością i kolorem przylistków i kwiatów (Viturro i in. 2010). Według De Martino i in. (2009) rośliny ssp. *hirtum* charakteryzują się owłosionymi łodygami, zwartym kwiatostanem, obecnością licznych gruczołków na liściach i kielichach kwiatowych oraz zielonymi przylistkami, których długość odpowiada zwykle długości kielicha. Podgatunek *hirtum* odznacza się ogólnie większą liczbą pędów na roślinie – zwłaszcza rośliny dwuletnie i starsze są bardziej zagęszczone w porównaniu do ssp. *vulgare*. Rośliny ssp. *hirtum* dorastają do 50 cm wysokości, mają białe kwiaty, a liście są koloru jasnozielonego (Baranauskiene i in. 2013). Rośliny ssp. *vulgare* mają liście ciemnozielone, mniej liczne gruczołki niż ssp. *hirtum*, w pełni kwitnienia posiadają średnio 71,3 pędów i osiągają średnio 60 cm wysokości. Kwiaty mają najczęściej kolor jasnoróżowy do różowo-fioletowego (Nurzyńska-Wierdak 2009), chociaż Kosakowska i

Czupa (2018) stwierdziły też w obrębie tego podgatunku występowanie form o kwiatach białych. Różnice w natężeniu zielonego zabarwienia liści obu podgatunków wynikają z różnej zawartości chlorofilu, która w zależności od fazy rozwoju wynosi 0,64-1,31 mg·g⁻¹ w ziele ssp. *hirtum*, a 0,92-1,68 mg·g⁻¹ w ziele ssp. *vulgare* (Baranauskienė i in. 2013).

Na ogół nie jest łatwo odróżnić podgatunki *O. vulgare* L. tylko na podstawie cech morfologicznych. Użytecznymi wskaźnikami pomocnymi w odróżnieniu podgatunków są wydajność i kompozycja olejku (Baranauskienė i in. 2013, Russo i in. 1998, De Martino i in. 2009). Badania przeprowadzone we Francji (Chalchat, Pasquier 1998) wykazały brak korelacji między strukturą morfologiczną i chemiczną roślin tego gatunku.

Uprawa lebiodki

Pod uprawę lebiodki zaleca się stanowiska ciepłe, słoneczne i osłonięte od wiatrów, o glebie przepuszczalnej, lekko zwięzłej, żyznej, zasobnej w materię organiczną i dostatecznie wilgotnej ze względu na duży udział części nadziemnej i płytki system korzeniowy. Lebiodka preferuje gleby zasobne w wapń, o pH ok. 6,8 (Kołodziej 2018, Veres i in. 2003, Viturro i in. 2010, Vivas Vivas i in. 2017).

Zalecane jest zakładanie plantacji wiosną, ale jesienią, przygotowując pole, należy wykonać szereg prac agrotechnicznych – bronowanie, orkę średnią, wałowanie (Kołodziej 2018). Uprawę oregano można założyć z bezpośredniego siewu nasion, z rozsady oraz sadzonek pozyskanych z upraw matecznych. Nasiona wysiewa się w pierwszej połowie kwietnia na głębokość 0,5 cm stosując rozstaw 30-40 cm. Do założenia plantacji powinno się przeznaczyć około 4 kg nasion na hektar (Kołodziej 2018). Skoufogianni i in. (2019) nie zalecają siewu oregano wprost do gruntu ze względu na zróżnicowanie genetyczne siewek, niską zdolność kiełkowania w glebie i opóźniony zbiór oregano w porównaniu do roślin wyprodukowanych z rozsady. Rozsadę lebiodki produkuje się w szklarni i w maju sadi się ją wprost do gruntu. Martyniak-Przybyszewska i Majkowska-Gadomska (2006) wykazały, że plon lebiodki uprawianej z rozsady wysadzonej na początku maja (2.05.) był większy niż lebiodki pozyskanej z rozsady wysadzonej w połowie maja (15.05.). Rozsadę sadi się w rozstawie 40 x 40 cm (Nurzyńska-Wierdak 2009). Innym sposobem założenia plantacji jest podział roślin dwu- i trzyletnich, który przeprowadza się wczesną wiosną. Pozyskane sadzonki lebiodki sadi się w rozstawie 50 x 50 cm, 40 x 60 cm (Kołodziej 2018), lub 70 x 30 cm (Baranauskienė i in. 2013). Skoufogianni i in. (2019) podają, że plantacja oregano greckiego może być prowadzona nawet 10-11 lat, jednak zdaniem Karamanos i Sotiropoulou (2013) najczęściej stosuje się trzyletni cykl uprawy.

Nawożenie lebiodki uzależnione jest od rodzaju gleby, aktualnego stanu gleby (Kołodziej 2018). Sugerowane przez Kołodziej (2018) dawki nawozów mineralnych są następujące: N 60 kg·ha⁻¹, P₂O₅ 80 – 100 kg·ha⁻¹ i K₂O – 100 kg·ha⁻¹. Skoufogianni i in. (2019) zalecają dawkę azotu 25-86 kg/ha, a Sotiropoulou i Karamanos (2010) oraz Karamanos i Sotiropoulou (2013) polecają nawożenie azotem w dawce 80 kg·ha⁻¹. Nawozy potasowe, fosforowe i część dawki nawozów azotowych stosuje się przed siewem, a pozostałą część nawozów azotowych stosuje się w pełni wegetacji i po zbiorze lebiodki (Karamanos i Sotiropoulou 2013, Kołodziej 2018).

Na początku sezonu wegetacyjnego lebiodka wymaga starannego odchwaszczania i spulchniania gleby. W późniejszej fazie wegetacji oregano rozrasta się i ogranicza liczbę chwastów (Kołodziej 2018). Lebiodka często jest uprawiana na tym samym polu co przyczynia się do pojawienia się przede wszystkim grzybów patogennych, atakujących rośliny. *O. vulgare* jest wrażliwe na porażenie grzybami *Alternaria alternata*, *Fusarium*, *Phoma*, *Rhizoctonia solani* i *Stemphylium botryosum* (Zimowska 2015, Kołodziej 2018). Zimowska (2015) wykazała, że lebiodka jest podatna także na porażenie grzybem *Colletotrichum fuscum*, który wywołuje antraknozę liści i gromadzenie się w ziele toksycznych, wtórnych metabolitów. Osłabianie roślin i ograniczanie kwitnienia lebiodki powodują mszyce. Arslan i in. (2012) wykazali, że oregano ssp. *hirtum*, które zostało zainfekowane skoczками charakteryzowało się mniejszą zawartością olejku, w stosunku do roślin kontrolnych.

Zbiór zielela dokonuje się w początkowej fazie kwitnienia (przełom czerwca i lipca), stosując kosiarki. Ziele ścina się na wysokości 5 cm nad ziemią, pozostawiając części zdrewniałe (Król i in. 2019, Nurzyńska-Wierdak 2012, Kołodziej 2018). Zebrane ziele lebiodki, rozłożone w cienkich warstwach, można suszyć naturalnie w miejscu suchym, przewiewnym, zaciemnionym, wolnym od obcych zapachów i zabezpieczonym przed szkodnikami (PN-ISO 7925:2001, Kołodziej 2018). Przy suszeniu w suszarkach zalecana temperatura suszenia zielela to 30-40°C (Nurzyńska-Wierdak 2012, Skoufogianni i in. 2019). Witrowa-Rajchert i in. (2009) stwierdzili, że dobre rezultaty daje suszenie mikrofalowe, które skraca czas suszenia i powoduje mniejsze straty chlorofilu w liściach oregano niż suszenie konwekcyjne.

Powietrznie suche ziele lebiodki powinno być barwy oliwkowozielonej do jasnoszarzielonej. Liście brunatne i żółte dyskwalifikują surowiec zielarski. Susz pozyskany z oregano powinien mieć piekący, ciepły i gorzki smak oraz silny, intensywny zapach, bez oznak stęchlizny. Zawartość suchej masy w powietrznie suchym ziele

lebiodki powinna wynosić nie mniej niż 88%, a zawartość olejku w przeliczeniu na suchą masę nie może być mniejsza niż 1,5% (PN-ISO 7925:2001).

Plon i skład chemiczny lebiodki pospolitej

Badania czynników wpływających na plon lebiodki wykazały, że zależy on od fazy rozwoju roślin. Najmniejszy plon osiągnęto w fazie rozwoju wegetatywnego, a największy w pełni kwitnienia roślin, zarówno w przypadku ssp. *vulgare* (Nurzyńska-Wierdak 2009), jak i ssp. *hirtum* (Król i in. 2019), zatem opóźnianie zbiorów skutkuje obniżeniem plonu. Baranauskienė i in. (2013) stwierdzili, że plony świeżego ziele ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare* z jednego sezonu uprawy, były do siebie zbliżone (odpowiednio 8,01-18,06 i 7,99-18,03 t·ha⁻¹) w każdej fazie rozwoju roślin. Abd El-Wahab i in. (2016) w uprawie ssp. *hirtum* w Egipcie osiągnęli plon suchego ziele roślin jednorocznych 457,1-1086,4 kg·fed⁻¹ (1 feddan=0,42 ha), czyli ok. 0,109-0,259 kg·m⁻², w zależności od roku uprawy i nawożenia. W warunkach krajowych Król i in. (2019) stwierdzili, że plon powietrznie suchego ziele zebranego w pełni kwitnienia roślin jednorocznych ssp. *hirtum*, wynosił 0,440 kg·m⁻². Natomiast Nurzyńska-Wierdak (2009) uzyskała plon powietrznie suchego ziele zebranego w pełni kwitnienia jednorocznych roślin ssp. *vulgare*, wynoszący 0,49-0,51 kg·m⁻². Uwzględniając sezon uprawy lebiodki Skoufogianni i in. (2019) podają, że największy plon uzyskuje się w 2-gim roku uprawy – 1,5-3 t suchego ziele·ha⁻¹. Badania wykazały, że korzystny wpływ na plon lebiodki ma nawożenie azotem (optymalna dawka 80 kg·ha⁻¹ – Sotiropoulou, Karamanos 2010 i Karamanos, Sotiropoulou 2013), dolistne nawożenie magnezem i wapniem (Dordas 2009), a w warunkach gleby piaszczystej – nawożenie kompostem, algami i bionawozem (Abd El-Wahab i in. 2016). Większy plon ziele ssp. *vulgare* uzyskano przy obsadzie 5 roślin·m⁻² niż przy zastosowaniu podwójnej rozstawy i obsadzie 2,9 roślin·m⁻² (De Falco i in. 2013). Martyniak-Przybyszewska i Majkowska-Gadomska (2006) wykazały, że korzystniejsze dla plonu lebiodki było zastosowanie rozstawy 50 x 20 cm niż 50 x 25 cm. Nawadnianie plantacji w czasie suszy również powoduje zwiększenie plonu. Rzekanowski i in. (2008) stwierdzili, że największy plon świeżego ziele lebiodki (3,5 t·ha⁻¹) uzyskano, gdy suma opadów i dawki nawodnieniowe wyniosły 580 mm. Dordas (2009) wskazał też na znaczenie siedliska uprawy – rośliny ssp. *hirtum* uprawiane na obszarze Grecji położonym bardziej na południe plonowały lepiej niż te z terenu położonego bardziej na północy.

Ziele oregano (*Origanum herba*) zawiera szereg biologicznie aktywnych składników, do których zalicza się olejek eteryczny, związki fenolowe (1406-2221

mg·100g⁻¹), kwas L-askorbinowy (4,2-23,1 mg·100g⁻¹) i karotenoidy (25,5-51,0 mg·100g⁻¹) (Capecka i in. 2005) oraz cenne składniki mineralne jak wapń, potas, fosfor, magnez, cynk i siarkę (Özcan 2004).

Baranauskienė i in. (2013) porównali skład chemiczny ziele ssp. *hirtum* oraz ssp. *vulgare* i stwierdzili, że był on uzależniony od podgatunku i fazy rozwojowej roślin. W świeżym ziele zawartość suchej substancji rozpuszczalnej była największa w fazie wytwarzania nasion (17,8 i 19,7 % odpowiednio w ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*), podobnie jak zawartość cukrów ogółem, których z kolei więcej występowało w ssp. *hirtum* (3,22 %) niż w ssp. *vulgare* (2,68 %). Natomiast w tej fazie wzrostu najmniejsza była zawartość azotanów (790 i 680 mg·kg⁻¹ odpowiednio w ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*). W fazie pełnego kwitnienia roślin obu podgatunków stwierdzono największą koncentrację kwasu L-askorbinowego (odpowiednio 11,4 i 14,0 mg·100g⁻¹). Zawartość chlorofilu ogółem w ziele ssp. *hirtum* była największa w fazie intensywnego wzrostu wegetatywnego (1,31 mg·g⁻¹), natomiast w ssp. *vulgare* w fazie butonizacji (1,91 mg·g⁻¹).

W badaniach oregano wiele uwagi poświęca się zawartości związków polifenolowych w ziele, z uwagi na ich cenną aktywność antyoksydacyjną (Dambolena i in. 2010, Goncariuc i in. 2015, Król i in. 2019). Koncentracja polifenoli ogółem w ziele *O. vulgare* L. podawana przez różnych autorów jest zróżnicowana, np.: 53,51-166,43 mg·100g⁻¹ św.m. (Goncariuc i in. 2015), 92,187-190,572 g·kg⁻¹ ziele powietrznie suchego (Król i in. 2019), 8,84-198,19 mg·g⁻¹ s.m. (Dambolena i in. 2010), 7,25-14,18 g·100g⁻¹ s.m. suchego ziele (Adámková i in. 2015). Pewien wpływ na to zróżnicowanie mogły mieć warunki oznaczania polifenoli zastosowane przez wymienionych autorów, ale też szereg czynników: podgatunek (Dambolena i in. 2010, Kouřimská i in. 2014, Adámková i in. 2015, Goncariuc i in. 2015), rejon uprawy (Dambolena i in. 2010), termin zbioru – lipcowy, wrześnieowy (Adámková i in. 2015), system uprawy – konwencjonalny, lub organiczny (Kouřimská i in. 2014), faza rozwoju wegetacyjnego i organ rośliny (Król i in. 2019). Goncariuc i in. (2015) stwierdzili, że więcej polifenoli zawierało ziele ssp. *vulgare* niż *hirtum*, natomiast wyniki uzyskane przez innych autorów (Kouřimská i in. 2014, Adámková i in. 2015) są w tym względzie zróżnicowane i nie wskazują jednoznacznie na większą zawartość tych związków w ziele ssp. *vulgare*.

Badania Król i in. (2019) dowiodły, że zawartość polifenoli ogółem w ziele ssp. *hirtum* rosła stopniowo do pełni kwitnienia, a potem ulegała obniżeniu. Największą ich koncentracją odznaczały się kwiaty (190,572 g·kg⁻¹), a następnie pąki kwiatów i liście (120,222 g·kg⁻¹). Pąki zawierały najwięcej flawonoidów, a ich ilość w kwiatach i liściach

była znacznie mniejsza i do siebie zbliżona. Grevsen i in. (2009) stwierdzili, że najwięcej flawonoidów w ziele ssp. *hirtum* występowało w fazie pełnego kwitnienia, a najwięcej kwasów fenolowych, gdy ziele posiadało ok. 20% rozwiniętych kwiatów. Martins i in. (2014) porównując zawartość tych związków w wywarze, naparze i ekstrakcie ziela gatunku *O. vulgare* L., wykazali, że wszystkie pochodne zawierały podobną ilość kwasów fenolowych (22,80-22,33 mg·g⁻¹), natomiast najwięcej flawonoidów (75,25 mg·g⁻¹) i polifenoli ogółem (98,05 mg·g⁻¹) występowało w wywarze, a najmniej w ekstrakcie. Wszystkie pochodne zawierały najwięcej kwasu rozmarynowego (14,62-15,91 mg·g⁻¹) oraz O-glukuronidu luteoliny (12,48-28,27 mg·g⁻¹) i glukozydu luteoliny (20,88-25,26 mg·g⁻¹). Generalić-Mekinić (2014) również wykazali, że wśród kwasów fenolowych ekstraktu wodno-alkoholowego *O. vulgare* L. dominował kwas rozmarynowy (17,46 mg·g⁻¹ ekstraktu), a w ilościach <1 mg·g⁻¹ obecne były kwasy syringowy, wanilinowy, kumarynowy, kawowy, ferulowy, galusowy i cynamonowy. Wśród flawonoidów wymienieni autorzy stwierdzili najwięcej glukozydu kwercetyny (15 mg·g⁻¹), a luteolina, kempferol i epikatechina występowały w koncentracji <1 mg·g⁻¹.

Zawartość i skład chemiczny olejku

Olejek jest podstawowym, aktywnym biologicznie składnikiem *O. vulgare* L., jego zawartość w ziele waha się w szerokim zakresie 0,5-7,0 % (Elezi i in. 2013, Sakkas i in. 2017) na co zasadniczy wpływ ma podgatunek. Zasobność w olejki eteryczne (powyżej 2 %) wykazują podgatunki lebiodki pospolitej, które są charakterystyczne dla południowych obszarów, tj. ssp. *hirtum*, ssp. *gracile* i ssp. *glandulosum*, natomiast podgatunki bardziej typowe dla północnych rejonów – ssp. *vulgare*, ssp. *viride* i ssp. *virens* odznaczają się niską zawartością olejku (Lukas i in. 2015, Kosakowska i Czupa 2018). Oprócz widocznego znaczenia podgatunku *O. vulgare* L., wpływ na zawartość olejku mają: genotyp (Elezi i in. 2013, Mockute i in. 2003), chemotyp (Sahin i in. 2004, Sarikucku i in. 2015), ekotyp (Russo i in. 1998, Dambolena i in. 2010, De Martino i in. 2009, Nurzyńska-Wierdak i in. 2012), faza rozwoju oregano/termin zbioru (Verma i in. 2012, Baranauskienė i in. 2013, Chauhan i in. 2013, De Falco i in. 2013, Nurzyńska-Wierdak 2009, Król i in. 2019), organ rośliny (Król i in. 2019), nawożenie (Karamanos i Sotiropoulou 2013). Dla zawartości olejku w ziele optymalna jest zwykle pełnia kwitnienia. Baranauskienė i in. (2013) stwierdzili, że w tej fazie rozwoju, zawartość olejku w świeżym i suszonym ziele obu podgatunków wynosiła odpowiednio 0,21 i 0,65% w ssp. *vulgare* oraz 1,86 i 5,75% w ssp. *hirtum*. W tej fazie największa była też

wydajność olejku ($37,86$ i $36,65 \text{ dm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$) oraz ($335,92$ i $325,45 \text{ dm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$). Ziele ssp. *hirtum* oceniane w fazie pełnego kwitnienia przez Król i in. (2019) miało zawartość i wydajność olejku na poziomie $78 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ i $190,7 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Z kolei Nurzyńska-Wierdak (2009) wykazała, że Ziele ssp. *vulgare* zawierało najwięcej olejku na początku kwitnienia roślin ($0,58 \%$), a nieistotnie mniej w fazie pełnego kwitnienia ($0,56 \%$). Karamanos i Sotiropoulou (2013) oraz Król i in. (2019) stwierdzili, że Ziele sp. *hirtum* charakteryzowało się największą koncentracją olejku w kwiatach, a najmniejszą w liściach.

Niewiele jest doniesień na temat wpływu sezonu wegetacji roślin *O. vulgare* na zawartość olejku. Karamanos i Sotiropoulou (2013) wykazali, że w ssp. *hirtum* uprawianym w cyklu trzyletnim, średnia zawartość olejku wzrastała z poziomu $1,5$ - $2,0 \%$ w sezonie drugim, do $5,5\%$ w trzecim sezonie wegetacji. Dowiedli też, że największą zawartość olejku miało Ziele ssp. *hirtum* przy nawożeniu azotem w dawce $120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, a największą wydajność olejku uzyskano stosując dawkę $80 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Ninou i in. (2017) podają natomiast, że przy uprawie doniczkowej, nawożenie saletrą amonową w dawkach $0,6$ i $1,2 \text{ g N}$ na doniczkę, obniżyło zawartość olejku eterycznego w Zielu ssp. *hirtum*. Dolistne nawożenie roślin ssp. *hirtum* magnezem i wapniem korzystnie wpłynęło na zawartość i wydajność olejku (Dordas 2009). W Zielu roślin *O. vulgare* L. poddanych mikoryzie odnotowano wzrost zawartości olejku z $1,68 \%$ (w kontroli) do $3,35\%$ (Karagiannidis i in. 2011). Wyższą zawartością olejku charakteryzowało się oregano ssp. *vulgare* uprawiane przy mniejszej obsadzie roślin ($2,9 \cdot \text{m}^{-2}$), niż przy większej ($5 \cdot \text{m}^{-2}$) (De Falco i in. 2013). Azizi i in. (2009) stwierdzili, że deficyt wody w glebie wpływał na redukcję wysokości roślin, ale nie obniżał zawartości olejku. Skoufogianni i in. (2019) podają, że aby wyprodukować większą ilość olejku, oregano wymaga co najmniej 12 godzin światła dziennego. Zaobserwowano też, że wraz ze wzrostem średniej temperatury podczas wegetacji roślin *O. vulgare* L. zawartość olejku malała (Rzekanowski i in. 2008). De Martino i in. (2009) również odnotowali, że zawartość olejku w rosnącym dziko Zielu ssp. *hirtum* na terenie położonym w głębi lądu, o niższej temperaturze wegetacji, była wyższa ($3,15 \%$) niż w Zielu z rejonu nadmorskiego, słonecznego, o wyższej temperaturze ($2,35 \%$). Russo i in. (1998) wykazali, że zawartość olejku w Zielu roślin ssp. *hirtum* zbieranych ze stanowisk naturalnych na mniejszej wysokości (400 m n.p.m.) była mniejsza ($2,25$ - $3,37 \%$), niż ze stanowisk położonych wyżej (700 - 800 m n.p.m.), w których wynosiła $5,30$ - $5,61\%$. Pirigharnaei i in. (2011) stwierdzili, że więcej olejku zawierało Ziele *O. vulgare* L. pochodzące ze stanowisk naturalnych ($0,93$ - $1,66\%$), niż uprawiane na polu ($0,80\%$).

Skład chemiczny olejku *O. vulgare* L. jest zróżnicowany podobnie jak jego zawartość. Różni się on z uwagi na czynniki wewnętrzne – genetyczne, ale także zewnętrzne, tj. geograficzne, środowiskowe, klimatyczne. Wszystkie one mogą odgrywać istotną rolę w kształtowaniu kompozycji olejków (Pirigharnaei i in. 2011), choć zdaniem Elezi i in. (2013) podstawowe znaczenie mają czynniki genetyczne. Sahin i in. (2004) olejki rodzaju *Origanum* podzielili na dwie podstawowe grupy – olejki zasobne w monoterpeny o budowie fenolowej, jak karwakrol i tymol oraz olejki ubogie w te składniki, lub całkowicie ich pozbawione. Podgatunki oregano o wysokiej zawartości olejku w ziele (jak *O. vulgare* ssp. *hirtum*), charakteryzują się zwykle wysoką zawartością karwakrolu i tymolu. Natomiast podgatunki odznaczające się znikomą zawartością olejku (np. *O. vulgare* ssp. *vulgare*), posiadają w składzie głównie monoterpeny, linalol, sabinen, borneol (Kosakowska i Czupa 2018). Lukas i in. (2013, 2015) rośliny podgatunków *O. vulgare* bogatych w olejki, w których gromadzą karwakrol i tymol oraz ich prekursorzy, tj. p-cymen i γ -terpinen, zaliczają do chemotypu związanego ze szlakiem „cymyłowym”. Z kolei rośliny odznaczające się małą lub średnią zawartością olejku, mają mniej aktywny lub nieaktywny szlak „cymyłowiy” na rzecz syntezy bicyklicznych składników typu „sabinyl” (sabinen, cis/trans hydrat sabinenu oraz ich octany), lub składników acyklicznych (np. linalol, octan linalylu, β -myrcen, β -ocimene) oraz towarzyszących im w znacznej koncentracji seskwiterpenów (β -kariofilen, tlenek kariofilenu, germakren D). Lukas i in. (2015) twierdzą, że aktywną transformacją pirofosforanu geranylu (GPP) według szlaku „cymylowego” lub/i szlaku acyklicznego („linalolowego”) odznaczają się na ogół rośliny *Origanum vulgare* L., pochodzące z europejskiej części regionu śródziemnomorskiego (tj. *O. vulgare* ssp. *hirtum* oraz *O. vulgare* ssp. *virens*). Z kolei w roślinach *O. vulgare* ssp. *vulgare*, typowych dla klimatu kontynentalnego, zwykle zachodzi transformacja pirofosforanu geranylu na szlaku „sabinylowym”, w rezultacie czego większość olejków tego podgatunku jest bogata w sabinen oraz w seskwiterpeny.

Nurzyńska-Wierdak (2012) wskazuje, że olejek *O. vulgare* ssp. *vulgare* tworzy co najmniej dziewięć chemotypów z widącym udziałem sabinenu, trans- i cis-hydrat sabinenu, β -kariofilenu, germakrenu D, (Z)- β -ocimenu i (E)- β -ocimenu, ale także tymolu. Wysoki udział tymolu (58,31%) w olejku ssp. *vulgare* oraz linalolu w olejku ssp. *hirtum* (96,31%) stwierdzili Sarikurcu i in. (2015), w badaniach prowadzonych w Turcji. Kokkini i in. (2004) porównując skład chemiczny olejku ssp. *hirtum* na terenie Grecji, odnotowali dużą zmienność zawartości karwakrolu (1,7-69,6%) i tymolu (0,2-42,8%) w

zależności od rejonu uprawy. Chishti i in. (2016) wykazali, że procentowy udział głównych komponentów olejków z ziela roślin *Origanum vulgare* L. rosnących dziko w trzech lokalizacjach Kaszmiru, różnił się znacząco, ze względu na zmieniające się warunki geograficzne. Kokkini i in. (2004) stwierdzili, że olejek roślin ssp. *hirtum* rosnących w niższej sytuowanych siedliskach charakteryzował się większą zawartością karwakrolu, a mniejszą tymolu. Karwakrol w olejku ssp. *hirtum* w największej ilości występował latem, a jesienią przeważał *p*-cymen (De Martino i in. 2009). Karamanos i Sotiropoulou (2013) wykazali, że w oregano ssp. *hirtum* więcej karwakrolu występowało w olejku z kwiatostanów (72,07-84,88%) niż z liści (56,46-84,88%), przy czym więcej tego składnika gromadziło się w sezonie suchszym i cieplejszym, ale inne składniki (m.in. γ -terpinen, *p*-cymen, linalol, α -terpineol, myrcen, α -kariofilen) miały tendencję do większej akumulacji w sezonie wilgotniejszym i chłodniejszym. Badania prowadzone przez Verma i in. (2012) dowiodły, że w olejku o chemotypie tymolowym, tymol oraz terpinen-4-ol, 3-octanol, α -pinen, β -pinen, 1,8-cineol, α -kubeben i (E)- β -ocimen występowały w największej ilości w stadium pełnego kwitnienia. W olejku ssp. *vulgare* wraz z rozwojem roślin wzrastał udział sabinenu, β -pinenu, germakrenu, kariofilenu, a malał tymolu, karwakrolu i γ -terpinenu (Nurzyńska-Wierdak 2009).

Karamanos i Sotiropoulou (2013) stwierdzili, że nawożenie azotem miało istotny wpływ na zawartość karwakrolu w olejku, ale tylko w trzecim roku wegetacji. Oregano poddane mikoryzie miało w olejku więcej karwakrolu (o 6,59%), niż oregano uprawiane bez mikoryzy (Karagiannidis i in. 2011). Olejek z roślin ssp. *vulgare* rosnących w pojedynczych rzędach był bogatszy w sabinen, podczas gdy pozyskany z roślin rosnących w podwójnych rzędach był zasobniejszy w *o*-cymen (De Falco i in. 2013). Badania Nurzyńskiej-Wierdak (2009), wskazują jak znaczący wpływ na skład chemiczny może wywierać rok uprawy. Autorka stwierdziła, że w olejku jednorocznych roślin ssp. *vulgare* w jednym roku dominował sabinen, a w następnym β -pinen, zaś sabinen był nieobecny.

Badając wpływ suszenia ziela na skład olejku Baranauskienė i in. (2013) stwierdzili brak znaczącego wpływu suszenia w 40°C w suszarni na zawartość karwakrolu i *p*-cymenu w olejku ssp. *hirtum*, ale zawartość niektórych składników (myrcenu i terpinenu) istotnie malała. W przeciwieństwie do tego De Falco i in. (2013) wykazali, że w olejku suszonego ziela ssp. *vulgare* zawartość karwakrolu istotnie wzrosła (do 11,7-14,3 %) w porównaniu do olejku w ziele świeżym (0,1-1,4 %). Figiel i in. (2010) odnotowali, że olejek ziela lebidki suszonego mikrofalami charakteryzował się większą zawartością

tymolu, karwakrolu, p-cymenu i gamma-terpinenu niż olejek ziela suszonego metodą konwekcyjną.

W olejkach obu podgatunków liczba komponentów jest zróżnicowana od kilkunastu do kilkudziesięciu. W olejkach ssp. *hirtum* Gonceariuc i in. (2015) wykazali 18-25 składników, a De Martino i in. (2009) – 60. De Falco i in. (2013) stwierdzili obecność aż 120 składników w olejku ssp. *vulgare*, a Gonceariuc i in. (2015) jedynie 18-25.

Aktywność przeciwutleniająca lebiodki

Zainteresowanie badaczy przyciąga aktywność przeciwutleniająca i przeciwdrobnoustrojowa ziół z uwagi na potencjalną możliwość ich wykorzystania w roli naturalnych konserwantów oraz środków przeciwgrzybiczych i przeciwbakteryjnych.

W wielu badaniach stwierdzono korelację między zawartością polifenoli a aktywnością antyutleniającą ziela oregano (Barros i in. 2009, Adámková i in. 2015, Karimi i in. 2015, Kouřimská i in. 2014, Król i in. 2019). Podkreśla się jednak, że znaczenie ma także charakter związków fenolowych, zwłaszcza stopień ich hydroksylacji i pozycja grup hydroksylowych, a także obecność innych aktywnych związków, jak olejki, kwas askorbinowy, czy karotenoidy (Dambolena i in. 2010). Zdaniem Generalić-Mekinić (2014) podstawową rolę w kształtowaniu aktywności antyoksydacyjnej *O. vulgare* pełni kwas rozmarynowy. Do innych czynników mających wpływ na aktywność antyoksydacyjną należą podgatunek lebiodki, termin zbioru ziela, organ rośliny, warunki klimatyczne i uprawowe, metoda ekstrakcji (Dambolena i in. 2010, Karimi i in. 2015, Kouřimská i in. 2016, Król i in. 2019).

Dambolena i in. (2010) stwierdzili, że spośród badanych przez nich podgatunków i mieszańców oregano (*O. vulgare* ssp. *vulgare* i ssp. *virens*, *O. x appli* oraz *O. x majoricum*) największą aktywnością neutralizacji rodników DPPH odznaczało się ziele podgatunku ssp. *vulgare*. Wyniki ujmujące porównanie aktywności antyutleniającej suszu z ziela ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare* nie są w pełni jednoznaczne. W badaniach Adámkovej i in. (2015) ziele ssp. *vulgare* miało ogólnie wyższą aktywność antyutleniającą niż ssp. *hirtum*, a oba podgatunki przewyższały pod tym względem ziele majeranku, cząbrzu i tymianku. Autorzy odnotowali też, że większą aktywność antyutleniającą miało ziele suszone niż świeże oraz pochodzące z II zbioru (wrześniowego), niż z I (lipcowego). Kouřimská i in. (2014) stwierdzili z kolei, że aktywność antyutleniająca ziela obu podgatunków była zróżnicowana – w warunkach uprawy organicznej była większa w przypadku ssp. *hirtum* niż ssp. *vulgare*, a odwrotnie

w uprawie konwencjonalnej. Król i in. (2019) badając aktywność antyoksydacyjną ziela ssp. *hirtum* w zależności od fazy rozwoju roślin wykazali, że była ona największa, gdy ziele zbierano w pełni kwitnienia, przy czym ziele miało niższą aktywność niż kwiaty i same liście.

W badaniach porównujących aktywność ziela i olejku Sahin i in. (2004) udowodnili, że olejek z ssp. *vulgare* charakteryzował się wielokrotnie mniejszą aktywnością antyoksydacyjną niż sporządzony z ziela ekstrakt metanolowy. Baser i Buchbauer (2015) wykazali, że stopień neutralizacji rodników DPPH przez olejek ziela ssp. *vulgare* był mniejszy (65,93%), niż olejku ssp. *hirtum* (87,09%). Inne wyniki otrzymali natomiast Sarikurcu i in. (2015), którzy stwierdzili, że olejek z ssp. *hirtum* nie wykazywał aktywności wobec rodników DPPH w przeciwieństwie do olejku ssp. *vulgare*. Zdaniem autorów o większej aktywności olejku ssp. *vulgare* zdecydowała obecność w nim tymolu i karwakrolu. Większą aktywność neutralizacji DPPH wykazywał olejek oreganowy pozyskany z liści i kwiatów niż olejek z całych nadziemnych pędów (Baser i Buchbauer 2015, Han i in. 2017).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa lebiodki

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa produktów roślinnych jest oceniana metodami *in vitro* i *in vivo*. Najczęściej stosowane w warunkach *in vitro* grupy metod badań to: agarowa dyfuzyjna (krążkowa, studzienkowa, rzadziej cylinderkowa) oraz metoda rozcieńczeń (agarowa lub w hodowli płynnej), które są proste w wykonaniu, wiarygodne i precyzyjne (Kalemba i Kunicka 2003). Modyfikacją metody krążkowej jest umieszczanie krążków (nasączonych olejkiem) na wieczku szalki, dla stworzenia atmosfery gazowej (Kalemba i Kunicka 2003, Soylu i in. 2007), a modyfikacją metody rozcieńczeń jest użycie mikropłytek (Soylu i in. 2007). Metody rozcieńczeniowe ułatwiają wyznaczenie minimalnego stężenia hamującego (Minimal Inhibition Concentration – MIC) oraz minimalnego stężenia bójczego (Minimal Bactericidal Concentration – MBC, lub Minimal Fungicidal Concentration – MFC). W badaniach *in vitro* istotne znaczenie mają warunki hodowli takie jak: podłoże, czas i temperatura inkubacji (Özcan 1998, Kalemba i Kunicka 2003, Bagamboula i in. 2004).

Wyniki wielu doświadczeń *in vitro*, wskazują na antymikrobiologiczny potencjał oregano. Przedmiotem badań były olejki oregano (Adam i in. 1998, Daferera i in. 2003, Sahin i in. 2004, Souza i in. 2007, Gumus i in. 2010, Sarikurcu i in. 2015, Khan i in. 2018), ekstrakty (m.in. wodne i alkoholowe) (Özcan i Boyraz 2000, Sagdic i in. 2002, Hać-Szymańczuk i in. 2012, Król i in. 2019), a w mniejszym stopniu hydrozole (Sagdic

2003, Khan i in. 2018), wywary (Özcan, Boyraz 2000), napary (Chaudhry i in. 2007) oraz sproszkowany susz (Chalfoun i in. 2004).

Badania *in vitro* aktywności przeciwgrzybiczej olejku *O. vulgare* L. prowadzono niekiedy bez określenia jego składu chemicznego (Souza i in. 2007, Viuda-Martos i in. 2007, Gumus i in. 2010). Wykazano w nich hamujące działanie olejku na wzrost pleśni i drożdży (Souza i in. 2007), całkowitą inhibicję wzrostu (w stężeniu 0,25% przez 10 dni) termoopornych grzybów *Aspergillus fumigatus* i *Paecilomyces varioti* (Gumus i in. 2010), a w niskiej koncentracji (0,11-0,44 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$) także większą aktywność wobec *Aspergillus niger* i *A. flavus* niż olejków tymiankowego i goździkowego (Viuda-Martos i in. 2007). Badania uwzględniające skład olejku oreganowego wskazują, że aktywność wobec grzybów jest wyższa, jeśli olejki są zasobne w składniki fenolowe. Adam i in. (1998) udowodnili, że olejek z ziela *O. vulgare* ssp. *hirtum*, bogaty w karwakrol i tymol, miał większą aktywność wobec chorobotwórczych dla ludzi grzybów: *Malassezia furfur*, *Trichophyton rubrum* i *Trichosporon beigelii*, niż olejek miętowy, lawendowy i szałwiowy, a spośród głównych składników olejków największą aktywnością charakteryzowały się tymol i karwakrol. Autorzy udowodnili też, że olejek oreganowy nie wykazywał aktywności mutagennej. Daferera i in. (2003) stwierdzili, że olejek *O. vulgare*, bogaty w tymol całkowicie hamował wzrost grzybów *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. i *Clavibacter michiganensis* przy stężeniu 85 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, natomiast olejek lawendowy, którego głównymi składnikami były linalol i octan linalylu, wpływał na ograniczenie wzrostu tych grzybów dopiero przy stężeniu 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Olejek ssp. *hirtum* zasobny w karwakrol (65,25%) wykazywał zróżnicowaną w zależności od szczepu aktywność przeciwgrzybową wobec grzybów pleśniowych z rodzajów *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* (Dzamic i in. 2008).

Sahin i in. (2004) wykazali, że olejek oreganowy o chemotypie niefenolowym (kariofilen/spatulenol) był aktywny wobec 15 szczepów grzybów pleśniowych oraz drożdży (z rodzajów *Aspergillus*, *Fusarium*, *Moniliana*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Trichophyton* i *Candida*), jednak strefy inhibicji ich wzrostu (przy dawce 10 μl /krążek) miały stosunkowo niewielką średnicę (13-35 mm), zróżnicowaną w zależności od szczepu grzyba. Na wpływ dawki olejku lebiodkowego na długość czasu jego przeciwgrzybowego działania wskazują badania Basilico i Basilico (1999), którzy stwierdzili, że olejek ten zastosowany w stężeniu 1000 ppm i 750 ppm, hamował wzrost *Aspergillus ochraceus* odpowiednio przez 21 i 14 dni.

Özcan (1998) porównując działanie ekstraktów metanolowych sporządzonych z 31 roślin stwierdził, że ekstrakty z czarnego tymianku (*Thymbra spicata* L.) i oregano (*O. vulgare* L. ssp. *hirtum*) najefektywniej hamowały wzrost *Aspergillus parasiticus*, przy czym czas ich działania zależał od dawki – przy stężeniu w podłożu 2 i 1% w pełni hamowały wzrost grzyba odpowiednio przez 10 i 5 dni. Król i in. (2019) wykazali większą skuteczność ekstraktów metanolowych z ziela ssp. *hirtum*, niż heksanowych, w inhibicji wzrostu drożdży (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. quilliermondii*, *Geotrichum candidum*) oraz grzybów pleśniowych (*Penicillium notatum*, *Aspergillus flavus*) i dermatofitów (*Microsporum gypseum*). Wysoką aktywnością wobec grzybów pleśniowych (*Alternaria solani*, *Aspergillus parasiticus*, *Botrytus cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseoli* i *Rhizoctonia solani*) odznaczał się również wywar ze świeżego ziela *O. vulgare*, który przez 7 dni hamował całkowicie ich wzrost, przy dawce do podłoża wynoszącej 10% (Özcan i Boyraz 2000). Natomiast susz z oregano (*O. vulgare* L.) w koncentracji w podłożu 1, 2, 3 i 4% wykazywał niską aktywność w hamowaniu wzrostu grzybów *Aspergillus niger* i *Eurotium repens* oraz nie ograniczał wytwarzania mikotoksyny przez *A. flavus*, w odróżnieniu od suszu goździkowego, cynamonowego i anyżowego (Chalfoun i in. 2004). Z kolei w innych badaniach (Wójcik-Stopczyńska i Jakubowska 2018) susz oreganowy silnie hamował rozwój grzybów z rodzajów *Aspergillus* i *Eurotium*.

Poziom aktywności antybakteryjnej olejków jest również związany z obecnością w nich składników fenolowych. Bagamboula i in. (2004) udowodnili, że karwakrol oraz tymol, efektywniej niż linalol i estragol hamowały wzrost chorobotwórczych bakterii *Shigella sonnei* i *Shigella flexneri*. Nostro i in. (2004) wykazali aktywność olejku oreganowego oraz karwakrolu i tymolu wobec antybiotykoopornych szczepów z rodzaju *Staphylococcus*. Cui i in. (2019) stwierdzili, że olejek z oregano mający w składzie 64,86% karwakrolu powodował nieodwracalne uszkodzenie i zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) odpornego na metycylinę, a także uszkadzał strukturę jego DNA oraz hamował aktywność enzymów i metabolizm. Dorman i Deans (2000) badając aktywność olejków pieprzu, goździków, tymianku, geranium, gałki muszkatołowej i oregano (*O. vulgare* ssp. *hirtum*) w hamowaniu wzrostu 25 szczepów bakterii odnotowali, że najsilniejsze działanie wykazywały olejki oreganowy i tymiankowy, które były bardziej aktywne, niż działające samodzielnie ich składniki główne, jednak karwakrol i tymol wykazywały większą aktywność niż sabinen i borneol. Olejek oreganowy zawierający w składzie m.in.

karwakrol, tymol i γ -terpinen powodował znaczącą redukcję wzrostu *Listeria monocytogenes* i *L. innocua* (Teixeira i in. 2013). Hać-Szymańczuk i in. (2014) udowodnili wyższą aktywność antybakteryjną zasobnego w karwakrol olejku *O. vulgare* L., niż olejku szałwiowego, którego wiodącymi składnikami była kamfora i linalol. Sahin i in. (2004) wykazali, że olejek ssp. *vulgare* o chemotypie kariofilen/spatulenol wykazywał aktywność jedynie wobec 10 z 25 szczepów bakterii (w tym *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* i bakterii z rodzaju *Bacillus*), ale strefy hamowania ich wzrostu (10-33 mm) były zbliżone lub mniejsze, niż powodowane przez antybiotyk. Özcan i Erkmen (2001) stwierdzili, że olejek oreganowy przy stężeniu 1% nie hamował wzrostu bakterii (*B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. aureus* i *Yersinia enterocolitica*), przy koncentracji 10% ograniczał ich rozwój, a przy stężeniu 15% działał bójczo na wszystkie badane bakterie oprócz *B. cereus*.

Sagdic i in. (2002) wykazali aktywność ekstraktu alkoholowego z suszu *O. vulgare* wobec różnych szczepów *E. coli*. Król i in. (2019) stwierdzili, że ekstrakty metanolowe z ziela ssp. *hirtum* aktywniej hamowały wzrost bakterii (*S. aureus*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*) niż ekstrakty heksanowe. W badaniach porównawczych aktywności przeciwbakteryjnej olejków i ekstraktów oregano uzyskiwano różne wyniki. W przeciwieństwie do olejków nieaktywne wobec bakterii były metanolowe ekstrakty z suszonego ziela ssp. *vulgare* (Sahin i in. 2004) oraz otrzymywane na gorąco ekstrakty wodne (Teixeira i in. 2013). Z kolei Hać-Szymańczuk i in. (2012) stwierdzili, że bardziej efektywny w hamowaniu wzrostu bakterii (*B. subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus*, *Tetracoccus*, *E. fecalis* i G(-): *E. coli*, *Salmonella*, *P. vulgaris*, *P. miriabilis*, *K. pneumoniae*) był ekstrakt wodny niż olejek (*O. vulgare* L.). Khan i in. (2018) dowiedli, że również aktywność antybakteryjna hydrozolu *O. vulgare* L. była większa niż olejku. Wykazano (Sagdic i Özcan 2003), że spośród 16 ocenianych hydrozoli, hydrozol oreganowy (*O. vulgare* L.) był, obok cząbrowego, najaktywniejszy w hamowaniu wzrostu szeregu bakterii (z rodzajów *Bacillus*, *Salmonella*, *Enterobacter* oraz gatunków *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, i *K. pneumoniae*), ale aktywność hydrozolu *O. vulgare* L. wobec *E. coli*, *S. aureus* i *Yersinia enterocolitica* była mniejsza niż hydrozoli *O. onites* L. i *O. majorana* L. (Sagdic 2003). Na ogół bardziej wrażliwe na działanie olejków i ekstraktów z oregano były bakterie G(+) niż G(-) (Sahin i in. 2004, Hać-Szymańczuk i in. 2012, De Falco i in. 2013).

Przytoczone wyżej wyniki badań *in vitro* wskazują na zróżnicowanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej *O. vulgare* L. w zależności od rodzaju pochodnej, składu

chemicznego olejku oraz dawki i czasu inkubacji, a także szczepu drobnoustroju. Niewiele jest doświadczeń porównujących bezpośrednio aktywność przeciwdrobnoustrojową, a zwłaszcza przeciwgrzybiczną, podstawowych podgatunków *O. vulgare* L., tj. ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*. Sarikurcu i in. (2015) porównali aktywność przeciwbakteryjną olejków tych podgatunków oraz działania na wzrost drożdży *C. albicans*. Olejek ssp. *vulgare* bogaty w tymol działał aktywniej na zahamowanie wzrostu bakterii (*S. aureus*, *E. coli*, *Sarcina lutea*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. faecalis*), a bogaty w linalol olejek ssp. *hirtum* efektywniej hamował wzrost drożdży. W literaturze niewiele jest też danych odnośnie zmian aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejku *O. vulgare* w zależności od zmian jego składu, związanych np. z warunkami uprawy oraz rokiem i sezonem wegetacji. De Falco i in. (2013) podjęli badania zmian aktywności przeciwbakteryjnej olejku ssp. *vulgare* pozyskanego z ziela roślin uprawianych przy różnej obsadzie, zarówno świeżego jak i powietrznie suchego. Autorzy stwierdzili, że olejek z ziela suszonego zawierał więcej karwakolu niż z ziela świeżego i działał efektywniej wobec *B. cereus*, *B. subtilis* i *E. coli*, natomiast obsada roślin różnicowała udział sabinenu w olejkach, ale nie wpływała istotnie na jego aktywność antybakteryjną. W przypadku roślin wieloletnich zbadanie poziomu aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków bądź innych pochodnych, w zależności od sezonu wegetacji roślin, z których są pozyskiwane, może być przydatne do określenia stabilności ich działania.

Badania *in vitro* są niezbędne w ocenie potencjału przeciwdrobnoustrojowego substancji naturalnych, ale konieczne są też doświadczenia *in vivo*. Oba rodzaje badań były prowadzone równolegle przez Reddy i in. 1998, Dikbas i in. 2008, Vitoratos i in. 2013, Xu i in. 2014, Hyun i in. 2015). Dla uzyskania w doświadczeniach *in vivo* efektu na poziomie wynikającym z badań *in vitro*, należy brać pod uwagę wyższe stężenie określonego preparatu (Aminifard i Mohammadi 2013, Pedrotti i in. 2017).

W warunkach *in vivo* oceniano aktywność przeciwdrobnoustrojową różnych pochodnych roślin np. olejków (Shahi i in. 2003, Dikbas i in. 2008 i 2011, Vitoratos i in. 2013), ekstraktów alkoholowych (Senhaji i in. 2014), wyciągów wodnych (Wang 2003, Gupta i Jain 2014), sproszkowanego suszu (Awuah i Ellis 2002), stosując różne sposoby traktowania produktu – np. oprysk olejkiem (Shahi i in. 2003, Dikbas i in. 2008), zanurzenie w roztworze lub emulsji olejku (Feng i Zheng 2007, Gunduz i in. 2010, Mohammadi i Aminifard 2012, Bhargava i in. 2015), punktowe dozowanie emulsji lub olejku (Lopez-Reyes i in. 2010, 2013, Chen i in. 2014, Xu i in. 2014) oraz fumigację z

wykorzystaniem działania lotnej fazy olejku (Dikbas i in. 2011, Aminifard i Mohammadi 2013, Vitoratos i in. 2013), jak też dodatek suszu do przechowywanych nasion (Awuah i Ellis 2002).

Wyniki doświadczeń *in vivo* wykazały potencjalną przydatność wielu olejków, do pozbiorczej biokontroli rozwoju szkodliwych grzybów pleśniowych na produktach ogrodniczych. Abd-Alla i in. (2006) stwierdzili skuteczność olejku tymiankowego i trawy cytrynowej w hamowaniu rozwoju *A. niger* na celowo zainfekowanej cebuli. Na inokulowanych pomidorach *cherry* rozwój *Alternaria alternata* powstrzymywał olejek cynamonowy (Fen i Zheng 2007) i olejek cytronelowy (Chen i in. 2014), olejek kopru ogrodowego i pachnotki zwyczajnej ograniczał wzrost *A. niger*, *A. oryzae*, *A. flavus* oraz *Alternaria alternata* (Tian i in. 2011, 2015), a olejek goździkowy oraz z nasion selera i marchwi – rozwój porażenia przez *Geotrichum* sp. (Mohapatra i in. 2014). Olejek cytrynowy efektywnie powstrzymywał rozwój *B. cinerea* na owocach ogórka i truskawek (Vitoratos i in. 2013), olejki z czarnuszki, mięty i kopru włoskiego hamowały rozwój szarej pleśni na owocach śliwek (Aminifard i Mohammadi 2013). Olejek cząbrowy był skuteczny w ochronie cytryn przed rozwojem porażenia przez *A. flavus* (Dikbas i in. 2008), a olejek palczatki pogiętej skutecznie ograniczał wzrost *B. cinerea*, *Penicillium expansum* i *Phoma violacea* na owocach jabłoni niskiej, nie wykazując fitooksyczości (Shahi i in. 2003). Doniesienia o działaniu *in vivo* olejku oreganowego są stosunkowo nieliczne. Olejek *O. vulgare* ssp. *hirtum* o niezidentyfikowanym składzie zastosowali jako fumigant Vitoratos i in. (2013). Autorzy wykazali jego skuteczność, uzależnioną od stężenia, w hamowaniu rozwoju *B. cinerea* na celowo infekowanych tym grzybem owocach pomidora nieokreślonej odmiany. Całkowite zahamowanie rozwoju szarej pleśni uzyskano przy koncentracji olejku wynoszącej 300 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$. Podczas przechowywania pomidorów w temperaturze 22°C rozwój *B. cinerea* na pomidorach kontrolnych odnotowano po 48 h, a na fumigowanych olejkiem po 5 dniach. Olejek ten był natomiast mniej efektywny niż cytrynowy w hamowaniu rozwoju *B. cinerea* na owocach truskawek (Vitoratos i in. 2013). Lopez-Reyes i in. (2013) stwierdzili, że wśród zastosowanych punktowo emulsji (o stężeniu 10 i 1%), przygotowanych z 11 firmowych olejków, olejek oreganowy (zawierający 30,64 % karwakrolu i 21,06% tymolu) należał do najskuteczniejszych (obok tymiankowego i cząbrowego) w hamowaniu rozwoju *B. cinerea* i *Monilinia laxa* na zainfekowanych owocach moreli, nektaryn i śliwek. Emulsje wymienionych olejków o stężeniu 1% działały jednak fitotoksycznie na morele i nektaryny, natomiast emulsje wszystkich olejków o stężeniu 10% działały fitotoksycznie

na większość gatunków i odmian użytych w doświadczeniu owoców. Emulsja olejku oreganowego (1 i 10%) była skuteczna w hamowaniu rozwoju *B. cinerea* i *P. expansum* na zainfekowanych owocach jabłek, jednak w stężeniu 10% również działała fitotoksycznie na jabłka wszystkich użytych w doświadczeniu odmian (Lopez-Reyes i in. 2010). Olejki anyżowy i cynamonowy stosowane w ochronie owoców brzoskwiń przed rozwojem szarej pleśni nie wykazywały fitotoksyczności (Mohammadi i Aminifard 2012).

Wyniki przytoczonych wyżej badań wskazują, że efektywność olejków zależała od rodzaju olejku i jego dawki (Aminifard i Mohammadi 2012, Vitoratos i in. 2013), gatunku i odmiany owoców i warzyw (Lopez-Reyes i in. 2010, 2013, Vitoratos i in. 2013), a także szczepu grzyba użytego do infekcji (Tian i in. 2011, 2015). Wyniki niektórych badań *in vivo* wykazywały też hamujący wpływ olejków lub ich składników na rozwój rodzimej mikrobioty owoców i warzyw. Stwierdzono to podczas przechowywania malin traktowanych olejkami drzewa herbacianego, jasmonianem metylu i izotocyjanianem allilu (Wang 2003) winogron i truskawek poddanych fumigacji olejkami cząbrowym (Dikbas i in. 2011) oraz pomidorów *cherry* poddanych fumigacji olejkami kopru ogrodowego, olejkami *Cicuta virosa* var. *latisecta* oraz pachnotki zwyczajnej (Tian i in. 2011, 2011a, 2015).

W niektórych doświadczeniach *in vivo* równolegle badano wpływ olejków i ich składników na stan mikrobiologiczny przechowywanych owoców i warzyw oraz na ich cechy jakościowe (np. ogólną zawartość składników rozpuszczalnych, kwasowość ogólną i pH, zawartość cukrów, jędrność, barwę) oraz ubytki masy. Wydaje się to wskazane, gdyż pozytywne rezultaty uzyskano w przypadku malin (Wang 2003), śliwek (Aminifard i Mohammadi 2013) i pomidorów (Chen i in. 2014). Natomiast czereśnie składowane w atmosferze eukaliptolu odznaczały się po przechowywaniu lepszym stanem mikrobiologicznym niż owoce kontrolne, ale pogorszeniu uległy ich cechy jakościowe – barwa, jędrność, kwasowość i masa owoców oraz stan szypułek (Serrano i in. 2005).

Z przeanalizowanych źródeł wynika, że brak jest bliższych danych na temat zmian składu chemicznego produktów ogrodniczych traktowanych olejkami lub inną pochodną sporządzoną z ziela lebiodki pospolitej. Dotyczy to np. wywarów, o których przeciwgrzybowym działaniu *in vivo*, jak też wpływie na cechy jakościowe traktowanych nimi surowców niewiele wiadomo. Przedmiotem prac z wykorzystaniem immersji w ekstraktach roślinnych są głównie owoce (Malik i in. 2016). Wyniki badań stanu

mikrobiologicznego, cech jakościowych oraz trwałości przechowalniczej owoców cytrusowych, mango i guawy, poddawanych przed przechowywaniem namoczeniu w wodnych wyciągach roślinnych są zachęcające (Gupta i Jain 2014, Malik i in. 2015, Chen i in. 2019) i mogą skłaniać do podejmowania podobnych doświadczeń z użyciem wywaru i zastosowania go do traktowania warzyw.

Przedłużanie trwałości kwiatów ciętych

Na przestrzeni ostatnich lat prowadzone są badania dotyczące oddziaływania olejków eterycznych i ekstraktów oraz ich składników, na trwałość pozbiorną („wazonową”) kwiatów ciętych (Bazaz i Theranifar 2011, Kazemi i in. 2012). W doświadczeniach stosuje się zwykle olejki eteryczne i ekstrakty roślin należących do rodzin *Lamiaceae* i *Apiaceae*. Marandi i in. (2011 a, b) wykorzystali olejek kminkowy w celu przedłużenia „trwałości wazonowej” róż i kwiatostanów mieczyka. Wpływ olejku miętowego na pozbiorną trwałość róż ocenili Saaghazed i in. (2014), a Bazaz i Theranifar (2011) zbadali jego działanie na alstromerię. Olejek tymiankowy zastosowano w doświadczeniach z ciętymi kwiatami gerbery (Dareini i in. 2014) oraz goździków i eustomy (Kazemi i Ameri 2012, Kazemi i in. 2012). Wyniki uzyskane w przytoczonych pracach wskazują na pozytywny wpływ olejków na trwałość ciętych kwiatów, a Kazemi i Ameri (2012) dowiedli też, że efektywność olejku tymiankowego i lawendowego przewyższała działanie nanosrebra i kwasu salicylowego. Wyniki badań Salehi Salmi i in. (2018) wykazały, że istotne jest dobranie właściwego stężenia olejku, a także par „olejek-gatunek kwiatu”. Zdaniem tych autorów (Salehi Salmi i in. 2018) do wzrostu trwałości „wazonowej” ciętych kwiatów pod wpływem olejków, przyczynia się ich aktywność przeciwdrobnoustrojowa. W dostępnej literaturze nie znaleziono informacji odnośnie działania olejku lebiodkowego oraz innych pochodnych (np. wywaru), na „trwałość wazonową” kwiatów. Z uwagi na wpływ roku uprawy roślin na zmianę składu chemicznego olejku, ważne wydaje się także zbadanie czy i w jakim stopniu zmienia się jego oddziaływanie na trwałość ciętych kwiatów, w zależności od roku wegetacji lebiodki, z której pozyskano olejek.

3. Cel pracy

Na podstawie analizy materiałów źródłowych wyznaczono następujące cele pracy:

- porównanie plonu, składu chemicznego i aktywności przeciwutleniającej ziela oraz składu chemicznego olejków dwóch podgatunków *O. vulgare* L.: ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*, w zależności od sezonu wegetacji i roku uprawy;
- porównanie metodami *in vitro* aktywności przeciwdrobnoustrojowej, a zwłaszcza przeciwgrzybiczej, olejków, wywarów i sproszkowanego suszu otrzymanych z ziela badanych podgatunków lebidki i wskazanie podgatunku, którego ziele ma większy potencjał jako źródło naturalnych fungicydów, stosowanych pozbiorczo;
- ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków, wywaru i sproszkowanego suszu w zależności od dawki, szczepu grzyba oraz sezonu i roku uprawy lebidki;
- sprawdzenie w warunkach *in vivo*, wpływu olejku wybranego podgatunku na rozwój niektórych grzybów na celowo zainfekowanych owocach i warzywach poddanych przechowywaniu oraz wpływu olejku i wywaru na rozwój rodzimej mikroflory przechowywanych warzyw korzeniowych;
- ocena wpływu traktowania olejkiem i wywarem wybranego podgatunku lebidki pospolitej na zmiany składu chemicznego przechowywanych owoców i warzyw
- określenie wpływu olejku i wywaru na trwałość pozbiorczą ciętych kwiatów wyżłinu większego.

4. Materiał i metody badań

4.1. Materiał badawczy

Surowiec zielarski

Materiał badawczy stanowiły dwa podgatunki lebiodki pospolitej (*Origanum vulgare* L.), ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*, nazywane oregano greckim. Ziele pozyskiwano z upraw własnych prowadzonych w latach 2015-2018, obejmujących dwa trzyletnie cykle uprawy (lata 2015-2017 i 2016-2018) obu podgatunków. Uprawa lebiodki przebiegała zgodnie z zasadami podanymi przez Kołodziej (2018).

Materiał siewny pochodził z firmy Vilmorin, ze sprzedaży detalicznej. Nasiona wysiano pod koniec marca w szklarni, w multiplotach. Na przełomie maja i czerwca rozsadę sadzono wprost na pole, w rozstawie 30 cm w rzędzie i 50 cm między rzędami. Poletka uprawowe (po 3 dla każdego podgatunku) miały powierzchnię 5,0 m².

Ziele lebiodki zbierano ręcznie w fazie kwitnienia, gdy do ok. 50% kwiatów było otwartych (Grevsen i in. 2009). Zebrane ziele ważono i oceniano jego plon z 1 m². Następnie materiał poddawano naturalnemu suszeniu, w cienkich warstwach, w zaciemnionych i przewiewnych pomieszczeniach Katedry Ogrodnictwa ZUT w Szczecinie. Po wysuszeniu materiał był składowany w papierowych torbach, w suchych, ciemnych, chłodnych pomieszczeniach. Powietrznie suche ziele stanowiło surowiec, z którego otrzymywano:

- sproszkowany susz – powietrznie suche ziele rozdrabniano w młynku laboratoryjnym (WŻ-1) i przesiewano przez sito o średnicy oczka 2 mm (Sahin i in. 2004); ziele rozdrabniano sukcesywnie, w miarę potrzeb, a sproszkowany susz przed użyciem przechowywano w ciemnym, chłodnym pomieszczeniu (Askarne i in. 2012);
- wywar – sporządzano z powietrznie suchego, rozdrobnionego ziela stosując proporcję „susz : woda destylowana” wynoszącą 1:10 (wag./obj.); składniki (40 g suszu i 400 cm³ wody dest.) wprowadzano do kolby (poj. 1 dm³) i gotowano 1h pod chłodnicą zwrotną, po ostudzeniu filtrowano przez bibułę Whatman nr 1 (Özcan i Boyraz 2000);
- olejek eteryczny – wyodrębniano z suszu metodą hydrodestylacji (PN-EN 6571:2009, Farmakopea Polska VIII, 2008).

Warzywa korzeniowe

W przeprowadzonych w pracy doświadczeniach przechowalniczych wykorzystano korzenie marchwi ‘Major F₁’ i pietruszki korzeniowej ‘Hanacka’ z uprawy własnej w 2016 roku oraz korzenie marchwi ‘Romance F₁’ i pietruszki ‘Berlińska’, które zakupiono w październiku 2017 roku u producenta warzyw. Nasiona marchwi ‘Major F₁’

i pietruszki korzeniowej ‘Hanacka’ pochodziły ze sprzedaży detalicznej, z firmy Vilmorin. Wysiewano je na początku maja 2016 roku, stosując 30 cm rozstawy między rzędami. Przestrzegano zasad uprawy warzyw korzeniowych, zgodnie z zaleceniami Adamczewskiej-Sowińskiej (2000), Poniedziałek (2000) oraz Górnickiego i in. (2017). Korzenie marchwi i pietruszki zebrano ręcznie w drugiej połowie października.

Rośliny ozdobne

Materiał kwaciarski stanowiły kwiatostany wyżlinu większego (lwiej paszczy) ‘Commandier’. Nasiona zakupiono w firmie PlantiCo. Uprawę wyżlinu prowadzono w latach 2016 i 2017 zgodnie z zaleceniami Świdzińskiej (2000). Nasiona wysiewano do szklarni na początku marca. W połowie kwietnia prowadzono pikowanie roślin, a w połowie maja sadzono rozsadę wprost na pole, w rozstawie 20 cm w rzędzie i 30 cm między rzędami. Cięte kwiaty wyżlinu większego zbierano w połowie lipca.

Uprawę oregano i warzyw korzeniowych prowadzono w Warzywniczej Stacji Badawczej w Dołujach, należącej do Katedry Ogrodnictwa Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, a uprawę wyżlinu większego na poletkach doświadczalnych przy Hali Wegetacyjnej należącej do wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa ZUT.

W badaniach *in vivo* wykorzystano też pochodzące z zakupu owoce truskawek ‘Senga Sengana’ i ‘Roxana’ oraz śliwki ‘Węgierka Zwykła’, a także pomidory typu *cherry* i korzenie marchwi ‘Perfekcja’ krajowych producentów

Materiał mikrobiologiczny

W badaniach aktywności przeciwgrzybowej wykorzystano 8 szczepów grzybów pleśniowych: *Alternaria* sp., *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium cyclopium*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichotecium roseum*, które przechowywano na skosach z podłożem Malt Extract Agar – MEA (Basilico, Basilico 1999, Gumus i in. 2010).

W badaniach aktywności antybakteryjnej olejków obu podgatunków użyto trzech szczepów bakterii: G(-) – *Escherichia coli* i oraz G(+) – *Enterococcus faecalis* i *Bacillus* sp. Przechowywano je na skosach z podłożem Tryptone Soya Agar – TSA (De Falco i in. 2013).

Szczepy grzybów pleśniowych oraz bakterii pochodziły z kolekcji własnej Katedry Ogrodnictwa ZUT w Szczecinie oraz z zakupu z kolekcji Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej i Banku Patogenów Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu. Szczepy przechowywano w

szafie chłodniczej laboratoryjnej (S-1200, Danfoss, Germany) w temperaturze $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Gumus i in. 2010).

4.2. Zakres i metody badań

Realizując przyjęte cele pracy w latach 2015-2018 wykonano:

1. Coroczne badania plonu świeżego ziele *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare* i zawartości w nim suchej masy oraz coroczne badania składu chemicznego powietrznie suchego ziele (zawartość suchej masy, olejku eterycznego, cukrów ogółem, polifenoli ogółem) i aktywność antyutleniającą (zdolność do neutralizacji rodników DPPH) obu podgatunków;
2. Coroczne badania składu jakościowego olejków obu podgatunków;
3. Coroczne badania *in vitro*: a) aktywności przeciwgrzybiczej olejków, sproszkowanego suszu i wywarów otrzymanych z ziele obu podgatunków lebiodki – z roślin pierwszego roku wegetacji (z lat 2015 i 2016) oraz z roślin drugiego i trzeciego roku wegetacji (odpowiednio lata 2016 i 2017 oraz 2017 i 2018); w pracy przyjęto dla uproszczenia określenie „ziele roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich”; b) aktywności przeciwbakteryjnej olejków obu podgatunków, z ziele roślin dwuletnich (z 2016 roku).

4.2.1. Badania *in vitro*

W badaniach *in vitro* wykorzystano trzy metody: dyfuzyjną krążkową, rozcieńczeniową i „zatrutego podłoża”.

Metoda dyfuzyjna krążkowa. Wykorzystano ją do oceny aktywności przeciwgrzybowej olejków eterycznych oraz określenia ich aktywności przeciwbakteryjnej. Badania przeprowadzono zgodnie z postępowaniem opisanym przez Tepe i in. (2005). Aktywność przeciwgrzybową oceniono wobec 8 szczepów grzybów. Hodowle grzybów prowadzono na podłożu agarowym Malt Extract Agar (MEA) (Rakotonirainy i Lavedrine 2005, Peéiulytë 2005). Sterylne podłoże o temperaturze ok. 40°C rozlewano na jałowe płytki Petriego o średnicy 90 mm. Po zestaleniu podłoża, przy pomocy sterylnej głaszczki rozprowadzono na jego powierzchni 100 μl zawiesiny, sporządzonej z siedmiodniowych hodowli danego szczepu, prowadzonych w temperaturze 25°C na skosach z podłożem MEA (kolonie na skosach zalewano 8 cm^3 sterylnego płynu do rozcieńczeń z dodatkiem 0,25 % Tween 20, wytrząsano przez 20 minut na wytrząsarce MS 3 Digital przy 700 obr./min.; w 1 cm^3 zawiesiny liczba jednostek tworzących kolonie wynosiła 10^5 - 10^6 – Basilico, Basilico 1999). W centralnym miejscu zaszczipionych zawiesiną płytek umieszczano jałowy krążek bibułowy o średnicy 6 mm (firmy Emapol), który nasączono określoną dawką (10, 5 lub 1 μl) danego

olejku. Jako kontrolę pozytywną zastosowano fungicyd Topsin M 500 SC oraz nystatynę – 100 jednostek/krażek (firmy Emapol), a kontrolę negatywną stanowiła woda destylowana z dodatkiem 0,25 % Tween 20. Płytki umieszczone w szczelnych pojemnikach, inkubowano w szafach termostatycznych (OS-WI Pol-Eko Aparatura) w temperaturze 25 ± 1 °C. Przez trzydzieści dni, mierzono (w mm) co trzy dni średnice stref zahamowania wzrostu danego szczepu grzyba uwzględniając średnicę krążka (6,0 mm). Wyniki pomiarów przedstawiono w mm, jako średnią z trzech powtórzeń.

Badania aktywności przeciwbakteryjnej olejków przeprowadzono w podobny sposób, stosując podłoże Tryptone Soya Agar do hodowli bakterii na płytkach Petriego, a do namnożenia bakterii wykorzystano podłoże Tryptone Soya Broth (De Falco i in. 2013). Dawka olejku na krążek wynosiła 10 μ l. Jako kontrolę pozytywną zastosowano ampicillinę – 10 μ g/krążek (Emapol), a kontrolę negatywną stanowiła sterylna woda destylowana. Hodowle bakteryjne prowadzono 72 h w temperaturze 30 °C. Po tym czasie mierzono średnice zahamowania wzrostu bakterii. Wyniki przedstawiono w mm, jako średnie z trzech powtórzeń.

Metoda rozcieńczeniowa z mikropłytkami. Kierując się poziomem aktywności przeciwgrzybowej olejów, wykazywanej z zastosowaniem metody krążkowej, w badaniach metodą rozcieńczeniową użyto olejki ssp. *hirtum*. Wyznaczono dla nich minimalne stężenie hamujące wzrost grzybów – MIC (ang. Minimal Inhibitory Concentration) oraz minimalne stężenie grzybobójcze – MFC (ang. Minimal Fungicidal Concentration). Postępowano zgodnie z metodyką opisaną dla metody rozcieńczeniowej z mikropłytkami przez (Sahin i in. 2004). Do zagłębienia w sterylnej mikropłytkce z polisulfonu wprowadzono 95 μ l pożywki płynnej Malt Extract Broth (MEB), 5 μ l zawiesiny zarodników danego szczepu oraz 100 μ l olejku o określonym stężeniu (od 20 do 0,32 μ l \cdot cm⁻³). Roztwór wyjściowy olejku, o koncentracji 40 μ l \cdot cm⁻³, sporządzono wykorzystując 10% metanolowy roztwór dimetylosulfotlenku (DMSO, Sigma-Aldrich). Dalsze rozcieńczenia, w podłożu MEB z dodatkiem 0,25% Tween 20, otrzymano z roztworu wyjściowego, metodą 2-krotnych rozcieńczeń. Jako kontrolę stosowano MEB z dodatkiem 0,25% Tween 20. Po zamknięciu mikropłytek, mieszano ich zawartość (30 sek.) na wyrzäsarce MS 3 Digital (300 obr./min.). Hodowle prowadzono w temperaturze 25 ± 1 °C przez 3-4 doby, obserwując pojawienie się zmętnienia pożywki świadczącej o rozwoju grzybni. Zawartość mikropłytek, w których nie odnotowano wzrostu grzybni, przesiewano na płytki Petriego z podłożem MEA, w celu sprawdzenia wyniku. Po przesianiu hodowle prowadzono w temperaturze 25 ± 1 °C przez 72 h. Za wartość MIC

przyjęto najmniejsze stężenie olejku eterycznego ($\mu\text{l} \cdot \text{ml}^{-1}$), które spowodowało jedynie czasową inhibicję wzrostu (po przesianiu na MEA pojawiał się ograniczony wzrost w postaci pojedynczych kolonii), a za MFC – najmniejsze stężenie, w którym odnotowano całkowite wstrzymanie wzrostu grzyba po przesianiu na MEA. Wartości MIC i MFC wyrażano w $\mu\text{l} \cdot \text{cm}^{-3}$.

Metoda zatrutego podłoża. Metodę zastosowano do oceny aktywności przeciwgrzybowej suszy i wywarów sporządzonych z ziela obu podgatunków. Doświadczenia przeprowadzono kierując się sposobem postępowania opisanym przez Askarne i in. (2012). Hodowle grzybów prowadzono na podłożu MEA. Do podłoża susze dodawano w ilości 1%, a wywary: z roślin jednorocznych – 30%, a z dwu- i trzyletnich 15%. Kontrolę stanowiły podłoża bez dodatku suszu i wywaru. Płytki szczepiono centralnie stosując 5 μl zawiesiny zarodników, otrzymanej w sposób opisany powyżej. Zaszczepione grzybnią płytki inkubowano przez 6 dni w temperaturze $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Po tym czasie mierzono średnice wyrosłych kolonii. Aktywność przeciwgrzybową suszu i wywarów wyrażano jako % inhibicji wzrostu kolonii, który obliczano zgodnie z formułą: $I = [(C - T)/C] \cdot 100$, gdzie: I – inhibicja wzrostu [%], C – średnica kolonii na płytkach kontrolnych [mm], T – średnica kolonii na płytkach testowych [mm].

4.2.2. Badania *in vivo*

Przeprowadzono trzy rodzaje doświadczeń *in vivo*:

I. Ocena wpływu fumigacji olejkami ssp. *hirtum* na:

a) rozwój *B. cinerea* na sztucznie infekowanych owocach śliwek ‘Węgierka Zwykła’ oraz owocach truskawek ‘Senga Sengana’ i ‘Roxana’ (lata 2016 i 2017);

b) rozwój *Alternaria* sp. na celowo zainfekowanych owocach pomidora *cherry* przechowywanych (rok 2018);

c) rozwój *S. sclerotiorum* na sztucznie zainfekowanych korzeniach marchwi ‘Perfekcja’ (rok 2017).

Doświadczenia przeprowadzono kierując się metodami opisanymi w literaturze (Dikbas i in. 2008, Aminifard i Mohammadi 2013, Chen i in. 2014). Na powierzchniowo zdezynfekowanych surowcach (Dikbas i in. 2008) świeżych, zdrowych i mechanicznie nieuszkodzonych, wykonano przy pomocy sterylnych ostrzy (Swann-Morton, rozmiar 11) nacięcia na głębokość ok. 2 mm (po jednym na owocach śliwek, truskawek i pomidorach *cherry*, a trzy wzdłuż korzeni marchwi). W miejscu celowej infekcji umieszczano fragment grzybni o wymiarach 3x3 mm, pochodzącej z marginalnej, zarodnikującej strefy 7-dniowej kolonii danego szczepu grzyba. Zainfekowane owoce

umieszczano na jałowych, szklanych szalkach przygotowując 6 porcji po 10 sztuk w przypadku owoców i pomidorów oraz 6 porcji po 3 sztuki korzeni marchwi. Następnie połowę tak przygotowanych surowców przechowywano w szczelnych pojemnikach (o objętości 5 dm³) poddając je działaniu oparów olejku ssp. *hirtum*, w koncentracji 100 µl·dm⁻³ pojemnika (Wang 2003), a drugą połowę w takich samych pojemnikach, w normalnej atmosferze (kontrola). Owoce truskawek i śliwek przechowywano w temperaturze otoczenia (odpowiednio 3 dni oraz 7 dni) i w temperaturze 5 °C (10 dni truskawki i 28 dni śliwki). Pomidory *cherry* i korzenie marchwi ‘Perfekcja’ przechowywano 7 dni w temperaturze otoczenia. Równolegle, w opisanych warunkach i podanym czasie, przechowywano zdrowe surowce niepoddane celowej infekcji, traktowane i nietraktowane fumigacją olejkami, które wykorzystano do oceny wpływu olejku na zawartość składników chemicznych.

II. Doświadczenia przechowalnicze (lata 2016 i 2017) mające na celu ocenę wpływ olejku i wywaru ssp. *hirtum* na zmiany liczby naturalnej mikrobioty (bakterii i grzybów pleśniowych) obecnej w zdrowych korzeniach marchwi (‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’) i pietruszki (‘Hanacka’ i ‘Berlińska’). Olejek stosowano jako fumigant (dawka 100 µl · dm⁻³ objętości pojemnika do przechowywania), a wywar (o stężeniu 30%) użyto przed przechowywaniem, do zanurzenia i przetrzymania w nim (10 minut) korzeni, które następnie powietrznie wysuszono i poddano przechowywaniu. Wywar zastosowano kierując się procedurą opisaną dla owoców przez Gupta i Jain (2014) oraz Malik i in. (2015). Do przechowywania użyto korzenie zdrowe, świeże, nieuszkodzone, oczyszczone, ale niemyte. Dla każdego wariantu doświadczenia (korzenie traktowane olejkami, wywarem i kontrolne) przygotowano po 3 pojemniki, z których każdy zawierał po 10 korzeni. W 2016 w doświadczeniu wykorzystano korzenie marchwi ‘Major F₁’ i pietruszki ‘Hanacka’, a w 2017 roku marchew ‘Romance F₁’ i pietruszkę ‘Berlińska’. Materiał przechowywano 2 miesiące w temperaturze 5°C i wilg. wzgl. ok. 90%. Na początku i na końcu okresu przechowywania zbadano metodą posiewu (Serrano i in. 2005) ogólną liczbę bakterii na podłożu Plate Count Agar (PCA) oraz grzybów pleśniowych na podłożu Rose Bengal Agar (RBA) z chloramfenikolem. Liczbę drobnoustrojów (średnia z trzech powtórzeń) wyrażano jako log jtk · g⁻¹. Przed- i po przechowywaniu zbadano też skład chemiczny korzeni.

Badania składu chemicznego owoców i warzyw użytych w doświadczeniach 1 i 2 obejmowały: zawartość suchej masy, ekstraktu ogólnego, cukrów ogółem, polifenoli ogółem, kwasowość ogólną (w owocach truskawek, śliwek i pomidorach *cherry*),

karotenoidy ogółem (w korzeniach marchwi), zawartość witaminy C (w truskawkach, pomidorach *cherry* i korzeniach pietruszki) oraz błonnika surowego (w korzeniach marchwi i pietruszki).

III. Ocena wpływu olejku i wywaru z ssp. *hirtum* na trwałość pozbiorną ciętych kwiatów wyżłinu większego.

W doświadczeniu wykorzystano olejki i wywary pochodzące z roślin dwuletnich, tj. z 2016 i 2017 roku. Przebieg doświadczenia opracowano zgodnie z procedurą podaną przez Kazemi i Ameri (2012) oraz Dareini i in. (2014). Kwiatostany wyżłinu większego zbierano w fazie 1-3 rozwiniętych kwiatów. Cztery zważone kwiatostany umieszczano w szklanych pojemnikach („wazonach”), w wodnych roztworach olejku ssp. *hirtum* o stężeniu 50, 100 i 150 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ oraz wodnych roztworach wywaru z ssp. *hirtum* (o stężeniu 2,5 i 5,0%). Kontrolę stanowiły kwiatostany umieszczone w wodzie destylowanej. Roztwory olejków, wywarów i wariant kontrolny zawierały dodatek (0,08%) Tween 20. Objętość roztworów wynosiła 250 cm^3 . W każdym z wariantów przygotowano po trzy powtórzenia tj. 3 x po 4 kwiatostany/wazon. Wazony z kwiatami przechowywano w temperaturze pokojowej. W miarę potrzeby, roztwory uzupełniano określoną ich objętością. Na podstawie zdolności kwiatów do rozwoju oceniono ich czas „trwałości wazonowej” (Khenizy i in. 2014), ubytek masy kwiatostanów (jako % w stosunku do masy początkowej) oraz ubytek roztworu (w cm^3) świadczący o jego pobraniu.

4.2.3. Metody badań chemicznych

1. Zawartość olejku eterycznego w powietrznie suchym ziele suszu – metoda hydrodestylacji (PN-EN 6571:2009, Farmakopea Polska VIII, 2008). Zawartość olejku podano w procentach objętościowych w przeliczeniu na suchą masę powietrznie suchego ziele. Wyodrębnione olejki, stosowane w doświadczeniach *in vitro* i *in vivo*, przechowywano w szafie chłodniczej S-1200 w $4\pm 1^\circ\text{C}$, w ciemnych fiolkach nad warstwą bezwodnego Na_2SO_4 , dodawanego w celu związania resztek wody (Goncareiuc i in. 2015).

2. Skład ilościowo-jakościowy olejków – metoda chromatografii gazowej, przy wykorzystaniu chromatografu Varian Chrompack CP-3800 w połączeniu z detektorem masowym (Varian 4000 GC/MS/MS) i detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Analizy były prowadzone w następujących warunkach: temperatura 50°C przez 1 min., narost z szybkością ($4^\circ\text{C}/\text{min.}$) do 250°C (przez 10 min.), kolumna-VF-5ms, gaz nośny – hel, przepływ stały 0,5 ml/min., dozownik – temperatura 250°C , Split 1:100, dozowano

– 1 µl roztworu (10 µl próby w 1000 µl heksanu), indeksy retencji Kovats'a wyznaczono w oparciu o szereg alkanów C₆-C₄₀ (Van Den Dool i Kratz 1963).

3. Sucha masa – metoda suszarkowo-wagowa, suszenie do stałej masy w temperaturze 105°C (Kerłowska-Kułas 1993);

4. Cukry ogółem – metoda Luffa-Schoorla (Kerłowska-Kułas 1993);

5. Witamina C jako kwas L-askorbinowy – metoda Tillmansa (Kerłowska-Kułas 1993);

6. Karotenoidy ogółem – metoda Lichtenthaler'a i Wellburn'a (1983). Odważone próbki rozcierano w moździerzu z niewielką ilością 80-procentowego acetonu i przenoszono ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 cm³. Mierzono absorbancję odwirowanego wyciągu w spektrofotometrze przy długościach fal: λ = 441 nm, λ = 646 nm, λ = 663 nm. Zawartość karotenoidów ogółem (w mg·kg⁻¹ ś.m.) obliczano według wzoru: [(1000 × E₄₄₁) - 3,27 × (12,21 × E₆₆₃ - 2,81 × E₆₄₆) - 104 × (20,13 × E₆₄₆ - 5,03 × E₆₆₃)] × [(V/m × 229)], gdzie E – absorbancja przy określonej długości fali, V – objętość kolby miarowej [cm³], m – masa próbki [g].

7. Błonnik surowy – metoda Kurschnera-Scharrera (Klepacka 1996).

8. Polifenole ogółem – metoda spektrofotometryczna, z zastosowaniem odczynnika Follin-Ciocalteu (Singleton i in. 1999). Metoda polega na redukcji zawartego w odczynniku Follina-Ciocalteu'a molibdenu(VI) do molibdenu(V) przez związki fenolowe obecne w badanej próbce, w wyniku czego powstaje niebieski związek. Pomiaru intensywności zabarwienia próbek dokonywano w spektrofotometrze przy długości fali λ=750 nm. Do sporządzenia krzywej wzorcowej używano roztworu kwasu galusowego (Modnicki i Balcerek 2009). Zawartość polifenoli ogółem wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy jako % suchej masy.

9. Aktywność antyoksydacyjna jako % redukcji rodników DPPH* (Yen i Chen 1995, Rossi i in. 2003). Nawązkę (200 mg) rozdrobnionego, powietrznie suchego ziela wprowadzano do kolby i uzupełniano metanolem do objętości 100 cm³. Ekstrakcję prowadzono 15 min. w płuczce ultradźwiękowej (Polsonic 6D), po czym pobierano z kolby 7 cm³ i odwirowywano na wirówce MPW 250. Mieszanina reakcyjna zawierała 1 cm³ odwirowanej próby (doprowadzonej do rozcieńczenia 1000x), 1 cm³ roztworu DPPH (0,012 g przenoszono metanolem do kolby miarowej i uzupełniano do 100 cm³) oraz 3 cm³ metanolu. Tak sporządzone próbki zabezpieczano przed działaniem światła. Pomiar ekstynkcji prowadzono po 10 minutach, przy długości fali 517 nm, wobec metanolu. Inhibicję rodników DPPH obliczano wg formuły:

$$(\%) \text{ inhibicji DPPH} = 100 - (At/Ar \cdot 100)$$

gdzie At – ekstynkcja próby badanej, Ar – ekstynkcja próby referencyjnej (w miejsce próby badanej do mieszanki reakcyjnej wprowadzano wodę destylowaną).

W badaniach stosowano odczynniki firmy Chempur (Polska). Wszystkie pomiary spektrofotometryczne prowadzono w spektrofotometrze Helios- γ (Thomas Scientific, USA). Badania laboratoryjne mikrobiologiczne i chemiczne przeprowadzono w Katedrze Ogrodnictwa ZUT w Szczecinie. Oznaczenia ilościowo-jakościowe olejków eterycznych wykonane zostały w Centralnym Laboratorium Agroekologicznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

4.2.4. Opracowanie statystyczne wyników badań

Uzyskane wyniki badań opracowano statystycznie, przy zastosowaniu analizy wariancji jedno- lub dwuczynnikowej, korzystając z programu FR-ANALWAR-4.3 opartego na arkuszu Excel 7 (Microsoft). Istotność różnic między średnimi wyznaczono za pomocą testu Tukey'a przy poziomie istotności $p=0,05$.

4.3. Warunki meteorologiczne i glebowe w trakcie uprawy

4.3.1. Warunki meteorologiczne

Stacja badawcza Katedry Ogrodnictwa w Dołujach, w której uprawiano rośliny zielarskie i warzywnicze należy do krainy VI nazywanej Pyrzycko-Goleniowską (Koźmiński i in. 2012) lub regionem Zachodniopomorskim (Woś 1999). Charakteryzuje się on łagodnym klimatem ze znaczną liczbą dni słonecznych. W regionie tym roczne usłonecznienie rzeczywiste kształtuje się na poziomie 1550 godzin, a średnia temperatura roczna powietrza wynosi 8-8,5 °C. Dni mroźne i z przymrozkiem pojawiają się stosunkowo rzadko. Najchłodniejszym miesiącem jest styczeń (-0,6 do -1,2°C), a najcieplejszym lipiec (17,4-17,8°C). W ciągu roku występuje przeciętnie 110-115 dni bez opadów atmosferycznych. Suma opadów wynosi 490-650 mm, przy czym największa (60-70 mm) w lipcu, a najmniejsza (30-40 mm) w lutym. Okres wegetacyjny w tym regionie trwa od 210 do 220 dni (Koźmiński i in. 2012).

Warunki pogodowe panujące w rejonie Szczecina w latach prowadzenia badań (2015-2018), zanalizowano na podstawie danych pozyskanych ze Stacji Hydrologiczno-Meteorologicznej w Szczecinie Dąbiu, uwzględniając średnie miesięczne temperatury i sumę opadów (tab. 1) oraz średnie usłonecznienie rzeczywiste (tab. 2) na tle średnich wartości tych wskaźników dla wielolecia (1961-2000).

W każdym roku prowadzenia upraw najcieplejszym miesiącem był sierpień (rok 2015, 2017 i 2018) lub lipiec (rok 2016, 2018), zaś najchłodniejszym miesiącem był styczeń (rok 2016, 2017) lub luty (rok 2015, 2018) (tab.1). Jedynie w roku 2015 wszystkie

miesiące charakteryzowały się dodatnimi średnimi temperaturami dobowymi. We wszystkich latach prowadzenia upraw, średnie temperatury roczne oraz średnia temperatura w latach 2015-18 były większe niż średnia temperatura w wieloleciu.

Tabela 1. Charakterystyka warunków termiczno-wilgotnościowych w latach uprawy lebidki pospolitej

Miesiąc	2015	2016	2017	2018	Średnia dla lat 2015-2018	Średnia dla wielolecia (1961-2000)
Temperatura (°C)						
I	2,8	-0,9	-0,7	2,7	1,0	-0,5
II	1,4	3,7	1,6	-1,8	1,2	-0,1
III	5,7	4,3	6,7	0,5	4,3	3,5
IV	8,7	8,8	7,4	12,3	9,3	7,5
V	12,7	15,7	14,1	16,6	14,8	13,0
VI	15,6	18,5	17,2	18,5	17,5	16,2
VII	18,6	19,0	17,7	20,0	18,8	17,9
VIII	21,1	17,8	18,2	20,0	19,3	17,6
IX	14,1	16,8	13,6	15,4	15,0	13,7
X	8,5	8,6	11,2	10,3	9,7	9,1
XI	7,1	3,9	5,8	4,7	5,4	5,3
XII	6,7	3,1	3,4	3,9	4,3	1,2
Średnia	10,3	9,9	9,7	10,3	10,1	8,7
Opady (mm)						
I	58,8	27,0	29,5	71,4	46,7	38,6
II	4,0	40,6	37,7	5,5	22,0	25,7
III	39,7	28,1	38,1	42,9	37,2	34,8
IV	29,0	20,2	42,2	26,8	29,6	37,2
V	102,0	18,9	90,8	22,5	58,6	49,8
VI	32,8	69,0	132,7	15,0	62,4	59,2
VII	62,0	50,0	192,5	92,8	99,3	60,2
VIII	14,7	47,8	43,8	21,4	31,9	53,8
IX	34,4	18,3	30,4	16,3	24,9	45,9
X	38,5	55,3	93,9	20,2	52,0	37,5
XI	48,8	40,3	74,3	11,5	43,7	45,1
XII	27,0	57,5	34,4	54,8	43,4	44,4
Suma opadów	491,7	468,4	839,8	401,1	551,7	532,2

Najwyższe oraz najniższe sumy opadów zanotowano w różnych miesiącach w zależności od sezonu wegetacyjnego (tab. 1). Opady najwyższe miały miejsce w maju (2015 r.), czerwcu (2016 r.) i lipcu (2017 i 2018 r.), natomiast najniższe w styczniu (2017 r.), lutym (2015 i 2018 r.) i wrześniu (2016 r.). Na podstawie klasyfikacji opadowej opracowanej przez Kaczorowską (1962), lata 2016 i 2018 określono jako suche, rok 2015 jako przeciętny, natomiast rok 2017 jako skrajnie wilgotny. Poniżej przedstawiono

klasyfikację opadową dla pór roku w latach 2015-2018 w układzie wiosna (III-V), lato (VI-VIII), jesień (IX-XI), zima (XII-II):

2015 r. – bardzo wilgotna, bardzo suche, przeciętna, sucha;

2016 r. – bardzo sucha, przeciętna, sucha, wilgotna;

2017 r. – bardzo wilgotna, skrajnie wilgotne, skrajnie wilgotna, przeciętna;

2018 r. – sucha, bardzo suche, skrajnie sucha, wilgotna.

W latach 2015-2018 rzeczywiste usłonecznienie (tab. 2) było we wszystkich miesiącach większe niż w miesiącach wielolecia 1961-2000 r. Najmniejsze usłonecznienie rzeczywiste było w 2017 roku, a największe w roku 2018 roku.

Na podstawie danych zamieszczonych w tabelach 1 i 2, można stwierdzić, że w roku 2016 i 2015 panowały stosunkowo korzystne warunki dla wegetacji roślin, rok 2018 był skrajnie suchy i gorący, z bardzo wysokim usłonecznieniem, natomiast 2017 rok był skrajnie wilgotny i najchłodniejszy w okresie 2015-2018, z usłonecznieniem rocznym najbardziej zbliżonym do odnotowanego w wieloleciu 1961-2000.

Tabela 2. Usłonecznienie (h) w latach 2015-2018 na tle wielolecia

Miesiące	2015	2016	2017	2018	Średnia z lat 2015-2018	Średnia z wielolecia (1961-2000)
I	27,9	56,4	50,8	30,7	41,5	32,0
II	111,0	62,3	66,4	126,7	91,6	57,0
III	124,6	117,0	142,8	140,1	131,1	102,0
IV	226,3	200,4	143,2	257,6	206,9	151,0
V	249,4	287,8	240,3	349,8	281,8	229,0
VI	191,3	267,7	215,5	253,6	232,0	231,0
VII	221,2	196,4	197,1	301,0	228,9	220,0
VIII	311,6	217,8	229,1	269,2	256,9	207,0
IX	185,7	256,0	130,6	204,0	194,1	127,0
X	-	43,1	96,4	170,6	103,4*	94,0
XI	39,1	62,4	50,2	66,9	54,7	40,0
XII	50,6	48,7	33,7	13,5	36,6	27,0
Suma	1738,7	1816,0	1596,1	2183,7	1859,5	1517,0

- brak danych

4.3.2. Warunki glebowe w czasie uprawy

Dołuje położone są na obszarze gminy Dobra Szczecińska, w okolicach Wzniesień Szczecińskich (312.26), na zachodnim skraju Wału Stobniańskiego (na wysokości ok. 50 m. n. p. m.). Na terenie poletek doświadczalnych występują gleby murszaste, czarne ziemie właściwe oraz gleby opadowo-glejowe właściwe. Analizując mapy glebowo-rolnicze gminy Dobra Szczecińska gleby te zaklasyfikowano do klasy bonitacyjnej III b, która oznacza kompleks pszeny dobry (Mikiciuk 2000). Rośliny

uprawiano na glebie pobagiennej czarnych ziem właściwych. Mikiciuk (2000) wykazał, że gleba ta miała najlżejszy skład mechaniczny (pł-pgm) spośród gleb występujących na terenie stacji badawczej, charakteryzuje się dobrą przepuszczalnością wody i najmniejszą pojemnością wodną aktualną. Pojemność wodna całkowita i kapilarna tej gleby zmniejszała się w głąb profilu glebowego, wzrastając nieco na poziomie glejowym. Poziom wód gruntowych na terenie stacji badawczej był wysoki, znajdował się na głębokości 95 cm. Gleba ta powinna mieć uregulowane stosunki wodne.

Zalecane dawki nawozów mineralnych (NPK), ustalono na podstawie analiz chemicznych gleby przeprowadzonych przed okresem wegetacyjnym w Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Szczecinie (tab. 3). W analizowanej glebie stężenie soli wahające się od 0,27 do 0,37 g NaCl dm⁻³ uznano za niskie, gdyż zdaniem IUGN (1990) maksymalnie zasolenie gleb lekkich i średnich przed wykonaniem siewu roślin uprawnych wynosi 1,0 g NaCl dm⁻³, zaś na początku cyklu uprawowego roślin 1,5 g NaCl dm⁻³.

Tabela 3. Zawartość składników mineralnych w próbach gleby pobranych z pola doświadczalnego

Parametr		Lata analiz			
		2015	2016	2017	2018
pH w H ₂ O		7,4	8,0	7,7	7,6
Zasolenie [g NaCl·dm ⁻³]		0,32	0,27	0,37	0,29
Składnik [mg·dm ⁻³ gleby]	N-NO ₃	64	16	24	16
	P	114	104	112	132
	K	163	149	138	102
	Ca	4775	4260	6933	3887
	Mg	153	177	154	203
	Cl	14	16	10	13

Za prawidłowy poziom składników pokarmowych w 1 dm⁻³ gleby w uprawie lebiodki, zgodnie z zaleceniami Kołodziej (2018), przyjęto: 60 kg N/ha, 80-100 kg P₂O₅/ha, 80-100 kg/ha K₂O. W każdym roku i cyklu uprawy stosowano przed sadzeniem nawożenie mineralne NPK z użyciem nawozu wieloskładnikowego Yara Hydro Complex. Uprawy zasilano również tym nawozem po ścięciu ziela oregano.

5. Wyniki

5.1. Plon i skład chemiczny i aktywność przeciwutleniająca ziela lebiodki pospolitej

Plon ziela jednorocznych, dwu- i trzyletnich roślin, badanych podgatunków lebiodki pospolitej, przedstawiono w tabeli 4. Wyniki wskazują, że okresie wielolecia (2015-2018) plon ziela podgatunku ssp. *vulgare* mieścił się w zakresie 0,44-4,58 kg·1m⁻², a podgatunku ssp. *hirtum* wynosił 0,67-3,21 kg·1m⁻². Średni plon ziela ssp. *vulgare* był większy, niż ssp. *hirtum* zarówno w wieloleciu (odpowiednio 2,34 i 1,65 kg·1m⁻²), jak też w każdym roku uprawy roślin dwu- i trzyletnich. Z kolei w przypadku roślin jednorocznych w każdym roku uprawy uzyskano około dwukrotnie większy plon ziela ssp. *hirtum* niż ssp. *vulgare*. W grupie roślin jednorocznych plon ziela każdego z podgatunków, w latach 2015 i 2016 utrzymywał się na podobnym poziomie, natomiast w grupie roślin dwu-, a zwłaszcza trzyletnich, był zróżnicowany w zależności od roku uprawy. Dla obu podgatunków największy średni plon ziela uzyskano z roślin dwuletnich – 4,31 i 2,44 kg·1m⁻², odpowiednio dla ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*, a najmniejszy z roślin jednorocznych – odpowiednio 0,47 i 1,01 kg·1m⁻².

Tabela 4. Plon ziela lebiodki (kg·1m⁻²) w zależności od podgatunku i roku wegetacji roślin

Podgatunek	Rośliny jednoroczne			Rośliny dwuletnie			Rośliny trzyletnie			Średnia dla wielolecia
	2015	2016	Średnia	2016	2017	Średnia	2017	2018	Średnia	
ssp. <i>vulgare</i>	0,50	0,44	0,47	4,58	4,03	4,31	3,51	0,98	2,25	2,34
ssp. <i>hirtum</i>	1,01	1,01	1,01	3,21	1,67	2,44	2,34	0,67	1,51	1,65

Zawartość składników oznaczonych w ziele lebiodki obu podgatunków przedstawiono w tabelach 5 i 6. W świeżym ziele ssp. *vulgare* (tab. 5) zawartość suchej masy mieściła się w przedziale 25,27-31,96% i w obrębie roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich była istotnie zróżnicowana w zależności od roku uprawy. Średnia zawartość suchej masy w ziele roślin trzyletnich (31,47%) była istotnie większa, niż w jednorocznych i dwuletnich, w których była do siebie zbliżona. Z kolei w powietrze suchym ziele ssp. *vulgare* roślin jedno-, dwu- i trzyletnich, średnia zawartość suchej masy nie różniła się istotnie (90,24-90,69%), ale w obrębie każdej z tych grup roślin, istotne różnice zawartości suchej masy występowały w zależności od roku uprawy. Dlatego w celu zobiektywizowania wyników zawartość pozostałych badanych składników przedstawiono w przeliczeniu na suchą masę ziela powietrze suchego. Zawartość cukrów ogółem wahała się od 8,86 do 13,77 g·100g⁻¹ s.m. Średnia ich zawartość była

istotnie większa w powietrnie suchym ziele z roślin trzyletnich ($12,57 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ s.m.}$), niż z jednorocznych i dwuletnich, w których była do siebie zbliżona ($9,53$ i $9,79 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ s.m.}$). Rok uprawy miał istotny wpływ na zawartość cukrów ogółem w powietrnie suchym ziele roślin dwu- i trzyletnich.

Tabela 5. Skład chemiczny ziele *O. vulgare* L. ssp. *vulgare*

Składnik	Rośliny jednoroczne		Rośliny dwuletnie		Rośliny trzyletnie	
	2015	2016	2016	2017	2017	2018
1. Sucha masa ziele świeżego [%]	26,56	28,29	25,27	30,35	30,98	31,96
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,588		1,059		0,601	
Średnia dla roślin	27,47		27,81		31,47	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	2,629					
2. Sucha masa ziele powietrnie suchego [%]	89,18	91,77	90,85	90,52	90,99	89,49
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,049		0,145		0,412	
Średnia dla roślin	90,48		90,69		90,24	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	n.i.					
3. Cukry ogółem [$\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$]*	9,03	10,03	8,86	10,72	11,40	13,77
NIR _{0,05} dla średnich z lat	n. i.		0,609		0,340	
Średnia dla roślin	9,53		9,79		12,59	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	1,526					
4. Polifenole ogółem [$\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$]*	9,89	9,31	9,77	11,73	12,76	13,45
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,340		0,388		n.i.	
Średnia dla roślin	9,60		10,75		13,11	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	1,086					
5. Olejek eteryczny [% obj./wag.]*	0,34	0,46	0,68	0,80	0,74	0,50
NIR _{0,05} dla średnich z lat	n. i.		n. i.		0,136	
Średnia dla roślin	0,40		0,74		0,62	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	0,142					

* zawartość podano w przeliczeniu na suchą masę powietrnie suchego ziele

Zawartość polifenoli ogółem była zróżnicowana w przedziale $9,31$ - $13,45 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ s.m.}$, a średnia ich koncentracja była istotnie największa w powietrnie suchym ziele ssp. *vulgare* pozyskanym z roślin trzyletnich ($13,11 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ s.m.}$), a istotnie najmniej tych związków (średnio $9,60 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ s.m.}$) zawierał materiał z roślin jednorocznych. Zawartość polifenoli w powietrnie suchym ziele roślin jednorocznych i dwuletnich była

istotnie zróżnicowana w zależności od roku uprawy. Zawartość olejku w powietrznie suchym ziele ssp. *vulgare* wynosiła 0,34-0,80% (obj./wag.), przy czym w materiale z roślin jednorocznych była istotnie mniejsza (0,40%), niż w z roślin dwu- i trzyletnich, w których koncentracja olejku (odpowiednio 0,74 i 0,62%), nie różniła się istotnie. W powietrznie suchym ziele roślin jedno- i dwuletnich, rok uprawy nie wpływał istotnie na zawartość olejku, natomiast istotne różnice w zależności od roku uprawy wystąpiły w obrębie roślin trzyletnich (0,74 i 0,50% olejku).

W świeżym ziele ssp. *hirtum* (tab. 6) zawartość suchej masy mieściła się w przedziale 27,33-36,59% i w obrębie każdej z wyszczególnionych grup roślin, była istotnie zróżnicowana w zależności od roku uprawy. Średnia zawartość suchej masy była największa w ziele roślin trzyletnich (33,87%) i różniła się istotnie od zawartości tego składnika w ziele roślin jednorocznych, odznaczających się najmniejszą średnią koncentracją suchej masy (29,52%). W powietrznie suchym ziele ssp. *hirtum* zawartość suchej masy wahała się od 87,01 do 89,55%, a istotnie większa średnia jej koncentracja (88,44%) występowała w materiale z roślin jednorocznych, niż w suszu z roślin dwu- i trzyletnich (87,14 i 87,32%). Jednocześnie jedynie w obrębie roślin jednorocznych istotne różnice w zawartości suchej masy w ziele powietrznie suchym występowały w zależności od roku uprawy. Zawartość pozostałych badanych składników ziele ssp. *hirtum* przedstawiono w przeliczeniu na suchą masę ziele powietrznie suchego. Zawartość cukrów ogółem mieściła się w przedziale 6,81-13,65 g·100g⁻¹ s.m. i w obrębie każdej z wyszczególnionych grup roślin, była istotnie zróżnicowana w zależności od roku uprawy. Istotnie największą średnią zawartością cukrów ogółem odznaczało się powietrznie suche ziele z roślin trzyletnich (13,10 g·100g⁻¹ s.m.), a istotnie najmniejszą (7,37 g·100g⁻¹ s.m.) z roślin jednorocznych. Zawartość polifenoli ogółem wahała się w zakresie 7,49-12,09 g·100g⁻¹ s.m., a średnia ich zawartość była istotnie większa w powietrznie suchym ziele roślin dwu- i trzyletnich (11,16 i 11,04 g·100g⁻¹ s.m.), niż w materiale z roślin jednorocznych (8,19 g·100g⁻¹ s.m.). Tylko w obrębie roślin jednorocznych odnotowano istotne różnice w zawartości polifenoli w zależności od roku uprawy. Zawartość olejku w powietrznie suchym ziele ssp. *hirtum* wynosiła 2,79-5,53% (obj./wag.), przy czym średnia zawartość w materiale z roślin jednorocznych (2,84%) była istotnie mniejsza, niż w suszu z roślin dwuletnich, w którym wynosiła 5,52%. Średnia zawartość olejku w powietrznie suchym ziele roślin trzyletnich (4,80%) nie różniła się istotnie od zawartości w materiale z roślin dwuletnich i jednorocznych. Istotne

różnice w zawartości olejku w powietrznie suchym ziele w zależności od roku wegetacji, wystąpiły jedynie w obrębie roślin trzyletnich (5,44 i 4,16%).

Tabela 6. Skład chemiczny ziele *O. vulgare* L. ssp. *hirtum*

Składnik	Rośliny jedoroczne		Rośliny dwuletnie		Rośliny trzyletnie	
	2015	2016	2016	2017	2017	2018
1. Sucha masa ziele świeżego [%]	31,70	27,33	28,53	31,97	31,15	36,59
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,795		2,124		0,604	
Średnia dla roślin	29,52		30,25		33,87	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	3,775					
2. Sucha masa ziele powietrznie suchego	87,32	89,55	87,26	87,01	87,31	87,32
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,358		n. i.		n. i.	
Średnia dla roślin	88,44		87,14		87,32	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	1,103					
3. Cukry ogółem [g·100g ⁻¹]*	6,81	7,93	8,82	13,93	12,54	13,65
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,370		0,440		0,361	
Średnia dla roślin	7,37		11,38		13,10	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	1,974					
4. Polifenole ogółem [g·100g ⁻¹]*	7,49	8,88	10,23	12,09	11,09	10,98
NIR _{0,05} dla średnich z lat	0,318		n. i.		n. i.	
Średnia dla roślin	8,19		11,16		11,04	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	1,298					
5. Olejek eteryczny [% obj./wag.] *	2,79	2,88	5,51	5,53	5,44	4,16
NIR _{0,05} dla średnich z lat	n. i.		n. i.		0,340	
Średnia dla roślin	2,84		5,52		4,80	
NIR _{0,05} dla średnich dla roślin	2,189					

*zawartość podano w przeliczeniu na suchą masę powietrznie suchego ziele

Dane przedstawione w tabelach 5 i 6 wskazują, że na ogół rok uprawy oraz wiek roślin obu podgatunków lebiodki pospolitej, miały istotny wpływ na zawartość ocenianych składników. Rośliny trzyletnie obu podgatunków zawierały średnio najwięcej suchej masy w świeżym ziele, a w powietrznie suchym – najwięcej cukrów ogółem. Z

kolei powietrznie suche ziele roślin dwuletich zawierało średnio najwięcej olejku, a polifenoli ogółem średnio najwięcej zawierał materiał z roślin trzyletnich (ssp. *vulgare*) i dwuletich (ssp. *hirtum*).

Porównanie średniej zawartości badanych składników w latach 2015-2018 w ziele obu podgatunków lebidki pospolitej wskazuje (tab. 7), że ssp. *hirtum* charakteryzowało się istotnie większą zawartością suchą masy (w świeżym ziele) oraz olejku (w ziele powietrznie suchym). Natomiast średnie zawartości cukrów ogółem i polifenoli ogółem, stwierdzone w materiale z obu podgatunków, nie różniły się istotnie.

Tabela 7. Porównanie średniej zawartości składników w ziele badanych podgatunków *O. vulgare* L. w okresie wielolecia (2015-2018)

Podgatunek ziela <i>O. vulgare</i> L.	Sucha masa w ziele świeżym [%]	Zawartość w suchej masie ziela powietrznie suchego		
		cukry ogółem [g·100g ⁻¹ s.m.]	polifenole ogółem [g·100g ⁻¹ s.m.]	olejek eteryczny [% obj./wag]
ssp. <i>vulgare</i>	28,90	10,64	11,15	0,59
ssp. <i>hirtum</i>	31,31	10,62	10,13	4,39
NIR _{0,05}	1,813	n.i.	n.i.	1,195

W tabeli 8 przedstawiono wyniki dotyczące poziomu aktywności przeciwutleniającej rozdrobnionego, powietrznie suchego ziela badanych podgatunków lebidki pospolitej. Aktywność przeciwutleniająca została oceniona na podstawie zdolności do neutralizacji rodników DPPH*. Stwierdzono, że inhibicja DPPH* przez susz z ziela ssp. *vulgare* mieściła się w przedziale 50,8-65,3%, przy czym największym średnim poziomem neutralizacji DPPH* (64,8%) odznaczał się susz z ziela roślin trzyletnich, a najmniejszym – susz z roślin dwuletich (54,8%).

Inhibicja DPPH* przez susz z ziela ssp. *hirtum* wahała się w zakresie 50,6-61,4%; największy średni poziom neutralizacji tych rodników wykazywał susz z ziela roślin dwuletich (59,9%), a najmniejszy (54,1%) – susz z ziela roślin jednorocznych. Porównanie działania wobec DPPH* suszu obu podgatunków wskazuje, że średnia zdolność wygaszania tych rodników przez susz z roślin dwuletich była w przypadku ssp. *hirtum* istotnie większa niż ssp. *vulgare*, natomiast w obrębie roślin jednorocznych i trzyletnich większą średnią zdolność neutralizacji DPPH* wykazywał susz z ssp. *vulgare* (w grupie roślin trzyletnich była ona istotnie większa). To zróżnicowanie poziomu aktywności przeciwutleniającej suszu porównywanych podgatunków lebidki pospolitej mogło być związane ze zróżnicowaniem zawartości polifenoli – silnych naturalnych przeciwutleniaczy. Dane przedstawione w tab. 5 i 6 wskazują, że wśród roślin

jednorocznych i trzyletnich ziele *ssp. vulgare* odznaczało się w każdym roku uprawy większą zawartością polifenoli ogółem, niż ziele *ssp. hirtum*, natomiast w grupie roślin dwuletnich było na odwrót.

Tabela 8. Aktywność antyoksydacyjna suszu* z ziela roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich w zależności od podgatunku lebiodki pospolitej i roku uprawy roślin

Podgatunek	Rośliny jednoroczne			Rośliny dwuletnie			Rośliny trzyletnie			Średnia dla lat 2015-18
	2015	2016	Średnia dla podgatunku (A)	2016	2017	Średnia dla podgatunku (A)	2017	2018	Średnia dla podgatunku (A)	
	Procent neutralizacji DPPH*									
<i>ssp. vulgare</i>	64,0	54,6	59,3	50,8	58,8	54,8	64,3	65,2	64,8	59,6
<i>ssp. hirtum</i>	50,6	57,6	54,1	58,3	61,4	59,9	56,4	59,5	58,0	57,3
Średnia dla lat (B)	57,3	56,1	-	54,6	60,1	-	60,4	62,4	-	-
NIR _{0,05}	A=n. i. B=n. i. B/A=8,499 A/B=8,499			A=4,417 B=4,417 B/A=n. i. A/B= n. i.			A =5,744 B= n. i. B/A=n. i. A/B=n. i.			

* – naważka 200 mg, rozcieńczenie 1000x

5.2. Skład chemiczny olejków

Skład olejków eterycznych pozyskanych z powietrznie suchego ziela lebiodki *ssp. hirtum* przedstawiono w tab. 9. Ogólna liczba składników w olejkach tego podgatunku wynosiła od 51 do 90, przy czym w ziele roślin jedno- i trzyletnich była zróżnicowana (odpowiednio 51 i 71 oraz 90 i 67) w zależności od roku wegetacji, natomiast w olejku z roślin dwuletnich była zbliżona (85 i 89 składników).

Suma składników ogółem wynosiła 99,11-99,73%. Spośród kilkudziesięciu składników ogółem, tylko 4-7 miało udział w sumie składników olejku, wynoszący $\geq 1\%$. Łączny udział tych składników w sumie składników ogółem, mieścił się w przedziale 83,38-92,35%, przy czym większość (73,79-79,24%) stanowił udział karwakrolu, dominującego składnika olejków *ssp. hirtum*.

Na podstawie danych w tab. 9 stwierdzono, że w olejku z roślin jednorocznych średni udział karwakrolu był najmniejszy (74,43%), natomiast największy – w olejku z roślin dwuletnich (78,11%). W olejku z roślin trzyletnich średni udział karwakrolu wynosił 76,82%. Poza karwakrolem, składnikami o udziale $\geq 1\%$, które wystąpiły we

wszystkich olejkach ssp. *hirtum*, były γ -terpinen oraz kariofilen-E. Udział γ -terpinenu wynosił od 3,54 do 7,63%. Średnio najwięcej γ -terpinenu zawierał olejek z roślin jednorocznych (5,64%), przy czym udział tego składnika w olejku roślin jednorocznych był też najbardziej zróżnicowany w zależności od roku wegetacji (7,63 i 3,65%). Udział kariofilenu-E wahał się w przedziale 1,61-2,65%, był zatem dość wyrównany.

Tabela 9. Skład olejku pozyskanego z powietrznie suchego ziela *O. vulgare* L. ssp. *hirtum*

Składnik	Czas retencji/ indeks retencji Kovat'sa	Udział procentowy składnika* w sumie składników olejku					
		roślin jednorocznych		roślin dwuletnych		roślin trzyletnich	
		2015	2016	2016	2017	2017	2018
α -terpinen	9,124/1016	1,14					1,09
p-cymen	9,216/1018	4,50					3,15
o-cymen	9,395/1023		2,91	3,93	4,59	4,29	
γ -terpinen	10,549/1053	7,63	3,65	4,44	3,73	3,54	4,70
tymol	18,733/1296	1,49		1,09	1,96	2,23	1,71
karwakrol	19,173/1309	73,79	75,06	79,24	76,97	77,99	75,64
kariofilen E	22,907/1424	2,57	1,76	1,61	1,92	1,75	2,65
β -bisabolen	25,659/1519	1,23		1,09	1,42	1,33	
Z- α bisabolen	25,698/1521						1,03
Liczba składników o udziale $\geq 1,0\%$		7	4	6	6	6	7
Suma składników o udziale $\geq 1,0\%$		92,35	83,38	91,40	90,59	91,13	89,97
Liczba składników ogółem, w tym niezidentyfikowanych		51 3	71 1	85 1	89 0	90 1	67 0
Suma składników ogółem [%]		99,73	99,26	99,11	99,19	99,18	99,28

* w tabeli uwzględniono składniki, które w olejkach badanych w okresie 2015-2018 chociaż raz miały udział w sumie składników wynoszący $\geq 1,0\%$

Do pozostałych składników, które w analizowanych olejkach ssp. *hirtum* chociaż raz miały udział $\geq 1\%$ należał: tymol (w 5 olejkach), o-cymen i β -bisabolen (w 4), α -terpinen i p-cymen (w 2) oraz Z- α -bisabolen (w 1).

W olejkach pozyskanych z powietrznie suchego ziela ssp. *vulgare* (tab. 10) liczba składników ogółem wynosiła 54-99, a ich suma 99,58-100,00%. Liczba składników ogółem w olejkach różniła się w zależności od roku wegetacji, przy czym największe zróżnicowanie liczby składników (95 i 55) odnotowano w olejkach z roślin trzyletnich, a najmniejsze w olejkach roślin jednorocznych (54 i 65). Największą liczbą składników odznaczały się olejki pozyskane z ziela roślin dwuletnych (99) oraz trzyletnich (95) z roku 2017. W olejkach ssp. *vulgare* liczba składników o udziale w sumie składników na poziomie $\geq 1\%$, wynosiła od 18 do 23, była zatem stosunkowo stabilna i kilkakrotnie większa, niż w olejkach ssp. *hirtum*.

Tabela 10. Skład olejku pozyskanego z powietrznie suchego ziela *O. vulgare* L. ssp. *vulgare*

Składnik	Czas retencji/ indeks retencji Kovat'sa	Udział procentowy składnika* w sumie składników olejku					
		roślin jednorocznych		roślin dwuletnich		roślin trzyletnich	
		2015	2016	2016	2017	2017	2018
sabinen	7,687/972	6,77	6,46	10,82	9,82	9,01	11,39
myrcen	8,185/988	1,00		1,38		1,30	
α -terpinen	9,034/1014			1,07			
o-cymen	9,304/1021		4,41	2,19	2,04	2,46	
p-cymen	9,351/1023	4,34					2,27
ocimen-Z- β	9,754/1032	7,32	5,27	7,15	6,29	6,98	7,33
ocimen-E- β	10,107/1041	2,85	3,51	3,21	4,68	4,32	3,22
γ -terpinen	10,514/1052	1,96	2,69	2,04	2,33	1,51	1,72
linalol	11,964/1090	1,13	2,89	1,43	2,19	1,13	1,42
terpinen-4-ol	14,845/1179	1,43	1,64	3,25	3,30	3,31	1,71
tymol	18,693/1295	1,90	8,55				
karwakrol	18,956/1303	3,13	4,67		1,03		1,42
β -burbonen	21,713/1384	1,04		1,03		1,21	1,43
kariofilen E	22,909/1424	14,93	10,90	12,13	9,71	10,19	13,16
α -humulen	24,021/1464	1,88	1,70	1,84	1,51	1,49	2,19
aromadendren	23,480/1445			1,31	1,17	1,33	
germakren D	24,854/1495	18,22	11,77	12,83	12,84	11,94	16,57
viridifloren	25,261/1506	1,18					
bicyklogermakren	25,284/1508			2,82	2,31	1,71	1,92
farnesen-E,E	25,541/1516	4,04	4,73	4,77	4,87	3,62	5,29
β -bisabolen	25,648/1519	1,20	3,03		1,27		1,03
α -amorfen	25,952/1527	2,72					
γ -kadinen	25815/1524			1,03			
δ -kadinen	25,980/1529		2,55	4,46	4,93	4,86	3,78
β -kurkumen	26,605/1547	1,18					
n.n	26,622/1548				1,01		
spatulenol	27,729/1581	3,10	1,99	2,63	2,17	3,16	2,68
tlenek kariofilenu	27887/1586	2,35	1,84	2,27	1,18	1,84	2,07
kusimon	28,850/1620	1,02					
α -kadinol	29,622/1652	2,64	2,02	3,10		1,14	1,15
α -epi-muurolol	29,680/1654			1,12	1,25	1,53	
himachalol	30,011/1668				3,43	4,70	
Liczba składników o udziale $\geq 1,0\%$		23	18	22	21	21	19
Suma składników o udziale $\geq 1,0\%$		90,33	80,62	83,88	79,33	78,74	81,75
Liczba składników ogółem, w tym niezidentyfikowanych		54 8	65 8	81 2	99 8	95 8	55 3
Suma składników ogółem [%]		100,00	100,00	100,00	99,58	99,67	100,00

* w tabeli uwzględniono składniki, które w olejkach badanych w okresie 2015-2018 chociaż raz miały udział w sumie składników wynoszący $\geq 1,0\%$

Do składników, których udział we wszystkich analizowanych olejkach ssp. *vulgare* wynosił $\geq 1\%$ sumy składników, należały: sabinen, ocimen-Z- β , ocimen-E- β , γ -terpinen, linalol, terpinen-4-ol, kariofilen E, α -humulen, germakren D, farnesen-E,E, spatulenol i tlenek kariofilenu. W olejkach ssp. *vulgare* nie było składnika dominującego, jednak we wszystkich, największy udział w sumie składników miał germakren D (11,77-18,22%), następnie kariofilen E (9,71-14,93%) oraz sabinen (6,46-11,39%). Wyjątkiem

od takiej kolejności składników był olejek z roślin jednorocznych z 2016 r. oraz z roślin dwuletich z 2017 r. W olejkach tych malejący układ składników był następujący: germakren D-kariofilen E-tymol oraz germakren D-sabinen-kariofilen E. Spośród pozostałych składników występujących we wszystkich analizowanych olejkach ssp. *vulgare* największy udział w sumie składników miały: ocimen-Z- β (5,27-7,32%), farnesen E,E (3,62-5,29%), ocimen E- β (2,85-4,68%), spatulenol (1,99-3,16%), terpinen-4-ol (1,43-3,31%). Skład olejków ssp. *vulgare* był zmienny w zależności od roku wegetacji. W przypadku wiodącego składnika jakim był germakren D, widoczne różnice w jego udziale (w zależności od roku) odnotowano w oleju z roślin jednorocznych (18,22 i 11,77%) i trzyletnich (11,94 i 16,57), a np. tymol i karwakrol większy udział (odpowiednio 1,90-8,55 oraz 3,13-4,67%) miały jedynie w oleju roślin jednorocznych.

Analiza składu chemicznego olejków lebiodki pospolitej wykazała odmienny charakter olejków pozyskanych z powietrznie suchego ziela badanych podgatunków. Olejek ssp. *hirtum* reprezentuje chemotyp karwakrolowy (cymyłow), a olejek ssp. *vulgare* chemotyp germakren D/kariofilen E/sabinen. Skład ilościowo-jakościowy olejków obu podgatunków był uzależniony od roku wegetacji

5.3. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa lebiodki pospolitej

5.3.1. Aktywność przeciwgrzybowa olejków, sproszkowanego suszu i wywarów otrzymanych z ziela ssp. *hirtum*

Wyniki oceny aktywności przeciwgrzybiczej olejku z ziela ssp. *hirtum*, uzyskane przy wykorzystaniu metody krążkowej, przedstawiono w tabeli 11. Stwierdzono, że w szóstej dobie inkubacji średnice stref zahamowania wzrostu testowanych grzybów, powodowane działaniem olejków pozyskanych z powietrznie suchego ziela roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich, wahały się w szerokim zakresie 6,0-90,0 mm. W każdej z wyszczególnionych grup olejków wielkość średnic stref zahamowania wzrostu zależała istotnie od dawki olejku (10, 5, 1 μ l/krążek), szczepu grzyba oraz współdziałania obu tych czynników. Olejki z roślin jednorocznych powodowały istotnie największą średnią strefę zahamowania wzrostu *S. sclerotiorum* (83,9 mm), a istotnie najmniejszą *A. niger* (19,7 mm). Pod wpływem olejków z roślin dwuletich istotnie większą średnicą zahamowania wzrostu odznaczały się *C. herbarum* (59,7 mm), *S. sclerotiorum*, *T. roseum* i *B. cinerea* (52,2 mm), a olejki z roślin trzyletnich istotnie większe średnie zahamowanie wzrostu wywoływały działając na *S. sclerotiorum* (69,5 mm), *B. cinerea* i *T. roseum* (62,3 mm), którego średnica zahamowania wzrostu nie różniła się istotnie od średnicy zahamowania wzrostu *C. herbarum* (54,3 mm). Olejki roślin dwu- i trzyletnich istotnie

mniejsze średnie średnice inhibicji wzrostu powodowały w przypadku *A. niger* (25,4 i 23,9 mm), *P. cyclopium*, *F. oxysporum* i *Alternaria* sp. (33,8 i 30,4 mm). Kierując się malejącą średnią średnicą zahamowania wzrostu grzybów powodowaną w okresie 2015-2018 przez olejek ssp. *hirtum* w zastosowanych dawkach, można te grzyby uszeregować następująco: *S. sclerotiorum*, *T. roseum*, *B. cinerea*, *C. herbarum*, *Alternaria* sp., *F. oxysporum*, *P. cyclopium*, *A. niger*.

Rozpatrując reakcję danego szczepu grzyba na zastosowane dawki olejku ssp. *hirtum* (tab. 11) stwierdzono, że w obrębie każdej z grup olejków, średnice inhibicji wzrostu każdego szczepu powodowane przez dawki 10 i 5 μl /krążek były z reguły istotnie większe od powodowanych przez dawkę 1 μl /krążek. Od tej zasady występowały nieliczne wyjątki, np. średnice inhibicji *S. sclerotiorum* powodowane przez różne dawki olejku z roślin jednorocznych nie różniły się istotnie, podobnie jak w przypadku działania różnych dawek olejku z roślin trzyletnich na *B. cinerea* i *P. cyclopium*. Średnie średnice zahamowania wzrostu wszystkich badanych szczepów, powodowane przez dawki 10 i 5 μl /krążek, były największe w przypadku olejku roślin jednorocznych (odpowiednio 64,5 i 54,8 mm), natomiast w dawce 1 μl /krążek największe średnie średnice powodował olejek z roślin trzyletnich (25,7 mm). W obrębie wyszczególnionych grup olejków średnie średnice zahamowania wzrostu wszystkich badanych szczepów przez olejki stosowane w dawce 10 μl /krążek były istotnie największe, a istotnie najmniejsze przy zastosowaniu dawki 1 μl /krążek. Obliczono, że różnice między średnimi średnicami zahamowania wzrostu powodowanymi przez olejki z roślin jedno-, dwu- i trzyletnich w dawce 10 μl /krążek (64,5; 60,5 i 60,4 mm) i w dawce 5 μl /krążek (54,8; 52,0 i 49,8 mm) były nieistotne, a istotne różnice między tymi średnimi (19,1; 17,1 i 25,4 mm) stwierdzono przy dawce 1 μl /krążek.

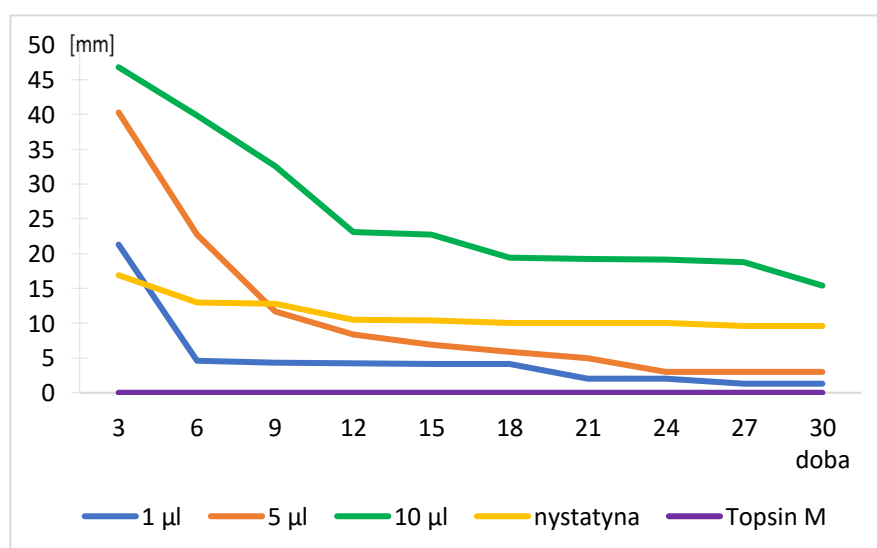
Porównanie aktywności olejku ssp. *hirtum* oraz substancji kontrolnych wskazuje (tab. 11), że w szóstej dobie inkubacji olejki wszystkich grup roślin, stosowane w dawkach 10 i 5 μl /krążek powodowały większe średnice zahamowania wzrostu każdego z badanych szczepów, niż Topsin M. W dawce 1 μl /krążek działanie olejków w porównaniu do substancji kontrolnych było zróżnicowane, np. słabiej niż nystatyna, ograniczały wzrost *Alternaria* sp. i *A. niger*, ale w przypadku olejku z roślin jednorocznych i trzyletnich, dawka 1 μl /krążek silniej ograniczała wzrost *S. sclerotiorum* niż Topsin i nystatyna. Topsin M nie ograniczał wzrostu *Alternaria* sp., *A. niger* i *F. oxysporum*, natomiast najefektywniej hamował wzrost *T. roseum* (41,4 mm), a w dalszej kolejności *B. cinerea* (34,7 mm) i *P. cyclopium* (28,5 mm). Nystatyna hamowała wzrost

wszystkich testowanych grzybów, ale średnice zahamowania wzrostu były stosunkowo niewielkie – od 11,7 i 12,0 mm odpowiednio dla *T. roseum* i *F. oxysporum*, do 28,4 i 28,5 mm w przypadku *B. cinerea* i *Alternaria* sp. Średnie średnice zahamowania wzrostu wszystkich szczepów powodowane przez dawki 1 µl/krażek olejków z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich (19,1; 17,1 i 25,4 mm) były na ogół nieco większe niż średnia średnica spowodowana przez Topsin M (16,2 mm) i nystatynę (18,3 mm), natomiast średnie średnice spowodowane przez te olejki w dawkach 10 i 5 µl olejku/krażek (odpowiednio 60,4-64,5 oraz 49,8-54,4 mm) były 2-3 razy większe od średnich średnic odnotowanych dla obu substancji kontrolnych.

Dane zamieszczone w tabeli 12 wskazują na przykładzie działania dawki 10 µl olejku/krażek, że średnia średnica stref zahamowania wzrostu badanych grzybów zależała istotnie od roku uprawy roślin ssp. *hirtum*, z których pozyskano olejek, znaczenie miał również szczep grzyba oraz współdziałanie obu tych czynników. Biorąc pod uwagę wielkości stref hamowania wzrostu grzybów w zależności od działania na dany szczep grzyba olejku pozyskanego z roślin z poszczególnych lat uprawy, to olejek z roślin jednorocznych powodował istotne różnice wielkości stref hamowania wzrostu *Alternaria* sp., *B. cinerea*, *F. oxysporum* i *P. cyclopium*, z roślin dwuletnich – *C. herbarum*, *F. oxysporum*, *P. cyclopium*, *S. sclerotiorum* i *T. roseum*, a z roślin trzyletnich jedynie *C. herbarum* i *T. roseum*. Zatem olejki pozyskane z ziela roślin dwuletnich, ale z różnych lat wegetacji, wykazywały największe zróżnicowanie działania w hamowaniu wzrostu tych samych szczepów. Biorąc pod uwagę cykl uprawy roślin ssp. *hirtum* stwierdzono, że w pierwszym cyklu (2015-2017) największą średnią średnicę hamowania wzrostu grzybów powodował olejek z roślin jednorocznych a najmniejszą z trzyletnich, zaś w drugim cyklu (2016-2018) największe średnie zahamowanie wzrostu grzybów odnotowano dla olejku z roślin trzyletnich, a najmniejsze dla olejku z roślin dwuletnich.

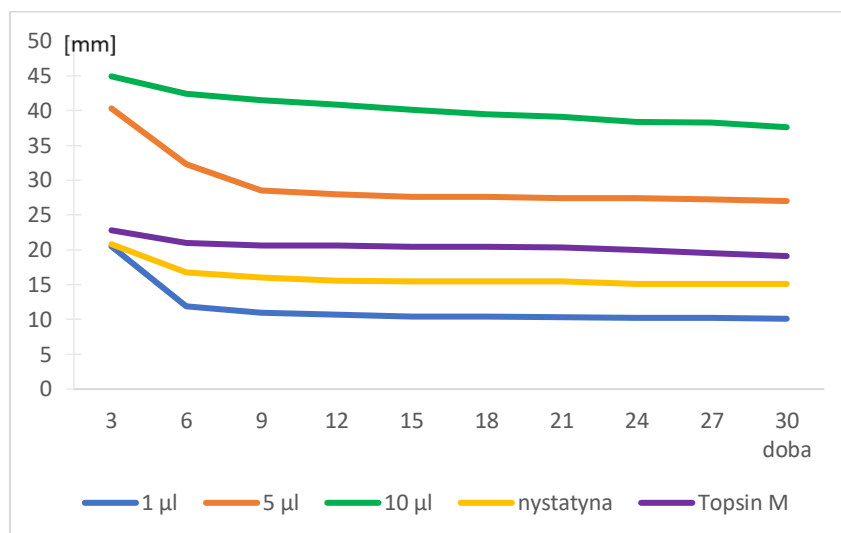
W celu określenia wpływu czasu inkubacji na utrzymywanie się aktywności olejku i substancji kontrolnych hamującej wzrost grzybów, obserwacje prowadzono w ciągu 30 dni. Na rysunkach 1-4 na przykładzie szczepów wykazujących najmniejszą (*A. niger*, *P. cyclopium*) i największą wrażliwość (*S. sclerotiorum* i *T. roseum*) na działanie olejku ssp. *hirtum*, przedstawiono zmiany średnich średnic (dla lat 2015-2018) zahamowania wzrostu tych grzybów (powodowane przez różne dawki olejku oraz substancje kontrolne), zachodzące w czasie 30 dni inkubacji. Dane zamieszczone na wykresach (rys. 1-4) wskazują, że średnice stref zahamowania wzrostu powodowane przez olejek i substancje kontrolne, zmniejszały się wraz z upływem czasu, jednak

zachodzące zmiany zależały od zastosowanego środka i szczepu grzyba. Średnice zahamowania wzrostu *P. cyclopium*, *S. sclerotiorum* i *T. roseum* wywołane przez olejek w dawkach 5 i 10 µl/krażek utrzymywały się w ciągu całego okresu obserwacji i po 30 dobach były wielokrotnie większe, niż powodowane przez substancje kontrolne. Średnice zahamowania wzrostu wymienionych grzybów powstałe pod wpływem olejku w dawce 10 µl/krażek były najbardziej stabilne i w ciągu 30 dni uległy stosunkowo niewielkiemu zmniejszeniu: z 44,9 do 37,6 mm w przypadku *P. cyclopium* (rys. 2), z 90,0 do 79,6 mm w przypadku *S. sclerotiorum* (rys. 3) oraz z 86,7 do 74,4 mm w przypadku *T. roseum* (rys. 4). Strefa zahamowania wzrostu *A. niger* (rys. 1) wywołana działaniem olejku w dawce 10 µl/krażek uległa natomiast zmniejszeniu aż o połowę (z 46,8 do 23,1 mm) po 12 dniach, a w ciągu następnych 18 dni zmalała do 15,4 mm. W całym okresie obserwacji była jednak większa od strefy zahamowania wzrostu *A. niger* powodowanej przez nystatynę, która zmieniła się w zakresie od 16,9 mm (3 doba) do 9,6 mm (30 doba). Strefa zahamowania wzrostu *A. niger* wywołana olejkiem w dawce 5 µl/krażek zmalała między 3 a 9 dniem obserwacji ponad trzykrotnie (z 40,3 do 11,7 mm) i w dalszym okresie była mniejsza niż strefa zahamowania powodowana przez nystatynę. W ciągu przyjętego okresu obserwacji nystatyna działała stabilnie na zahamowanie wzrostu *A. niger* i *P. cyclopium* (rys. 1 i 2), jej działanie hamujące wzrost *S. sclerotiorum* gwałtownie zmalało między 3 a 9 dobą (średnica zahamowania wzrostu zmniejszyła się z 55,3 do 12,5 mm i na zbliżonym poziomie utrzymywała się do zakończenia doświadczenia, rys. 3), natomiast po 9 dobach zanikła jej zdolność hamowania wzrostu *T. roseum*, podobnie jak

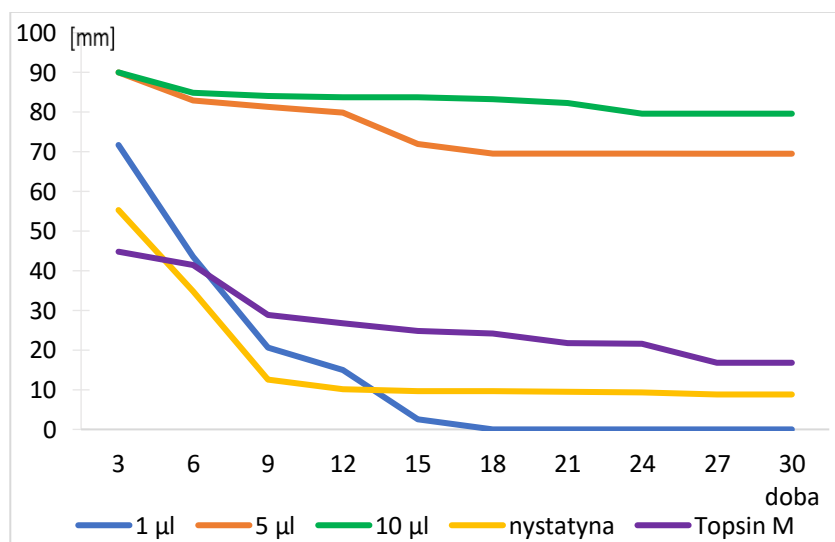


Rys. 1. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu *A. niger* w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. *hirtum* oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)

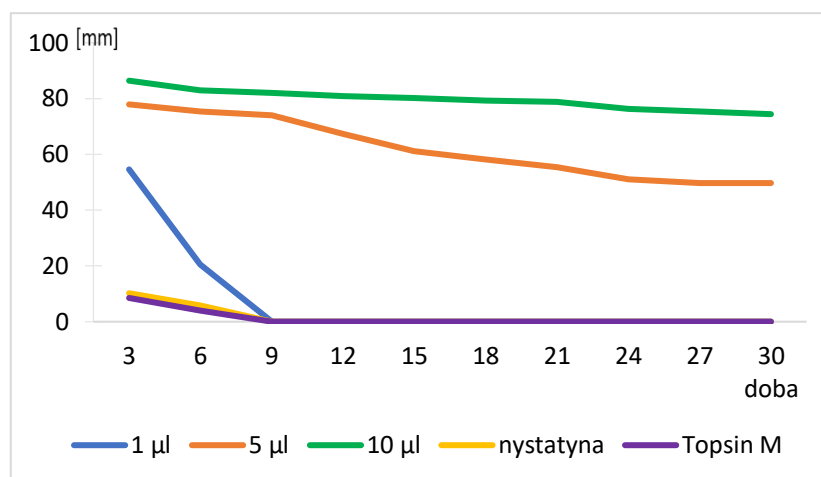
Topsinu i olejku w dawce 1 μl /krążek (rys. 4). W całym okresie obserwacji Topsin nie hamował wzrostu *A. niger* (rys. 1), natomiast stosunkowo stabilnie oraz silniej niż nystatyna i olejek w dawce 1 μl /krążek ograniczał wzrost *P. cyclopium* (rys. 2) oraz silniej niż nystatyna i olejek w dawce 1 μl /krążek ograniczał (po 6 dobie do końca obserwacji), wzrost *S. sclerotiorum* (rys. 3).



Rys. 2. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu *P. cyclopium* w zależności od czasu działania różnych dawek olejku *ssp. hirtum* oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)



Rys. 3. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu *S. sclerotiorum* w zależności od czasu działania różnych dawek olejku *ssp. hirtum* oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)



Rys. 4. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu *T. roseum* w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. *hirtum* oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)

Oceniając aktywność przeciwgrzybową olejków ssp. *hirtum* wyznaczono też dla nich metodą rozcieńczeniową, minimalne stężenie hamujące wzrost testowanych grzybów (MIC – Minimal Inhibitory Concentration) oraz minimalne stężenie grzybobójcze (MFC – Minimal Fungicidal Concentration) – tab. 13. Stwierdzono, że olejki pozyskane z ziela roślin jednorocznych miały poziom MIC i MFC odpowiednio w granicach $<0,32-20,00$ oraz $<0,32->20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, dwuletnich $<0,32-10,00$ oraz $<0,32-20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, a trzyletnich $<0,32-10,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ dla obu wskaźników. Wskazuje to, że w badaniu metodą rozcieńczeniową olejki z roślin trzy- i dwuletnich wykazywały ogólnie silniejsze działanie, niż olejki z roślin jednorocznych. Uwidoczniło się to przede wszystkim w działaniu na wykazujący największą odporność szczep *A. niger*, dla którego MFC olejków z roślin trzy- i dwuletnich wynosiło odpowiednio $5,00-10,00$ oraz $5,00-20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, a z jednorocznych $10,00->20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$. Oprócz *A. niger* do szczepów wykazujących w metodzie rozcieńczeniowej większą odporność na działanie olejków można też zaliczyć *P. cyclopium* (MIC $2,50-5,00$; MFC $5,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) oraz *F. oxysporum*, dla którego wartości MIC i MFC były jednak bardzo zróżnicowane: od $1,25-10,00$ i $1,25-20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ w przypadku olejków z roślin dwuletnich do $1,25-2,50 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ dla obu wskaźników w przypadku olejków z roślin trzyletnich. Najmniejsze, ale także zróżnicowane wartości MIC i MFC wyznaczono dla olejków działających na *B. cinerea* (MIC ogólnie $<0,32-0,63 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, MFC $<0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$), *S. sclerotiorum* (MIC $<0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, MFC $<0,32-2,50 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) oraz *T. roseum* (MIC $0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, MFC $0,32-2,50 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Ocena aktywności przeciwgrzybowej proszków otrzymanych z powietrznie suchego ziela roślin ssp. *hirtum*, przeprowadzona metodą tzw. „zatrutego podłoża”

wykazała (tabela 14), że przy 1% dodatku suszu do podłoża, zahamowanie wzrostu testowanych szczepów w 6-tej dobie inkubacji mieściło się w zakresie 47,7-100,0%; 86,6-100,0% oraz 83,5-100,0% odpowiednio dla suszu z ziela roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich. W obrębie każdej z wyszczególnionych grup roślin, poziom procentowego zahamowania wzrostu grzybów przez sproszkowany susz zależał istotnie od roku uprawy roślin, z których pozyskano susz oraz szczepu grzyba, a także od współdziałania obu tych czynników. Susz z roślin jednorocznych w każdym z analizowanych lat w pełni hamował wzrost *T. roseum*, *S. sclerotiorum* i *C. herbarum*, a z roślin dwu- i trzyletnich, oprócz w/w, także *B. cinerea* i *Alternaria* sp. Średnie zahamowanie wzrostu przez susz z roślin jednorocznych było istotnie najmniejsze w działaniu na *P. cyclopium* (59,0%), a w dalszej kolejności *A. niger* (65,1%). Susz z roślin dwuletnich istotnie mniejsze średnie zahamowanie wzrostu wywoływał w przypadku *P. cyclopium* i *A. niger* (90,6 i 90,9%), a z roślin trzyletnich w przypadku *F. oxysporum* i *A. niger* (88,4 i 89,8%) oraz *P. cyclopium* (91,8%). Biorąc pod uwagę znaczenie wpływu na aktywność przeciwgrzybową suszu, roku wegetacji roślin, z których susz sporządzono, stwierdzono, że susz z ziela roślin jednorocznych wykazywał w zależności od roku uprawy tych roślin, istotne zróżnicowanie hamowania wzrostu *Alternaria* sp., *A. niger* i *P. cyclopium*, w przypadku suszu z roślin dwuletnich były to *A. niger* i *P. cyclopium*, a trzyletnich – jedynie *P. cyclopium*.

W obu cyklach uprawy ssp. *hirtum*, obejmujących lata 2015-2017 oraz 2016-2018, największe zahamowanie wzrostu grzybów (98,1 i 96,1%), powodował susz z ziela roślin dwuletnich, a z roślin jednorocznych – najmniejsze (82,5 i 90,6%). Największe średnie procentowe zahamowanie wzrostu testowanych szczepów powodował sproszkowany susz z ziela roślin dwuletnich ssp. *hirtum* – 97,1%, a najmniejsze – 86,5% z roślin jednorocznych (różnica między tymi wartościami była istotna – tab. 14).

Ocena aktywności przeciwgrzybowej wywarów, przeprowadzona również za pomocą metody „zatrutego podłoża” wykazała (tab. 15), że inhibicja wzrostu testowanych grzybów przez wywary otrzymane z powietrznie suchego ziela jednorocznych-, dwu- i trzyletnich roślin ssp. *hirtum*, wahała się w przedziale 43,0-100,0% i była istotnie zróżnicowana w zależności od roku uprawy roślin, szczepu grzyba oraz współdziałania obu tych czynników. W każdym roku, wywary otrzymane z suszu roślin jednorocznych, całkowicie hamowały wzrost *C. herbarum*, *S. sclerotiorum* i *T. roseum* (średnie zahamowanie wzrostu tych szczepów przez wywary z suszu roślin jednorocznych było istotnie większe, niż pozostałych grzybów). Istotnie najmniejsze średnie zahamowanie wzrostu wywary z ziela roślin jednorocznych powodowały w

przypadku *P. cyclopium* (66,9%). Wywary z ziela roślin dwu- i trzyletnich w każdym roku badań całkowicie hamowały wzrost *B. cinerea*, *C. herbarum* i *T. roseum*, natomiast w stopniu istotnie najmniejszym odpowiednio *P. cyclopium* (średnio o 73,1%) oraz *A. niger* (średnio o 63,5%). W każdej z wyszczególnionych w tabeli 15 grup wywarów, istotne zróżnicowanie poziomu hamującego wzrost grzybów w zależności od roku uprawy roślin, z których ziela sporządzano wywary, stwierdzono w odniesieniu do *Alternaria* sp., *A. niger*, *F. oxysporum*, a w obrębie wywarów z roślin jednorocznych i dwuletnich także *P. cyclopium*. Wyniki badań wskazują (tab. 15), że aktywność przeciwgrzybicza wywarów z dwu- i trzyletnich roślin ssp. *hirtum* była wyższa, niż z roślin jednorocznych. Średnie zahamowanie wzrostu testowanych szczepów przez te wywary, przy ich dawce do podłoża wynoszącej 15% miało poziom odpowiednio 91,4 i 88,3% i nie różniło się istotnie od średniego zahamowania wzrostu grzybów przez wywary z roślin jednorocznych (90,0%), które zastosowano w dawce 30%.

Tabela 11. Wpływ olejku oreganowego *O. vulgare* ssp. *hirtum* pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich oraz substancji kontrolnych na wielkość stref zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w 6 dobie inkubacji, w zależności od dawki olejku i szczepu grzyba

Szczep grzyba	Średnica stref zahamowania wzrostu [mm] przez olejek												Średnia średnica [mm] zahamowania wzrostu przez olejek (2015-2018)	Średnice stref zahamowania wzrostu przez substancje kontrolne*** (2015-2018)	
	roślin jednorocznych (2015-2016), dawka na krążek				roślin dwuletnich (2016-2017), dawka na krążek				roślin trzyletnich (2017-2018), dawka na krążek					T	N
	10 µl	5 µl	1 µl	Średnia dla szczepu	10 µl	5 µl	1 µl	Średnia dla szczepu	10 µl	5 µl	1 µl	Średnia dla szczepu			
<i>Alternaria sp.</i>	58,3	55,2	8,0	40,5	51,5	41,5	8,5	33,8	47,8	36,5	6,8	30,4	34,9	0,0	28,5
<i>A. niger</i>	35,2	17,0	7,0	19,7	41,2	28,5	6,7	25,4	42,0	23,7	6,0	23,9	23,0	0,0	14,6
<i>B. cinerea</i>	68,7	63,3	11,8	47,9	61,0	59,2	36,5	52,2	77,3	72,3	55,7	68,4	56,2	34,7	28,4
<i>C. herbarum</i>	79,2	61,3	17,8	52,8	76,3	69,2	33,7	59,7	79,5	62,5	20,8	54,3	55,6	13,0	19,4
<i>F. oxysporum</i>	50,8	43,7	11,5	35,3	52,0	34,8	13,0	33,3	38,2	27,3	13,2	26,2	31,6	0,0	12,0
<i>P. cyclopium</i>	45,3	33,8	12,5	30,5	41,5	33,7	11,0	28,7	38,3	20,5	20,2	26,3	28,5	28,5	18,2
<i>S. sclerotiorum</i>	90,0	90,0	71,7	83,9	80,7	78,7	14,0	57,8	83,8	80,0	44,8	69,5	70,4	41,4	13,2
<i>T. roseum</i>	88,8	74,3	12,5	58,5	79,5	70,3	13,7	54,5	81,5	70,2	35,3	62,3	58,4	12,0	11,7
Średnia dla dawki	64,5	54,8	19,1	-	60,5	52,0	17,1	-	60,4	49,8	25,4	-	NIR _{0,05} 19,450	16,2	18,3
NIR _{0,05}	A*=5,076 B**=10,776 B/A=18,664 A/B=14,356				A=5,521 B=11,720 B/A=20,300 A/B=15,615				A=5,917 B=12,562 B/A=21,758 A/B=16,737						

* czynnik A – dawka olejku, ** czynnik B – szczep grzyba

*** - substancje kontrolne: T – Topsin M w dawce 10 µl/krążek (stosowano zawiesinę: preparat handlowy-woda dest. w proporcji 1:1), N – nystatyna w dawce 100 jedn./krążek; strefy mierzone wraz z krążkiem (6 mm); średnica szalki=90 mm

Tabela 12. Wpływ olejku oreganowego *O. vulgare* ssp. *hirtum* (dawka 10 µl/krażek) pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich, na wielkość stref (mm) zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w 6 dobie hodowli, w zależności od roku uprawy roślin i szczepu grzyba

Szczep Grzyba	Średnice stref*zahamowania wzrostu grzybów [mm] powodowane przez olejek								
	roślin jednorocznych			roślin dwuletnich			roślin trzyletnich		
	2015	2016	Średnia dla szczepu (B)	2016	2017	Średnia dla szczepu (B)	2017	2018	Średnia dla szczepu (B)
<i>Alternaria</i> sp.	69,0	47,7	58,3	53,7	49,3	51,5	47,7	48,0	47,8
<i>A. niger</i>	35,3	35,0	35,2	41,0	41,3	41,2	39,0	45,0	42,0
<i>B. cinerea</i>	85,0	52,3	68,7	57,7	64,3	61,0	67,0	77,7	72,3
<i>C. herbarum</i>	78,0	80,3	79,2	90,0	62,7	76,3	69,0	90,0	79,5
<i>F. oxysporum</i>	58,7	43,0	50,8	60,7	43,3	52,0	39,3	37,0	38,2
<i>P. cyclopium</i>	50,7	40,0	45,3	45,7	37,3	41,5	36,7	40,0	38,3
<i>S. sclerotiorum</i>	90,0	90,0	90,0	90,0	71,3	80,7	77,7	90,0	83,8
<i>T. roseum</i>	87,7	90,0	88,8	90,0	69,0	79,5	73,0	90,0	81,5
Średnie dla lat (A)	69,3	59,8	-	66,1	54,8	-	56,2	64,7	-
NIR _{0,05}	A=2,615 B=8,317 B/A=11,761 A/B=7,396			A=1,490 B=4,738 B/A=6,700 A/B=4,213			A=3,666 B=11,659 B/A=16,488 A/B=10,368		

czynnik A – rok uprawy roślin, czynnik B – szczep grzyba;

* strefy mierzone wraz z krążkiem (6 mm); średnica szalki=90 mm

Tabela 13. Minimalna hamująca (MIC) i grzybobójcza (MFC) koncentracja olejku *O. vulgare* ssp. *hirtum* pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich wyznaczona dla testowanych grzybów

Szczep	Olejek roślin jednorocznych [$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]		Olejek roślin dwuletnich [$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]		Olejek roślin trzyletnich [$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Alternaria sp.</i>	0,32 – 1,25	0,63 – 1,25	0,63 – 2,50	0,63 – 5,00	0,63 – 2,50	1,25 – 5,00
<i>A. niger</i>	10,00 – 20,00	10,00 – >20,00	2,50 – 10,00	5,00 – 20,00	2,50 – 10,00	5,00 – 10,00
<i>B. cinerea</i>	0,63	0,63 – 1,25	<0,32 – 0,32	<0,32 – 0,32	<0,32	<0,32 – 0,32
<i>C. herbarum</i>	<0,32 – 2,50	<0,32 – 5,00	0,63 – 2,50	1,25 – 2,50	0,63	1,25
<i>F. oxysporum</i>	1,25 – 5,00	2,50 – 5,00	1,25 – 10,00	1,25 – 20,00	1,25 – 2,50	1,25 – 2,50
<i>P. cyclopium</i>	2,50 – 5,00	5,00	2,50 – 5,00	5,00	5,00	5,00
<i>S. sclerotiorum</i>	<0,32 – 1,25	<0,32 – 1,25	<0,32 – 1,25	<0,32 – 2,50	<0,32	<0,32
<i>T. roseum</i>	0,32 – 0,63	0,32 – 1,25	0,32	0,32 – 0,63	0,32 – 1,25	0,32 – 2,50

Tabela 14. Inhibicja wzrostu (%) kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z 1% dodatkiem suszu *O. vulgare* ssp. *hirtum* z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich, w zależności od roku uprawy roślin i szczepu grzyba

Szczep grzyba	Procent inhibicji wzrostu kolonii grzybów przez susz [dawka 1%]								
	roślin jednorocznych			roślin dwuletnich			roślin trzyletnich		
	2015	2016	Średnia dla szczepu (B)	2016	2017	Średnia dla szczepu (B)	2017	2018	Średnia dla szczepu (B)
<i>Alternaria sp.</i>	78,2	100,0	89,1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>A. niger</i>	47,7	82,4	65,1	89,9	91,9	90,9	91,9	87,7	89,8
<i>B. cinerea</i>	92,2	91,9	92,1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>C. herbarum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>F. oxysporum</i>	86,7	87,2	87,0	100,0	90,0	95,0	89,2	87,6	88,4
<i>P. cyclopium</i>	55,0	63,0	59,0	94,6	86,6	90,6	100,0	83,5	91,8
<i>S. sclerotiorum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>T. roseum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Średnia dla lat (A)	82,5	90,6	-	98,1	96,1	-	97,6	94,9	-
NIR _{0,05}	A=1,291 B=4,107 B/A=5,808 A/B=3,652			A=0,285 B=0,905 B/A=1,281 A/B=0,805			A=1,013 B=3,223 B/A=4,558 A/B=2,866		
Średni % inhibicji wszystkich szczepów	86,5			97,1			96,2		
NIR _{0,05}	9,354								

czynnik A – rok uprawy roślin, z ziela których sporządzono susz, czynnik B – szczep grzyba

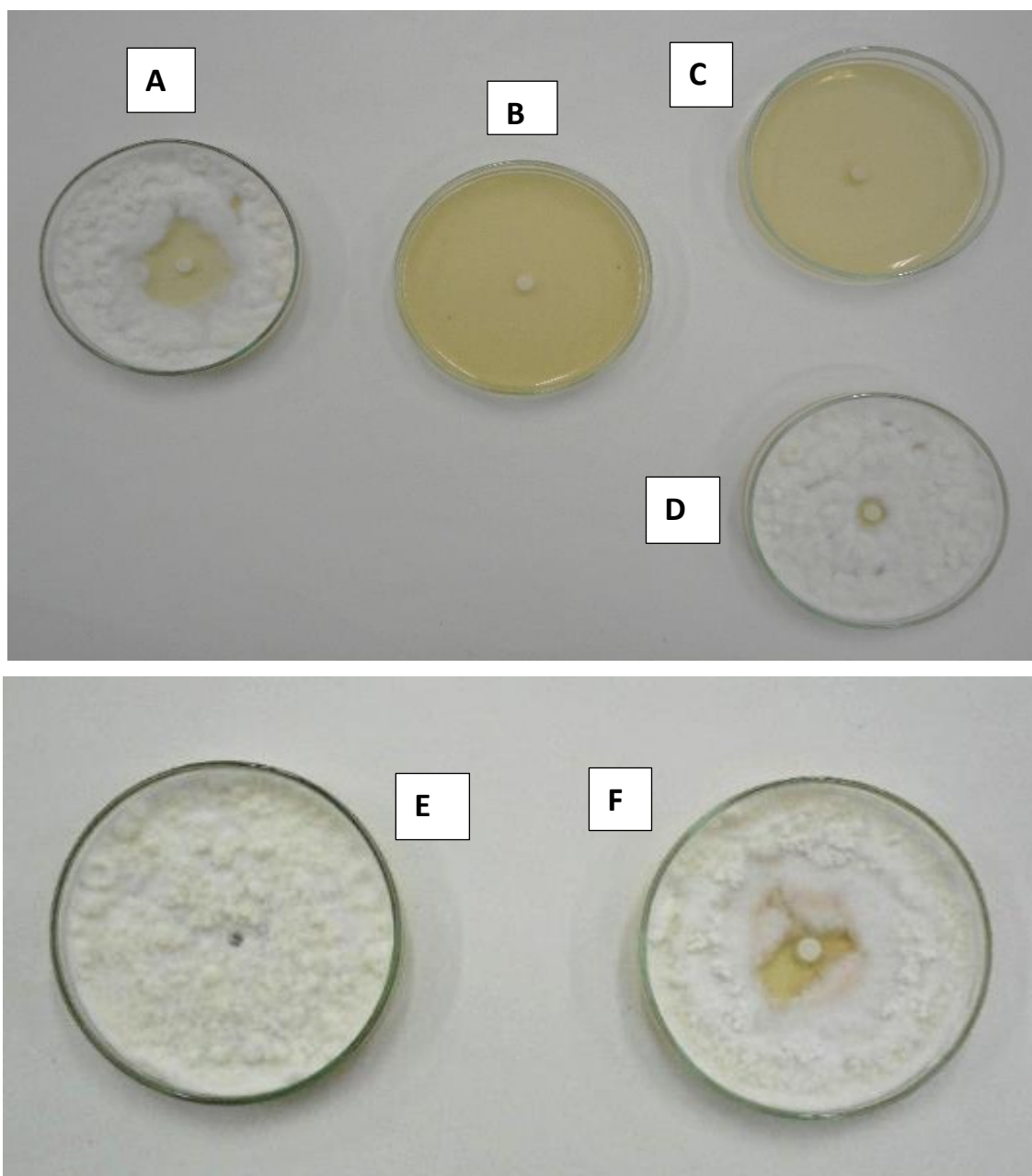
Tabela 15. Zahamowanie wzrostu (%) kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z dodatkiem wywaru pozyskanego z suszu *O. vulgare* ssp. *hirtum* z roślin jedno-, dwu- i trzyletnich, w zależności od roku uprawy i szczepu grzyba

Szczep grzyba	Procent inhibicji wzrostu kolonii grzybów przez wywar z suszonego ziela roślin								
	jednorocznych [dawka wywaru 30%]			dwuletnich [dawka wywaru 15%]			trzyletnich [dawka wywaru 15%]		
	2015	2016	Średnia dla szczepu (B)	2016	2017	Średnia dla szczepu (B)	2017	2018	Średnia dla szczepu (B)
<i>Alternaria</i> sp.	85,6	100,0	92,8	100,0	90,2	95,1	90,2	81,3	85,8
<i>A. niger</i>	54,5	91,0	72,8	85,0	62,9	74,0	83,9	43,0	63,5
<i>B. cinerea</i>	93,7	93,3	93,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>C. herbarum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<i>F. oxysporum</i>	88,1	100,0	94,1	91,2	89,2	90,2	91,1	85,6	88,4
<i>P. cyclopium</i>	60,0	73,8	66,9	73,0	73,2	73,1	75,9	63,4	69,7
<i>S. sclerotiorum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	98,1	99,1	98,1	100,0	99,1
<i>T. roseum</i>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Średnia dla lat (A)	85,2	94,8	-	93,7	89,2	-	92,4	84,2	-
NIR _{0,05}	A=1,499 B=4,767 B/A=6,742 A/B=4,239			A=0,127 B=0,405 B/A=0,573 A/B=0,360			A=0,670 B=2,132 B/A=3,016 A/B=1,896		
Średni % inhibicji wszystkich szczepów	90,0			91,4			88,3		
NIR _{0,05}	n. i.								

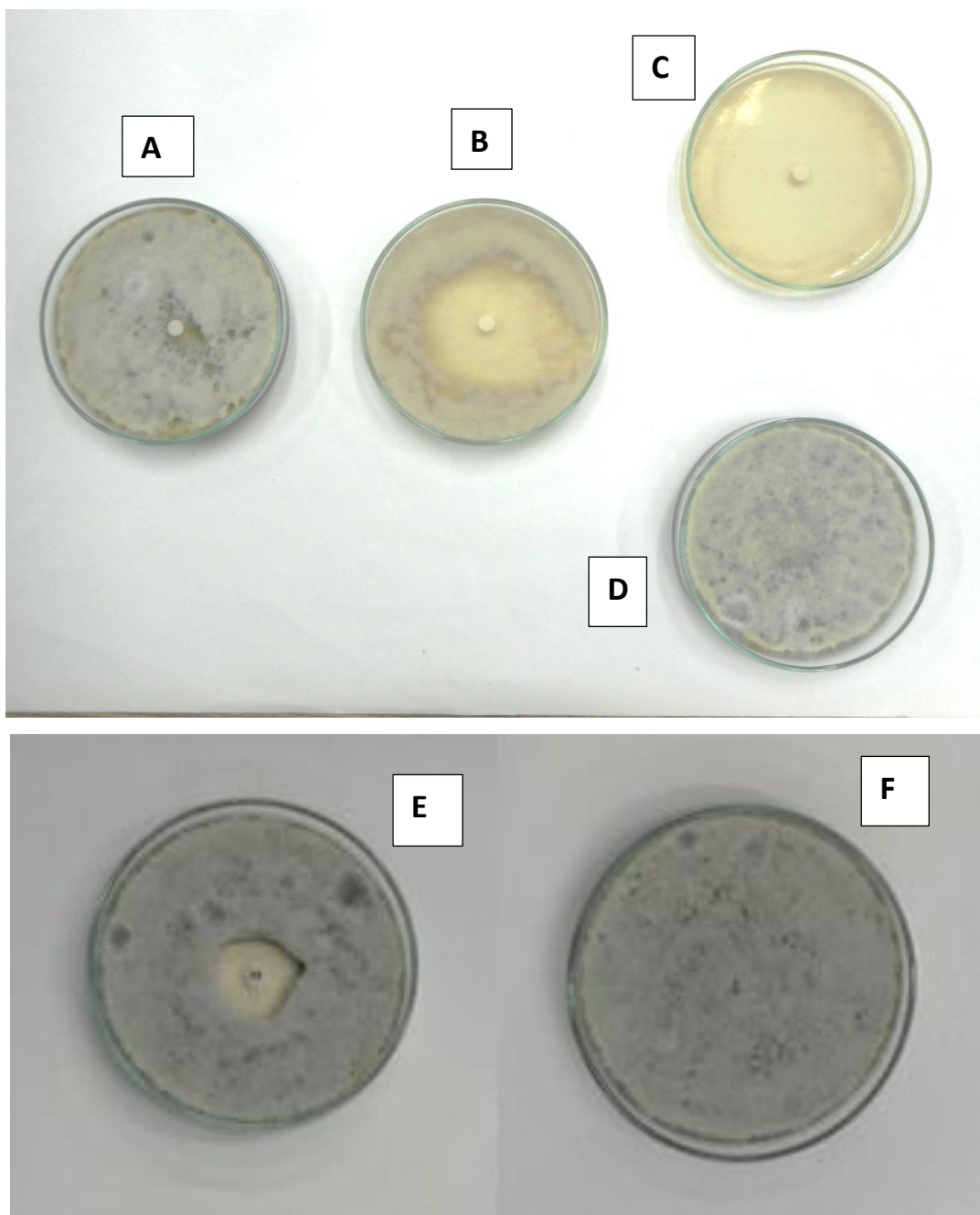
czynnik A – rok uprawy roślin, z ziela których sporządzono wywar, czynnik B – szczep grzyba

5.3.2. Aktywność przeciwgrzybowa olejków, sproszkowanego suszu i wywarów otrzymanych z ziela *ssp. vulgare*

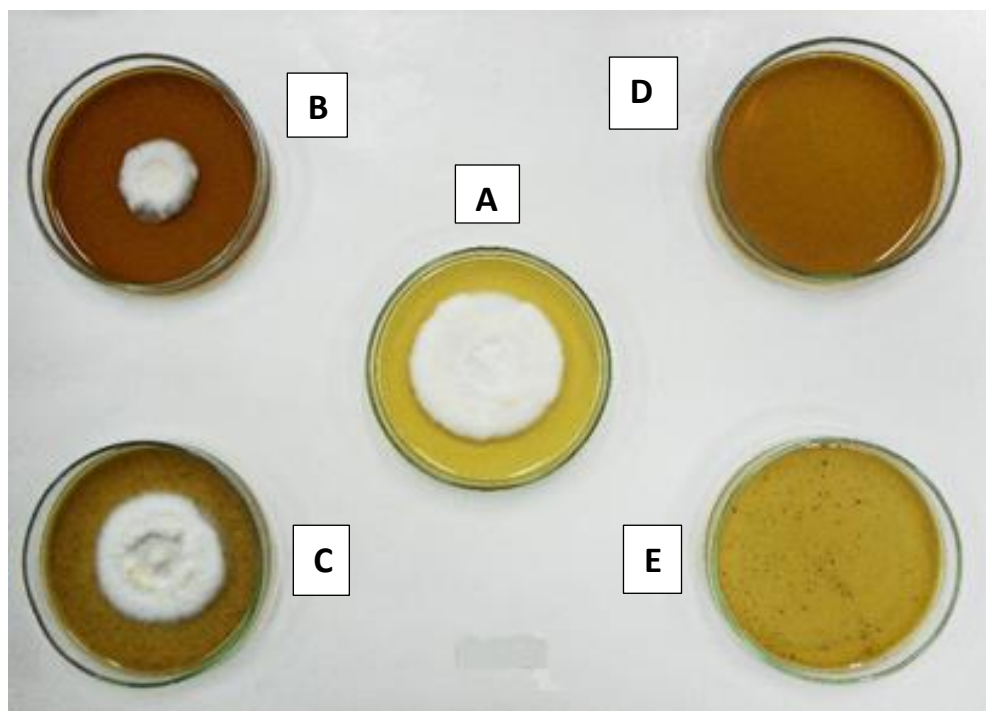
Poziom aktywności przeciwgrzybiczej olejków, sproszkowanego suszu i wywarów pozyskanych z powietrznie suchego ziela *ssp. vulgare*, różnił się diametralnie od aktywności tych pochodnych otrzymanych z *ssp. hirtum*. Dokumentują to fotografie 1-4 oraz wyniki przedstawione w tabelach 16 i 17.



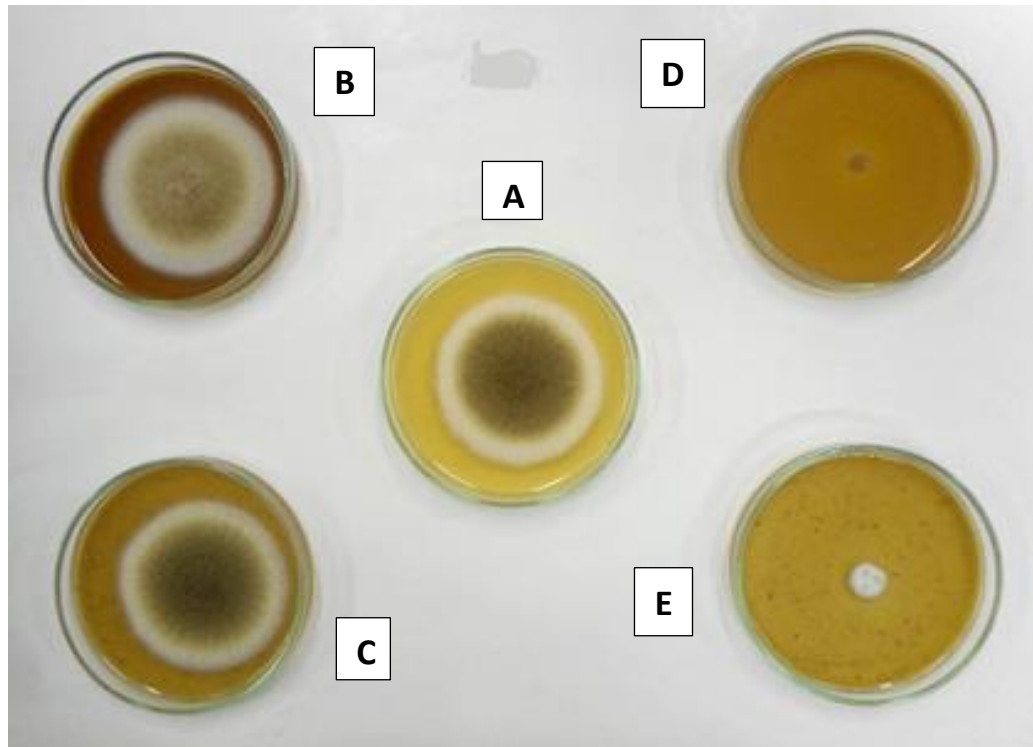
Fot. 1. Wpływ olejków i substancji kontrolnych na wielkość strefy zahamowania wzrostu *T. roseum* w 6 dobie obserwacji – olejek *ssp. hirtum*: 1 μ l/krażek (A), 5 μ l/krażek (B) 10 μ l/krażek (C); olejek *ssp. vulgare* dawka 10 μ l/krażek (D); nystatyna (E); Topsin M (F)



Fot. 2. Wpływ olejków i substancji kontrolnych na wielkość strefy zahamowania wzrostu *Alternaria sp.* w 6 dobie obserwacji – olejek *ssp. hirtum*: 1 μ l/krążek (A), 5 μ l/krążek (B), 10 μ l/krążek (C); olejek *ssp. vulgare* 10 μ l/krążek (D); nystatyna (E); Topsin M (F)



Fot. 3. Porównanie wzrostu kolonii *T. roseum* w 6 dobie hodowli: na podłożu kontrolnym (A), na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. *vulgare*: 30% wywaru (B), 1% suszu (C), na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. *hirtum*: 15% wywaru (D), 1% suszu (E)



Fot. 4. Porównanie wzrostu kolonii *A. niger* w 6 dobie hodowli: na podłożu kontrolnym (A); na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. *vulgare* 30% wywaru (B), 1% suszu (C); na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. *hirtum* 15% wywaru (D), 1% suszu (E)

Przeprowadzone badania wykazały, że olejek ssp. *vulgare* zastosowany w dawce 5 i 1µl/krażek, nie ograniczał wzrostu testowanych grzybów (wyników nie zamieszczono). Natomiast w dawce 10µl/krażek olejek ten wykazywał bardzo ograniczoną aktywność przeciwgrzybiczną (tabela 16, fot. 1 i 2). W przypadku olejków z roślin dwu- i trzyletnich niewielkie strefy zahamowania wzrostu (o średnicy 8,5-10,0 mm) odnotowano jedynie w działaniu tych olejków na *T. roseum* i *C. herbarum* (tab. 16). Szerszym spektrum aktywności odznaczał się olejek pozyskany z ziela roślin jednorocznych, ale tylko tych uprawianych w 2015 roku. Hamował on wzrost większości testowanych szczepów (oprócz *P. cyclopium* i *S. sclerotiorum*), jednak strefy inhibicji były niewielkie – od 8,0 (*A. niger*) do 26,0 mm (*T. roseum*).

Tabela 16. Wpływ olejku oreganowego *O. vulgare* ssp. *vulgare* pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich na wielkość średnicy stref zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w szóstej dobie inkubacji

Szczep	Średnice [mm]stref zahamowania wzrostu grzybów przez olejki [dawka 10 µl/krażek]					
	rośliny jednoroczne		rośliny dwuletnie		rośliny trzyletnie	
	2015	2016	2016	2017	2017	2018
<i>Alternaria sp.</i>	9,7	8,0	0,0*	0,0	0,0	0,0
<i>A. niger</i>	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>B. cinerea</i>	9,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. herbarum</i>	11,0	0,0	0,0	9,5	10,0	10,0
<i>F. oxysporum</i>	9,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>P. cyclopium</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>S. sclerotiorum</i>	0,0	17,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>T. roseum</i>	26,0	0,0	0,0	0,0	8,5	9,5

* - „0,0” oznacza brak hamowania wzrostu grzybów wokół krążka; pozostałe wartości obejmują średnicę krążka (6 mm)

Wyniki ilustrujące przeciwgrzybiczną aktywność sproszkowanego suszu oraz wywaru z ziela ssp. *vulgare* przedstawiono na fot. 3 i 4 oraz zamieszczono w tabeli 17. Badania przeprowadzono z zastosowaniem suszu i wywaru z roślin jednorocznych i dwuletnich, ponieważ brak zadowalających wyników sprawił, że nie kontynuowano tych badań w odniesieniu do roślin trzyletnich. Stwierdzono bowiem, że sproszkowany susz z ziela jednorocznych roślin ssp. *vulgare* (średnie z lat 2015, 2016) zastosowany w dawce 1%, w niewielkim stopniu ograniczał jedynie wzrost *T. roseum* (o 6,1%), nie ograniczał wzrostu *B. cinerea*, *C. herbarum*, *F. oxysporum* i *S. sclerotiorum*, a stymulował wzrost *Alternaria sp.*, *P. cyclopium* i *A. niger*. Obecność w podłożu suszu z ziela roślin dwuletnich, oprócz w/w szczepów, stymulowała także wzrost *C. herbarum*, natomiast

inhibitowała wzrost jedynie *T. roseum* i *F. oxysporum*. Średnie wartości wpływu suszu z ssp. *vulgare* na wzrost wszystkich badanych szczepów (-2,3 i -0,2%) wskazują, że ogólnie działał on stymulująco na wzrost grzybów. Przeciwwgrzybiczna aktywność wywarów otrzymanych z powietrznie suchego ziela roślin ssp. *vulgare* była większa niż suszu, ale również niska. Dane zamieszczone w tabeli 17 wskazują, że średnie zahamowanie wzrostu wszystkich testowanych grzybów wynosiło 8,4 i 11,6% odpowiednio przez wywary z roślin jedno- i dwuletних. Najbardziej efektywnie wywary ssp. *vulgare* hamowały wzrost *T. roseum* (o 41,9 i 50,5%), a w dalszej kolejności *C. herbarum* i *F. oxysporum*, nie miały natomiast wpływu na wzrost *B. cinerea* i *S. sclerotiorum*, a stymulowały wzrost *A. niger*, *Alternaria* sp. i *P. cyclopium*.

Tabela. 17. Procentowe zahamowanie wzrostu kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z dodatkiem suszu (1,0%) i wywaru (30%) pozyskanego z suszu *O. vulgare* ssp. *vulgare* z roślin jednorocznych i dwuletних

Szczep grzyba	% zahamowanie wzrostu przez susz, dawka do podłoża 1%		% zahamowanie wzrostu przez wywar, dawka do podłoża 30%	
	rośliny jednoroczne, średnia 2015-2016	rośliny dwuletние, średnia 2016-2017	rośliny jednoroczne, średnia 2015-2016	rośliny dwuletние, średnia 2016-2017
<i>Alternaria</i> sp.	-12,2	-0,1	-6,8	-0,1
<i>A. niger</i>	-1,4	-6,3	-5,7	-1,8
<i>B. cinerea</i>	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. herbarum</i>	0,0	-4,4	37,0	23,0
<i>F. oxysporum</i>	3,5	7,4	6,1	21,4
<i>P. cyclopium</i>	-10,4	-16,2	-5,0	-0,1
<i>S. sclerotiorum</i>	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>T. roseum</i>	6,1	17,8	41,9	50,5
Średnia	-2,3	-0,2	8,4	11,6

5.3.3. Porównanie aktywności przeciwbakteryjnej olejków ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*

W tabeli 18 przedstawiono strefy hamowania wzrostu trzech gatunków bakterii, przez olejki badanych podgatunków lebidki, wyodrębnione z ziela roślin dwuletних z 2016 r. Olejki stosowano w dawce 10 µl/krażek. Wzrost wszystkich testowanych bakterii najskuteczniej hamował olejek ssp. *hirtum* (25,0-42,3 mm), następnie ampicillina 10 (12,6-20,0 mm), a najmniejsze strefy hamowania wzrostu bakterii (9,0-18,3 mm) uzyskano pod wpływem olejku ssp. *vulgare*. Średnia strefa zahamowania wzrostu badanych bakterii powodowana przez olejek ssp. *hirtum* (34,5 mm) była istotnie większa niż wywołana działaniem ampicilliny i olejkiem ssp. *vulgare* (odpowiednio 15,9 i 13,5 mm, r.n.). Największe strefy zahamowania wzrostu oba olejki powodowały działając na bakterie G(+) z rodzaju *Bacillus*. Olejek ssp. *hirtum* również najmniejsze zahamowanie

wzrostu spowodował działając na bakterie G(+) z gatunku *E. faecalis*, natomiast olejek ssp. *vulgare* był najmniej efektywny wobec bakterii G(-) z gatunku *E. coli*. Pod wpływem ampicilliny, największe zahamowanie wzrostu odnotowano w działaniu na *E. coli*, a najmniejsze – na *E. faecalis*.

Tabela 18. Strefy zahamowania wzrostu bakterii przez olejki ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare* pozyskane z ziela roślin dwuletnich (z 2016 r.)

Bakterie	Wielkość stref zahamowania wzrostu [mm] przez olejek w dawce 10µl/krążek		Strefa zahamowania wzrostu [mm] przez substancję kontrolną
	ssp. <i>hirtum</i>	ssp. <i>vulgare</i>	ampicillina 10
<i>E. coli</i>	36,0	9,0	20,0
<i>E. faecalis</i>	25,0	13,3	12,6
<i>Bacillus</i> sp.	42,3	18,3	15,2
Średnia	34,5	13,5	15,9
NIR _{0,05}	15,335		

strefy mierzone wraz z krążkiem (6 mm), n=5; średnica szalki=90 mm

5.4. Wyniki doświadczeń „*in vivo*”

5.4.1. Doświadczenia z owocami truskawek

Owoce truskawek odmian ‘Senga Sengana’ i ‘Roxana’ zainfekowano płatkami grzybni *Botrytis cinerea* i poddano składowaniu w pojemnikach w atmosferze z oparami olejku ssp. *hirtum* oraz w atmosferze „normalnej” (kontrola). Owoce składowano 3 dni w temperaturze 20°C oraz 10 dni w temperaturze 5°C, obserwując rozwój grzyba. Stwierdzono, że na owocach obu odmian zainfekowanych *B. cinerea*, składowanych w obu temperaturach z zastosowaniem fumigacji olejkiem, nastąpiło całkowite zahamowanie rozwoju szarej pleśni, natomiast w kontroli, w temperaturze 20°C rozwój *B. cinerea* odnotowano na wszystkich zainfekowanych owocach (100%), a w temperaturze 5°C rozwój szarej pleśni był ograniczony do 60-80% owoców. Dokumentują to fot. 5 i 6.

Równolegle, w celu oceny zmian w składzie chemicznym truskawek, owoce niezainfekowane poddano składowaniu w podanych warunkach. Przed- i po składowaniu owoców i zbadano w truskawkach obu odmian zawartość suchej masy, ekstraktu ogólnego, cukrów ogółem, polifenoli ogółem, witaminy C (kwasu L-askorbinowego) oraz poziomu kwasowości ogólnej. Badania stanu początkowego owoców wykazały, że owoce ‘Senga Sengana’ (tab. 19) w porównaniu do owoców ‘Roxana’ (tab. 20) miały zbliżoną zawartość suchej masy (7,55 i 7,54%) i polifenoli ogółem (189,80 i 192,13 mg·100g⁻¹), więcej ekstraktu ogólnego (7,13 i 6,80%) i cukrów ogółem (5,30 i 4,58

$\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) oraz znacznie większą kwasowość (0,59 i 0,25%), zawierały natomiast mniej witaminy C (52,66 i 66,60 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$).



Fot. 5. Stan owoców ‘Senga Sengana’ zainfekowanych *B. cinerea*, po 3 dniach składowania w temp. 20°C: traktowane olejkami – po lewej, nietraktowane olejkami – po prawej



Fot. 6. Stan owoców ‘Roxana’ zainfekowanych *B. cinerea*, po 10 dniach składowania w temp. 5°C: traktowane olejkami – po lewej, nietraktowane olejkami – po prawej

Zmiany składu chemicznego owoców ‘Senga Sengana’ – kontrolnych (K) i poddanych działaniu oparów olejku (O), podczas ich składowania w temperaturze otoczenia i w chłodni, przedstawiono w tab. 19. Stwierdzono, że w owocach składowanych w temperaturze 20°C, zarówno kontrolnych jak i traktowanych olejkami, nastąpiło w porównaniu do stanu początkowego, istotne zmniejszenie zawartości suchej masy, ekstraktu ogólnego, cukrów ogółem, witaminy C oraz poziomu kwasowości ogólnej, natomiast zawartość polifenoli ogółem uległa zwiększeniu. Porównanie zawartości tych składników w owocach po składowaniu w temperaturze 20°C wskazuje,

że w owocach traktowanych olejkami i kontrolnych zawartość ekstraktu ogólnego i cukrów ogółem nie różniła się istotnie, natomiast w porównaniu do kontroli owoce traktowane olejkami miały mniej suchej masy oraz istotnie niższy poziom kwasowości ogólnej, ale zawierały istotnie więcej witaminy C oraz polifenoli ogółem. Mimo statystycznie istotnych różnic w zawartości wymienionych składników, ich poziom w owocach kontrolnych i traktowanych olejkami był do siebie zbliżony.

Owoce 'Senga Sengana' składowane 10 dni w 5°C, w porównaniu do stanu początkowego zawierały, podobnie jak te składowane w temperaturze pokojowej, istotnie więcej polifenoli ogółem a istotnie mniej pozostałych badanych składników (tab. 19). Należy przy tym podkreślić, że po składowaniu w 5°C w owocach traktowanych olejkami zawartość wszystkich ocenianych składników nie różniła się istotnie od ich zawartości w owocach kontrolnych. Wyjątek stanowiły cukry ogółem, których owoce traktowane olejkami zawierały statystycznie istotnie mniej niż kontrolne, ale praktycznie różnica w zawartości tego składnika były niewielka (odpowiednio 4,25 i 4,49 g·100g⁻¹).

Tabela 19. Porównanie zawartości niektórych składników w truskawkach 'Senga Sengana' traktowanych olejkami (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C

Obiekt oceny	Składniki					
	Sucha masa (%)	Ekstrakt ogólny (%)	Cukry ogółem (g·100g ⁻¹)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Witamina C (mg·100g ⁻¹)	Kwasowość ogólna (%)
Owoce 'Senga Sengana' przechowywane w temperaturze 20°C						
Truskawki przed przechowywaniem	7,55	7,13	5,30	189,80	52,66	0,59
Truskawki po 3 dniach w 20 °C, nietraktowane olejkami (K)	6,75	5,47	4,31	193,38	27,00	0,55
Truskawki po 3 dniach w 20°C, traktowane olejkami (O)	6,55	5,53	4,32	218,89	30,60	0,48
NIR _{0,05}	0,145	0,145	0,071	17,247	3,186	0,017
Owoce 'Senga Sengana' przechowywane w temperaturze 5°C						
Truskawki przed przechowywaniem	7,55	7,13	5,30	189,80	52,66	0,59
Truskawki po 10 dniach w 5°C, nietraktowane olejkami (K)	6,77	6,23	4,49	215,66	32,40	0,48
Truskawki po 10 dniach w 5°C, traktowane olejkami (O)	6,52	6,17	4,25	213,14	31,20	0,49
NIR _{0,05}	0,332	0,145	0,125	25,645	3,186	0,017

Porównanie zawartości składników w truskawkach ‘Senga Sengana’ po składowaniu w obu zastosowanych temperaturach wskazuje, że owoce przechowywane w chłodni, zarówno kontrolne jak i fumigowane olejkiem zawierały (po 10 dniach składowania) więcej ekstraktu ogólnego (6,23 i 6,17%), niż składowane 3 dni w temperaturze 20°C (K – 5,47% i O – 5,53%), natomiast poziom zawartości pozostałych składników był zbliżony.

Owoce ‘Roxana’ kontrolne i traktowane olejkiem (tab. 20) po składowaniu w temperaturze 20°C, zawierały w porównaniu do stanu początkowego istotnie mniej suchej masy, ekstraktu ogólnego oraz witaminy C, natomiast zawartość cukrów ogółem oraz kwasowość ogólna, uległy istotnemu obniżeniu jedynie w owocach fumigowanych olejkiem. Zawartość polifenoli ogółem w owocach fumigowanych olejkiem zmalała, a w kontrolnych wzrosła, ale w porównaniu do stanu początkowego nie różniła się istotnie. W efekcie zaistniałych zmian, po 3 dniach składowania w temperaturze 20°C, w owocach ‘Roxana’ traktowanych olejkiem zawartość wszystkich składników była istotnie mniejsza niż w owocach kontrolnych.

Tabela 20. Porównanie zawartości niektórych składników w truskawkach ‘Roxana’ traktowanych olejkiem (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C

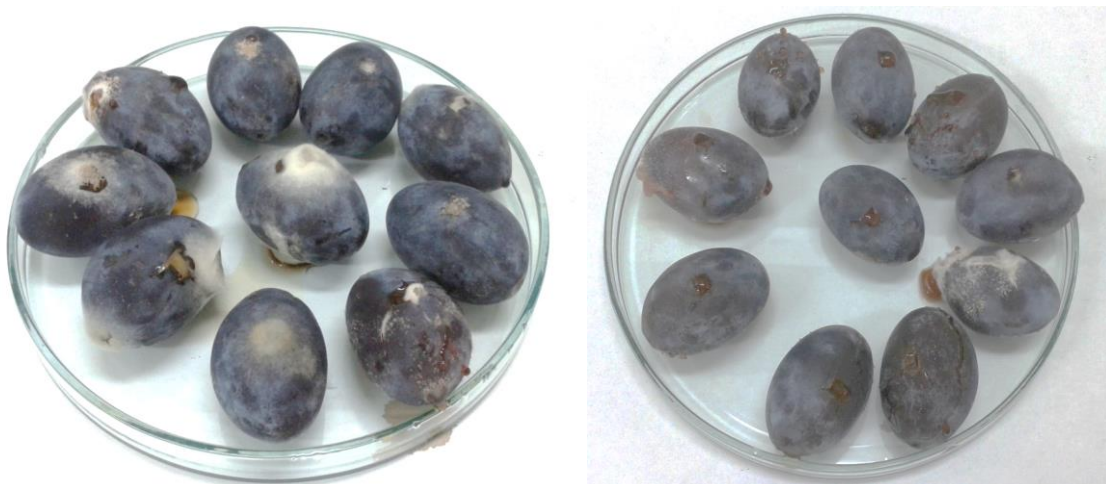
Obiekt oceny	Składniki					
	Sucha masa (%)	Ekstrakt ogólny (%)	Cukry ogółem (g·100g ⁻¹)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Witamina C (mg·100g ⁻¹)	Kwasowość ogólna (%)
Owoce ‘Roxana’ przechowywane w temperaturze 20°C						
Truskawki przed przechowywaniem	7,54	6,80	4,58	192,13	66,60	0,25
Truskawki po 3 dniach w 20°C, nietraktowane olejkiem (K)	7,22	6,38	4,53	221,96	46,62	0,25
Truskawki po 3 dniach w 20°C, traktowane olejkiem (O)	6,96	5,95	4,15	173,67	41,88	0,21
NIR _{0,05}	0,048	0,321	0,148	28,883	2,137	0,024
Owoce ‘Roxana’ przechowywane w temperaturze 5°C						
Truskawki przed przechowywaniem	7,54	6,80	4,58	192,13	66,60	0,25
Truskawki po 10 dniach w 5°C, nietraktowane olejkiem (K)	6,93	6,38	4,27	192,08	52,80	0,22
Truskawki po 10 dniach w 5°C, traktowane olejkiem (O)	7,50	6,90	4,74	165,28	40,80	0,20
NIR _{0,05}	0,127	0,403	0,232	n.i.	2,047	n.i.

Odmianą sytuację odnotowano w owocach 'Roxana' po 10 dniach składowania w temperaturze 5°C (tab. 20). Otóż w owocach traktowanych olejkiem w porównaniu do stanu początkowego, istotnemu obniżeniu uległa zawartość witaminy C, natomiast koncentracja pozostałych składników nie zmieniła się istotnie. Z kolei owoce kontrolne w porównaniu do stanu początkowego oraz owoców fumigowanych olejkiem zawierały istotnie mniej suchej masy, ekstraktu ogólnego oraz cukrów ogółem, natomiast zawartość polifenoli i kwasowość ogólna nie różniły się istotnie. Koncentracja witaminy C w owocach kontrolnych uległa istotnemu obniżeniu w porównaniu do stanu początkowego, ale była istotnie wyższa niż w owocach traktowanych olejkiem.

Wyniki doświadczeń wskazują, że zastosowanie olejku podczas składowania owoców obu odmian truskawek, zarówno w temperaturze pokojowej jak chłodniczej, ograniczało na nich rozwój pleśni. Biorąc pod uwagę zmiany zawartości składników chemicznych, owoce zwłaszcza odmiany 'Roxana' składowane w temperaturze 20°C i traktowane olejkiem ulegały w porównaniu z kontrolnymi, bardziej zaawansowanym zmianom. Z kolei połączenie działania olejku i chłodniczej temperatury podczas składowania owoców obu odmian, działało ogólnie korzystniej na zachowanie badanych składników, niż zastosowanie samej niskiej temperatury. Jednak atmosfera olejku podczas składowania owoców 'Roxana' w obu temperaturach, wpływała na większą degradację witaminy C.

5.4.2. Doświadczenia z owocami śliwek

Owoce śliwek 'Węgierka Zwykła' zainfekowane płatkami grzybnia *B. cinerea* oraz niezainfekowane, składowano w atmosferze normalnej (K) oraz w oparach olejku ssp. *hirtum* (O), w temperaturach 20°C (7 dni) i 5°C (28 dni). Stwierdzono, że na zainfekowanych owocach śliwek składowanych w temperaturze 20°C i traktowanych olejkiem, rozwój *B. cinerea* wystąpił jedynie na 10-20 % owoców, a na kontrolnych objął 80-100 % owoców. Na owocach zainfekowanych i przechowywanych w temp. 5°C w atmosferze olejku po 28 dniach rozwój porażenia wynosił 0-10%, a na kontrolnych 60-80%. Pozytywny wpływ fumigacji olejkiem na ograniczenie rozwoju *B. cinerea* i stan mikrobiologiczny śliwek 'Węgierka Zwykła' przechowywanych w temperaturze 20 i 5°C wskazują fot. 7 i 8.



Fot. 7. Stan mikrobiologiczny śliwek 'Węgierka Zwykła' zainfekowanych *B. cinerea*, po 7 dniach składowania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkim – po lewej, traktowane olejkim – po prawej



Fot. 8. Stan mikrobiologiczny owoców śliwek 'Węgierka Zwykła' zainfekowanych *B. cinerea*, po 28 dniach składowania w temperaturze 5°C: nietraktowane olejkim – na górze, traktowane olejkim – na dole

W tabeli 21 zamieszczono wyniki ilustrujące zmiany zawartości niektórych składników chemicznych podczas przechowywania w temperaturze 20 i 5°C śliwek niezainfekowanych, traktowanych (O) i nietraktowanych olejkami (K). Początkowa średnia zawartość badanych składników w śliwkach przechowywanych w 20°C wynosiła: 19,05 % suchej masy, 18,03% ekstraktu ogólnego, cukrów ogółem 11,08 g · 100g⁻¹, polifenoli ogółem 107,91 mg · 100g⁻¹ oraz 1,38 % kwasów organicznych. Po 7 dniach przechowywania, w owocach (O) i (K) nastąpiło w porównaniu do stanu początkowego, istotne obniżenie zawartości suchej masy (do 18,05 i 17,97 %), ekstraktu ogólnego (do 17,20 i 17,03 %) oraz kwasowości ogólnej (do 1,09 i 1,20 %), koncentracja polifenoli zmalała nieistotnie, natomiast zawartość cukrów ogółem w owocach kontrolnych istotnie wzrosła (do 11,34 g · 100g⁻¹), a w owocach traktowanych olejkami utrzymała się na poziomie początkowym. W wyniku tych zmian w śliwkach traktowanych olejkami w porównaniu do kontrolnych było po przechowaniu w temperaturze 20°C, istotnie mniej cukrów i kwasów organicznych, natomiast średnia zawartość suchej masy, ekstraktu ogólnego i polifenoli nie różniła się istotnie.

Tabela 21. Porównanie zawartości niektórych składników w śliwkach 'Węgierka Zwykła' traktowanych olejkami (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Ekstrakt ogólny (%)	Cukry ogółem (g · 100g ⁻¹)	Polifenole ogółem (mg · 100g ⁻¹)	Kwasowość ogólna (%)
Śliwki przechowywane w temperaturze 20°C					
Śliwki przed przechowywaniem	19,05	18,03	11,08	107,91	1,38
Śliwki po 7 dniach w temp. 20°C, nietraktowane olejkami (K)	18,01	17,03	11,34	107,19	1,20
Śliwki po 7 dniach w temp. 20°C, traktowane olejkami (O)	18,05	17,20	11,08	101,41	1,09
NIR _{0,05}	0,155	0,187	0,136	n.i.	0,024
Śliwki przechowywane w temperaturze 5°C					
Śliwki przed przechowywaniem	17,81	17,20	11,34	70,88	1,17
Śliwki po 28 dniach w temp. 5°C, nietraktowane olejkami (K)	15,64	14,90	10,24	102,45	1,01
Śliwki po 28 dniach w temp. 5°C, traktowane olejkami (O)	16,25	15,80	10,52	89,54	0,98
NIR _{0,05}	0,243	0,392	0,270	9,838	0,042

Śliwki poddane przechowywaniu w temperaturze 5°C zawierały początkowo 17,81 % suchej masy, 17,20 % ekstraktu ogólnego, 11,34 g · 100g⁻¹ cukrów ogółem, 70,88 mg · 100g⁻¹ polifenoli i 1,17% kwasów organicznych (tab. 21). Po 28 dniach

przechowywania w warunkach chłodniczych, w owocach traktowanych i nietraktowanych olejkami zmniejszyła się istotnie zawartość wszystkich badanych składników, za wyjątkiem polifenoli ogółem, których koncentracja istotnie wzrosła (odpowiednio do 89,54 i 102,45 mg · 100g⁻¹). Po przechowaniu owoce traktowane olejkami w porównaniu do kontrolnych, zawierały istotnie więcej suchej masy, ekstraktu ogólnego i cukrów ogółem, miały zbliżony poziom kwasowości ogólnej oraz istotnie mniej polifenoli. Podsumowując można stwierdzić, że w porównaniu z kontrolą, fumigacja olejkami nie powodowała niekorzystnych zmian zawartości składników w śliwkach przechowywanych zwłaszcza w temperaturze 5°C, ale także w temperaturze 20°C różnica zawartości cukrów i kwasów organicznych na rzecz owoców kontrolnych była praktycznie niewielka, chociaż statystycznie istotna.

5.4.3. Doświadczenie z korzeniami marchwi 'Perfekcja'

Korzenie marchwi infekowane *S. sclerotiorum* składowano 10 dni w temperaturze otoczenia w warunkach traktowania olejkami (fumigacja oparami olejku ssp. *hirtum* przy dawce 100µl olejku · 1dm³ komory) oraz w atmosferze normalnej. Równolegle korzenie marchwi nieinfekowane *S. sclerotiorum* przechowywano w/w warunkach. W korzeniach tych przy założeniu oraz po zakończeniu doświadczenia oznaczono zawartość suchej masy oraz niektórych jej składników.

Na fot. 9 przedstawiono rozwój *S. sclerotiorum* na korzeniach marchwi nietraktowanych i traktowanych olejkami, po zakończeniu doświadczenia. Stwierdzono, że pod wpływem oparów olejku rozwój testowanego grzyba w warunkach *in vivo* był w porównaniu z kontrolą widocznie zahamowany. Korzenie te wykazywały również mniejsze objawy wyrastania naci.

Badania składu chemicznego korzeni marchwi wykazały (tab. 22), że przed składowaniem korzenie zawierały średnio 10,71% suchej masy, 7,28 % cukrów ogółem, 21,24 mg · 100g⁻¹ polifenoli ogółem, 133,29 mg · 100g⁻¹ karotenoidów ogółem i 0,66% błonnika surowego. Po składowaniu w korzeniach istotnie zmalała zawartość suchej masy i cukrów ogółem, ale korzenie traktowane olejkami zachowały tych składników istotnie więcej niż korzenie kontrolne (odpowiednio 9,14 i 8,86% suchej masy oraz 5,96 i 5,22% cukrów). W porównaniu do stanu początkowego w obu grupach korzeni nie zmieniła się istotnie zawartość błonnika, natomiast zawartość karotenoidów ogółem wzrosła istotnie do tego samego poziomu (179,83 mg · 100g⁻¹). Z kolei koncentracja polifenoli ogółem w korzeniach kontrolnych wzrosła, a w traktowanych olejkami

zmałała, zatem średnia ich zawartość w korzeniach (K) i (O) różniła się statystycznie istotnie (23,58 i 19,95 mg·100g⁻¹), aczkolwiek praktycznie – nieznacznie. Można więc stwierdzić, że skład fumigowanych olejkami korzeni marchwi ‘Perfekcja’ nie ulegał, w porównaniu do kontrolnych, niekorzystnym zmianom.



Fot. 9. Stan korzeni marchwi ‘Perfekcja’ zainfekowanych *S. sclerotiorum*, po 10 dniach przechowywania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkami – na górze, traktowane olejkami – na dole

Tabela 22. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Perfekcja’ nietraktowanych (K) i traktowanych olejkami (O) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Cukry ogółem (%)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Błonnik surowy (%)	Karotenoidy ogółem (mg·kg ⁻¹)
Korzenie przed przechowywaniem	10,71	7,28	21,24	0,66	133,29
Korzenie po 10 dniach przechowywania nietraktowane olejkami (K)	8,86	5,22	23,58	0,59	179,83
Korzenie po 10 dniach przechowywania traktowane olejkami (O)	9,14	5,96	19,95	0,61	179,83
NIR _{0,05}	0,114	0,106	2,247	n.i.	24,388

5.4.4. Doświadczenie z pomidorami *cherry*

Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie olejku *ssp. hirtum* spowodowało całkowite zahamowanie rozwoju *Alternaria* sp. na pomidorach *cherry*, zainfekowanych tym grzybem i poddanych przechowywaniu. W obiektach kontrolnych, nietraktowanych olejkami, rozwój grzyba odnotowano na 90-100% owoców pomidora (fot. 10).



Fot. 10. Stan pomidorów *cherry* zainfekowanych *Alternaria* sp., po 7 dniach przechowywania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkami – po lewej, traktowane olejkami – po prawej

W czasie przechowywania traktowanych i nietraktowanych olejkami pomidorów *cherry* niezainfekowanych *Alternaria* sp. (tab. 23), nastąpiło w nich w porównaniu do stanu przed składowaniem, istotne obniżenie zawartości suchej masy, ekstraktu ogólnego i witaminy C oraz istotny wzrost zawartości polifenoli ogółem. Wzrosła też koncentracja cukrów ogółem, przy czym istotnie jedynie w pomidorach traktowanych olejkami. Nie odnotowano natomiast istotnych zmian poziomu kwasowości ogólnej. Po składowaniu

zawartość wszystkich analizowanych składników w pomidorach *cherry* traktowanych olejkiem nie różniła się istotnie od ich zawartości w obiekcie kontrolnym.

Tabela 23. Porównanie zawartości składników w pomidorach *cherry* nietraktowanych (K) i traktowanych olejkiem (O) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Ekstrakt ogólny (%)	Cukry ogółem (%)	Witamina C (mg · 100g ⁻¹)	Polifenole ogółem (mg · 100g ⁻¹)	Kwasowość ogólna (%)
Pomidory przed przechowywaniem	6,11	5,60	3,54	30,60	34,51	0,40
Pomidory po 7 dniach przechowywania, nietraktowane olejkiem (K)	5,61	5,15	3,68	23,40	41,68	0,38
Pomidory po 7 dniach przechowywania, traktowane olejkiem (O)	5,69	5,25	3,77	21,00	44,63	0,38
NIR _{0,05}	0,191	0,241	0,184	3,546	7,122	n.i.

5.5.5. Wpływ olejku i wywaru *ssp. hirtum* na stan mikrobiologiczny i skład chemiczny przechowywanych korzeni marchwi i pietruszki

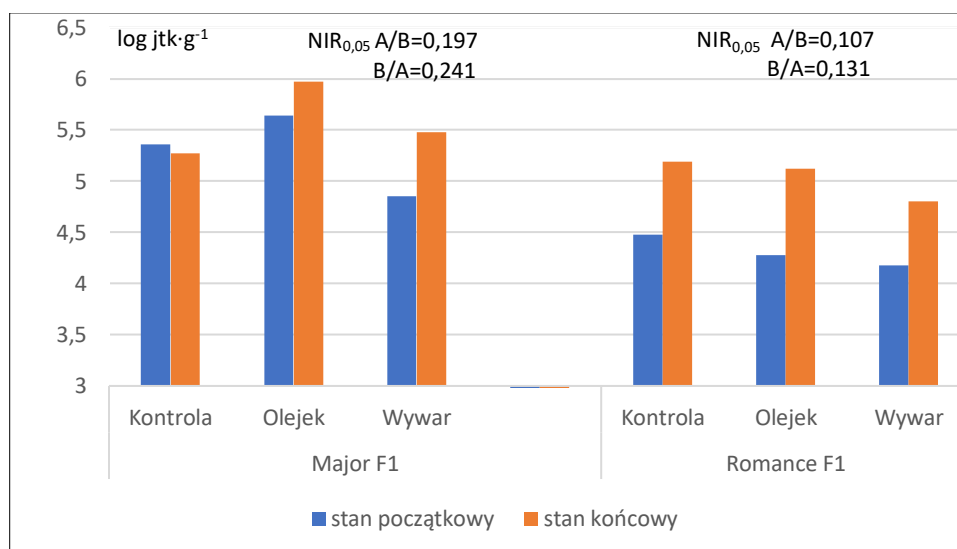
Korzenie marchwi ‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’ oraz pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ przechowywano 2 miesiące w temperaturze 5°C w trzech wariantach: w atmosferze oparów olejku (dawka 100 µl/1dm³ pojemnika), w atmosferze normalnej po wstępnym namoczeniu korzeni w wywarze i powierzchniowym ich osuszeniu oraz w normalnej atmosferze (kontrola). W pierwszym tygodniu i na końcu okresu przechowywania, materiał doświadczalny poddano badaniom mikrobiologicznym obejmującym oznaczanie ogólnej liczby bakterii i grzybów pleśniowych oraz wykonano oznaczenia zawartości niektórych składników chemicznych.

5.5.5.1. Wyniki doświadczeń z korzeniami marchwi ‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’

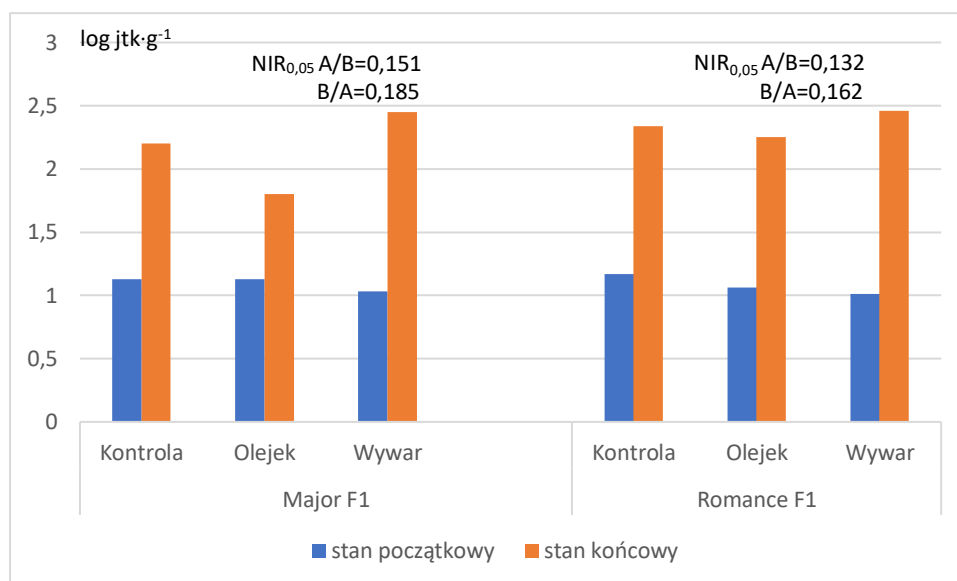
Stan mikrobiologiczny na początku i na końcu okresu przechowywania korzeni marchwi ‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’ – kontrolnych oraz traktowanych olejkiem i wywarem, przedstawiono na rysunkach 5, 6. Stwierdzono, że początkowa ogólna liczba bakterii (rys. 5) w korzeniach ‘Major F₁’ była wyższa (4,85-5,64 log jtk·g⁻¹) i bardziej zróżnicowana niż w ‘Romance F₁’ (4,18-4,48 log jtk·g⁻¹). Początkowa liczba bakterii w marchwi ‘Major F₁’ była istotnie najmniejsza w korzeniach traktowanych wywarem, a istotnie największa w traktowanych olejkiem, natomiast w marchwi ‘Romance F₁’ zarówno w korzeniach traktowanych wywarem jak i olejkiem, początkowa liczba bakterii była istotnie mniejsza niż w kontrolnych. Podczas przechowywania w korzeniach obu odmian i we wszystkich analizowanych wariantach, liczba bakterii istotnie wzrosła, za

wyjątkiem korzeni kontrolnych ‘Major F₁’, w których liczba bakterii uległa niewielkiej redukcji. Po przechowywaniu korzenie ‘Major F₁’ – kontrolne i traktowane wywarem, odznaczały się istotnie mniejszą liczbą bakterii (5,27 i 5,48 log jtk·g⁻¹) niż traktowane olejkami (5,97 log jtk·g⁻¹), jednak w traktowanych wywarem wzrost liczby bakterii był największy. Z kolei w korzeniach marchwi ‘Romance F₁’ traktowanych wywarem podczas przechowywania wzrost liczby bakterii był najmniejszy i odznaczały się one po przechowywaniu istotnie mniejszą liczbą bakterii (4,80 log jtk·g⁻¹) niż traktowane olejkami i kontrolne (5,12 i 5,19 log jtk·g⁻¹).

Początkowa liczba grzybów pleśniowych w korzeniach obu odmian marchwi była do siebie zbliżona (w ‘Major F₁’ 1,03-1,13 log jtk·g⁻¹ oraz 1,01-1,17 log jtk·g⁻¹ w ‘Romance F₁’), (rys. 6). Stwierdzono, że po przechowywaniu w korzeniach analizowanych grup obu odmian marchwi, nastąpił istotny wzrost liczby grzybów pleśniowych, przy czym największy w korzeniach traktowanych wywarem. Istotnie najmniejszą liczbą grzybów pleśniowych odznaczały się po przechowaniu marchwi ‘Major F₁’ korzenie traktowane olejkami (1,80 log jtk·g⁻¹), a w ‘Romance F₁’ również najmniej tych drobnoustrojów występowało w korzeniach traktowanych olejkami (2,25 log jtk·g⁻¹), ale ich liczba nie różniła się istotnie od poziomu w korzeniach kontrolnych (2,34 log jtk·g⁻¹).



Rys. 5. Zmiany ogólnej liczby bakterii w korzeniach marchwi ‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B)



Rys. 6. Zmiany liczby grzybów pleśniowych w korzeniach marchwi ‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B)

Zmiany zachodzące w składzie chemicznym przechowywanych korzeni marchwi – traktowanych olejkami i wywarem oraz kontrolnych, przedstawiono w tabelach 24 i 25.

Tabela 24. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Major F₁’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkami i wywarem

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Cukry ogółem (%)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Błonnik surowy (%)	Karotenoidy ogółem (mg·kg ⁻¹)
Korzenie przed przechowywaniem	12,10	5,54	12,28	0,82	155,82
Korzenie kontrolne po przechowywaniu	11,45	6,58	17,61	0,76	150,63
Korzenie po przechowywaniu, traktowane olejkami	12,77	7,18	19,84	0,79	173,67
Korzenie po przechowywaniu, traktowane wywarem	11,06	6,14	22,22	0,71	189,60
NIR _{0,05}	0,140	0,279	6,525	n.i.	32,513

* - czas 2 miesiące, temperatura 5°C (podobnie dla tab. 25, 26, 27)

Uzyskane wyniki wskazują, że w marchwi ‘Major F₁’ (tab. 24) po przechowywaniu zawartość suchej masy w porównaniu do stanu początkowego (12,10 %), istotnie wzrosła w korzeniach traktowanych olejkami (12,77 %), a istotne jej obniżenie nastąpiło w korzeniach kontrolnych (11,45 %) i traktowanych wywarem (11,07 %). We wszystkich grupach korzeni tej odmiany odnotowano po przechowywaniu istotny wzrost zawartości cukrów ogółem (z poziomu 5,54 %), przy czym był on największy w korzeniach traktowanych olejkami (do 7,18 %), a najmniejszy w traktowanych wywarem (do 6,14

%). Wzrosła również zawartość polifenoli – istotnie w korzeniach traktowanych wywarem i olejkim (z 12,28 do odpowiednio 22,22 i 19,84 mg·100g⁻¹), a nieistotnie w kontrolnych. Zróznicowane zmiany nastąpiły w zawartości karotenoidów ogółem – wzrost w korzeniach traktowanych wywarem (ze 155,82 do 189,60 mg·kg⁻¹, różnice istotne) i olejkim, a nieznaczne obniżenie w korzeniach kontrolnych. W porównaniu do stanu przed przechowywaniem (0,82 %), zawartości błonnika po przechowaniu nie różniły istotnie, ale najmniej tego składnika (0,71 %) stwierdzono w korzeniach traktowanych wywarem.

W marchwi ‘Romance F₁’ (tab. 25) początkowa zawartość suchej masy (10,30 %) uległa podczas przechowywania obniżeniu – nieistotnemu (do 10,12 %) w korzeniach traktowanych olejkim, a istotnemu w traktowanych wywarem (do 9,97 %) i kontrolnych (do 9,45 %). W korzeniach traktowanych olejkim i wywarem stwierdzono po przechowaniu istotny wzrost koncentracji cukrów ogółem (z 6,88 do 7,17 i 7,13 %) podczas gdy w korzeniach kontrolnych ich zawartość nie zmieniła się. W przechowywanych korzeniach wszystkich grup marchwi ‘Romance F₁’ wzrosła istotnie zawartość polifenoli ogółem, przy czym najbardziej w korzeniach kontrolnych i traktowanych olejkim (z 11,77 do 31,17 i 29,85 mg·100g⁻¹). Z kolei w porównaniu do stanu przed przechowywaniem, zawartości błonnika surowego i karotenoidów nie różniły się istotnie, ale najwięcej tych cennych składników stwierdzono w korzeniach traktowanych olejkim (odpowiednio 0,50 % oraz 121,72 mg·kg⁻¹).

Tabela 25. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Romance F₁’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkim i wywarem

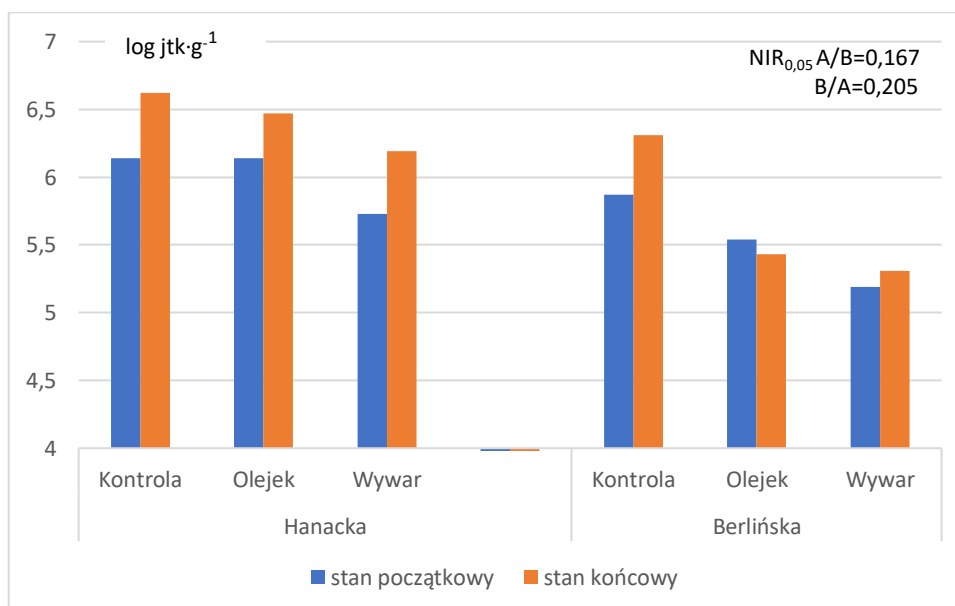
Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Cukry ogółem (%)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Błonnik surowy (%)	Karotenoidy ogółem (mg·kg ⁻¹)
Korzenie przed przechowywaniem	10,30	6,88	11,77	0,36	112,91
Korzenie kontrolne po przechowaniu	9,45	6,89	31,17	0,43	111,67
Korzenie po przechowaniu, traktowane olejkim	10,12	7,17	29,85	0,50	121,72
Korzenie po przechowaniu traktowane wywarem	9,97	7,13	18,97	0,48	106,60
NIR _{0,05}	0,226	0,127	4,504	n.i.	n.i.

Podsumowując zastosowanie olejku i wywaru ssp. *hirtum* do przechowywania korzeni marchwi można stwierdzić, że wpłynęły one w porównaniu z kontrolą na

częściowe ograniczenie liczby badanych grup drobnoustrojów, jednak efekt ich działania był stosunkowo niewielki i zróżnicowany w zależności od odmiany marchwi (rys. 5, 6). Korzenie traktowane olejkami odznaczały się po przechowaniu istotnie mniejszą liczbą grzybów pleśniowych, ale tylko w przypadku odmiany ‘Major F₁’ (rys. 6), natomiast w obu odmianach zawartość suchej masy i cukrów ogółem była po przechowaniu istotnie większa niż w korzeniach kontrolnych, a zawartość pozostałych składników nie różniła się istotnie od ich poziomu w korzeniach kontrolnych (tab. 24 i 25). Traktowanie wywarem korzeni obu odmian sprzyjało wzrostowi liczby grzybów pleśniowych, natomiast działało korzystnie na ograniczenie początkowej i końcowej liczby bakterii, ale tylko w marchwi ‘Romance F₁’. W korzeniach tej odmiany wywar powodował też mniejsze zmiany zawartości składników niż w korzeniach ‘Major F₁’, które po przechowywaniu zawierały istotnie mniej suchej masy i cukrów ogółem niż traktowane olejkami i kontrolne (tab. 24 i 25).

5.5.5.2. Wyniki doświadczeń z korzeniami pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’

Ocena stanu mikrobiologicznego korzeni pietruszki (rys. 7, 8) wykazała, że początkowa liczba bakterii (rys. 7) była w korzeniach ‘Hanackiej’ (5,73-6,14 log jtk·g⁻¹) większa niż w ‘Berlińskiej’ (5,19-5,87 log jtk·g⁻¹), przy czym w korzeniach traktowanych wywarem najmniejsza, a największa w kontrolnych.

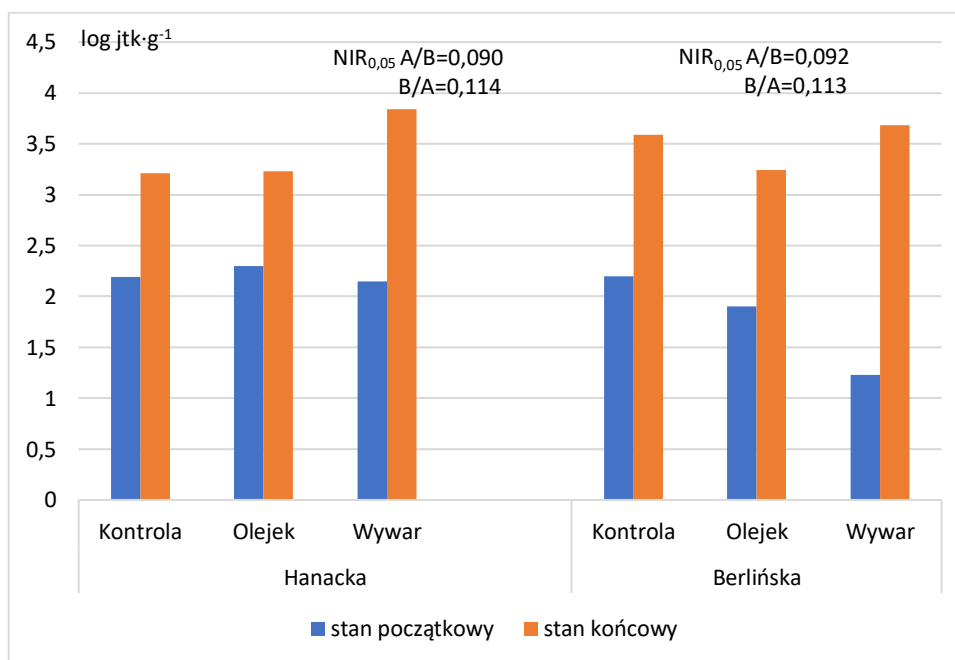


Rys. 7. Zmiany ogólnej liczby bakterii w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B)

Podczas przechowywania nastąpił wzrost liczby bakterii w korzeniach wszystkich grup pietruszki ‘Hanackiej’, natomiast w ‘Berlińskiej’ był on istotny w korzeniach

kontrolnych, zaś w korzeniach traktowanych olejkami odnotowano niewielką redukcję liczby bakterii. Końcowa liczba bakterii w korzeniach pietruszki obu odmian traktowanych wywarem, była najmniejsza (6,19 i 5,31 log jtk·g⁻¹, odpowiednio w ‘Hanackiej’ i ‘Berlińskiej’), a największa w korzeniach kontrolnych (odpowiednio 6,62 i 6,31 log jtk·g⁻¹).

Dane zamieszczone na rys. 8 wskazują, że traktowanie wywarem korzeni pietruszki obu odmian, wpływało na silniejszy rozwój grzybów pleśniowych, niż w korzeniach kontrolnych i traktowanych olejkami. Końcowa liczba pleśni była największa w korzeniach traktowanych wywarem (w ‘Hanackiej’ – istotnie), natomiast w korzeniach traktowanych olejkami – w ‘Hanackiej’ nie różniła się istotnie od stanu w korzeniach kontrolnych (3,23 i 3,21 log jtk·g⁻¹), a w ‘Berlińskiej’ była istotnie mniejsza niż w korzeniach kontrolnych (3,24 i 3,59 log jtk·g⁻¹).



Rys. 8. Zmiany liczby grzybów pleśniowych w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B)

Badania zmian w składzie chemicznym korzeni pietruszki wykazały, że w porównaniu do stanu początkowego, korzenie pietruszki ‘Hanacka’ wszystkich trzech wariantów, zawierały po przechowywaniu istotnie mniej suchej masy (spadek z 22,98 do 21,14-22,21%) i witaminy C (spadek z 60,24 do 26,88-43,68 mg·100g⁻¹), a istotnie więcej cukrów ogółem (wzrost z 4,90 do 6,14-7,17 g·100g⁻¹), natomiast zawartość polifenoli ogółem nie uległa istotnym zmianom (tab. 26). Z kolei zawartość błonnika zmniejszyła się istotnie, ale tylko w korzeniach traktowanych wywarem (z 1,31 do 1,01%). W wyniku

zaistniałych zmian, po przechowywaniu najwięcej suchej masy zachowały korzenie traktowane wywarem (22,21%), ale jej zawartość nie różniła się istotnie od koncentracji w korzeniach kontrolnych. Istotnie najmniej suchej masy zawierały po przechowywaniu korzenie traktowane olejkami (21,14%), a jednocześnie koncentracja cukrów ogółem była w nich istotnie największa (7,17 g·100g⁻¹), zaś istotnie mniej tego składnika stwierdzono w korzeniach kontrolnych i traktowanych wywarem (6,58 i 6,14 g·100g⁻¹). W korzeniach traktowanych wywarem pozostało też istotnie najmniej witaminy C (26,88 mg·100g⁻¹), podczas gdy w korzeniach traktowanych olejkami jej zawartość nie różniła się istotnie od poziomu w korzeniach kontrolnych (43,36 i 43,68 mg·100g⁻¹).

Tabela 26. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkami i wywarem

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Cukry ogółem (g·100g ⁻¹)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Witamina C (mg·100g ⁻¹)	Błonnik surowy (%)
Korzenie przed przechowywaniem	22,98	4,90	53,50	60,24	1,31
Korzenie kontrolne po przechowaniu	21,94	6,58	51,84	43,68	1,21
Korzenie po przechowaniu, traktowane olejkami	21,14	7,17	56,03	43,36	1,17
Korzenie po przechowaniu, traktowane wywarem	22,21	6,14	50,38	26,88	1,01
NIR _{0,05}	0,272	0,360	n.i.	1,728	0,141

Zatem korzenie pietruszki ‘Hanacka’ traktowane olejkami, w porównaniu do kontrolnych, zawierały po przechowaniu istotnie mniej suchej masy, ale istotnie więcej cukrów, zaś zawartość witaminy C, polifenoli i błonnika nie różniła się w nich istotnie. Z kolei traktowanie korzeni ‘Hanacka’ wywarem spowodowało w porównaniu do kontroli większe zmiany, gdyż korzenie te, po przechowywaniu zawierały nieco więcej suchej masy niż kontrolne, ale istotnie mniej cukrów ogółem, witaminy C i błonnika surowego.

Korzenie pietruszki ‘Berlińska’ (tab. 27) przed przechowaniem zawierały 18,72 % suchej masy, 6,50 % cukrów ogółem, 40,8 mg·100g⁻¹ witaminy C, 30,18 mg·100g⁻¹ polifenoli ogółem i 1,14% błonnika surowego. W porównaniu do stanu początkowego, podczas przechowywania korzeni ‘Berlińska’ zaszły zróżnicowane zmiany zawartości suchej masy – obniżyła się ona istotnie w korzeniach kontrolnych (do 16,30 %), wzrosła istotnie w korzeniach traktowanych wywarem (do 20,23 %, co może świadczyć o

większej utracie wody), a nie uległa istotnym zmianom w korzeniach traktowanych olejkami. Zawartość cukrów ogółem, podobnie jak w odmianie ‘Hanacka’, uległa istotnemu zwiększeniu we wszystkich grupach przechowywanych korzeni, ale największemu w traktowanych olejkami i wywarem (do 9,44 i 9,28 %). Wzrosła w nich również zawartość polifenoli, przy czym istotnie, jedynie w korzeniach traktowanych olejkami (do 37,92 mg·100g⁻¹). W korzeniach traktowanych olejkami i wywarem odnotowano natomiast istotny spadek koncentracji witaminy C, podczas gdy w korzeniach kontrolnych zawartość tego składnika utrzymała się na poziomie zbliżonym do początkowego. Zmiany zawartości błonnika były zróżnicowane – w korzeniach kontrolnych oraz traktowanych olejkami stwierdzono w porównaniu do stanu początkowego, odpowiednio nieistotne obniżenie i wzrost koncentracji tego składnika. Zatem po przechowywaniu korzenie pietruszki ‘Berlińska’ zarówno traktowane wywarem jak i olejkami, zawierały w porównaniu z kontrolą istotnie więcej suchej masy, nagromadziły w świeżej masie istotnie więcej cukrów ogółem, miały też nieznacznie więcej polifenoli ogółem, a traktowane olejkami istotnie więcej błonnika. Natomiast w korzeniach tych wariantów przechowywania, pozostało istotnie mniej witaminy C (31,00 i 34,20 mg·100g⁻¹), niż w kontrolnych (40,60 mg·100g⁻¹).

Tabela 27. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach pietruszki ‘Berlińska’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkami i wywarem

Obiekt oceny	Sucha masa (%)	Cukry ogółem (%)	Polifenole ogółem (mg·100g ⁻¹)	Witamina C (mg·100g ⁻¹)	Błonnik surowy (%)
Korzenie przed przechowywaniem	18,72	6,50	30,18	40,80	1,14
Korzenie kontrolne po przechowaniu	16,13	7,39	34,90	40,60	1,04
Korzenie po przechowaniu, traktowane olejkami	18,49	9,44	37,92	34,20	1,18
Korzenie po przechowaniu, traktowane wywarem	20,23	9,28	36,41	31,00	1,14
NIR _{0,05}	0,252	0,204	7,103	3,049	0,128

Podsumowując wyniki zastosowania olejku i wywaru do przechowywania pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ (rys. 7, 8 i tab. 26, 27) można stwierdzić, że efekt ich działania był, podobnie jak w przypadku korzeni marchwi, niejednoznaczny i zależny od odmiany. Traktowanie olejkami wpłynęło na porównaniu z kontrolą na istotnie mniejszą końcową liczbę bakterii i pleśni, ale tylko w korzeniach ‘Berlińskiej’. Korzenie tej

odmiany traktowane zarówno olejkami jak i wywarem, zawierały po przechowaniu więcej niż kontrolne wszystkich badanych składników, za wyjątkiem witaminy C. Traktowanie korzeni obu odmian wywarem korzystniej, w porównaniu z działaniem olejku i kontrolą, wpływało na ograniczenie początkowej i końcowej liczby bakterii, natomiast sprzyjało wzrostowi liczby pleśni. Traktowanie wywarem korzeni odmiany 'Hanaacka' miało w porównaniu z korzeniami kontroli i traktowanymi olejkami, niekorzystny wpływ na poziom zawartości cukrów ogółem, witaminy C i błonnika.

5.5.6. Trwałość ciętych kwiatostanów wyżlinu większego w roztworach olejku i wywaru z ssp. *hirtum*

Wyniki dotyczące oceny trwałości pozbiiorczej ciętych kwiatostanów wyżlinu większego, przedstawiono w tabeli 28. Stwierdzono, że średni czas ich trwałości „wazonowej”, średni ubytek roztworu, w którym były umieszczone oraz średni procentowy ubytek ich masy, były istotnie zależne od rodzaju zastosowanego roztworu oraz roku wegetacji roślin wyżlinu. Na wielkość ubytku roztworu i ubytku masy kwiatostanów istotny wpływ miało także współdziałanie obu czynników. Ubytek roztworu jest wskaźnikiem świadczącym przede wszystkim o pobraniu roztworu przez umieszczone w nim kwiaty.

Czas pozbiiorczej trwałości ciętych kwiatostanów wyżlinu, w obu latach doświadczenia, był najmniejszy, gdy były umieszczone w wodzie destylowanej (7,5 i 8,9 dni odpowiednio w 2016 i 2017 roku). Zbliżony czas trwałości w roku 2016 odnotowano dla kwiatostanów umieszczonych w 2,5% roztworze wywaru oraz olejku (100 µl olejku/1dm³ wody) – odpowiednio 10,5 i 10,2 dnia, a w roku 2017 dla umieszczonych w roztworze olejku w dawce 100 µl/1dm³ wody – 12,4 dnia. Najdłuższy średni czas trwałości (11,3 dni) miały kwiaty wyżlinu umieszczone w wodzie z dodatkiem 100 µl olejku/1dm³ wody, ale czas ten nie różnił się istotnie od czasu trwałości w roztworze 50 µl olejku/1dm³ wody (10,7 dnia), wywarze o koncentracji 2,5% (10,5 dnia) oraz w roztworze olejku w dawce 150 µl/1dm³ wody (10,1 dnia). Najkrótszym średnim czasem trwałości (8,2 dnia) charakteryzowały się kwiaty umieszczone w wodzie (kontrola), przy czym wartość ta nie różniła się istotnie od czasu trwałości w 5% roztworze wywaru (8,9 dnia). Średni czas trwałości ciętych kwiatów wyżlinu uprawianego w 2017 roku (10,7 dnia) był istotnie dłuższy, niż pochodzących z uprawy w roku 2016 (9,3 dnia).

Ubytek roztworu, w którym zanurzone były cięte kwiaty wyżlinu w obu latach prowadzenia doświadczenia (2016 i 2017) był istotnie mniejszy w przypadku pędów

umieszczonych w 5,0 % oraz 2,5% roztworze wywaru (odpowiednio 57,0 i 80,0 cm³ w 2016 oraz 36,5 i 42,0 cm³ w 2017 roku). Istotnie największy ubytek roztworu w 2016 roku odnotowano w wariancie kontrolnym (260,0 cm³), a w roku 2017 – w przypadku kwiatów umieszczonych w roztworze 150 µl olejku/1dm³ wody (232,5 cm³). Ubytki wody destylowanej oraz wody z dodatkiem 150 µl olejku/1dm³, powodowane przez umieszczone w nich kwiaty wyżłinu uprawianego w 2016 i 2017 roku, różniły się istotnie. Średni ubytek roztworów w analizowanych latach, był największy (210,5 cm³) przy zastosowaniu roztworu olejku w dawce 100 µl/1dm³ wody, ale nie różnił się on istotnie od średniego ubytku wody (208,0 cm³) oraz roztworu olejku w dawce 150 µl/1dm³ (202,3 cm³). Średni ubytek 5,0 % i 2,5% wywaru był istotnie mniejszy (odpowiednio 46,5 oraz 61,2 cm³), niż roztworów pozostałych. Średni ubytek roztworów, w których umieszczono cięte kwiaty wyżłinu uprawianego w 2017 roku (142,3 cm³), był istotnie większy, niż odnotowany w przypadku wyżłinu uprawianego w 2016 roku (121,0 cm³).



Fot. 11. Stan ciętych kwiatostanów wyżłinu umieszczonych: na lewo – w wodzie destylowanej (obiekt kontrolny), w środku – w wodzie z dodatkiem olejku ssp. *hirtum* (100 µl/1dm³) oraz na prawo – w 2,5% roztworze wywaru

Ocena wielkości ubytku masy kwiatostanów wyżłinu, dokonana w dniu upływu czasu ich trwałości wykazała, że wynosił on od -2,7% (przyrost masy) do 54,1 % w zależności od rodzaju roztworu i roku badań. Istotnie większym średnim ubytkiem masy charakteryzowały się cięte kwiatostany wyżłinu umieszczone w 5,0 % i 2,5 % roztworze wywaru (40,1 i 37,7 %), a istotnie mniejsze średnie ubytki ich masy stwierdzono w pozostałych roztworach (11,3-23,1%), przy czym najmniejsze w roztworach olejku o stężeniu 50 oraz 100 µl olejku/1dm³ wody (odpowiednio 11,3 i 12,7%). W roztworach

tych odnotowano najmniejsze ubytki masy także w każdym z doświadczeń prowadzonych w latach 2016 i 2017. Średni ubytek masy kwiatostanów stwierdzony w 2017 oraz ubytki masy kwiatostanów, które w 2017 roku wystąpiły w każdym z użytych w doświadczeniu roztworów, były istotnie większe niż w 2016 roku.

Wyniki dwuletniego doświadczenia wskazują, że cięte kwiaty wyżlinu większego umieszczone w wodnym roztworze olejku o stężeniu $100 \mu\text{l}/1\text{dm}^3$, w porównaniu do pozostałych zastosowanych roztworów, charakteryzowały się najdłuższym średnim czasem „trwałości wazonowej”. Dla tego roztworu odnotowano też średnio największy ubytek (co świadczy o jego pobraniu), a umieszczone w nim kwiatostany odznaczały się stosunkowo niewielką utratą masy (mniejszą utratę masy odnotowano w roztworze $50 \mu\text{l}$ olejku/ 1dm^3 wody). Fotografia 11 dokumentuje stan ciętych kwiatów wyżlinu większego umieszczonych w wodnym roztworze olejku ($100 \mu\text{l}/1\text{dm}^3$), w porównaniu do stanu kwiatostanów kontroli oraz umieszczonych w 2,5% roztworze wywaru. Choć w 2,5% roztworze wywaru „trwałość wazonowa” mierzona zdolnością kwiatów w kwiatostanie do rozwoju, nie różniła się istotnie od trwałości kwiatostanów w roztworze olejku ($100 \mu\text{l}/1\text{dm}^3$), to jednak w związku z niskim ubytkiem roztworu wywaru, kwiatostany miały obniżony turgor i mniej korzystny wygląd.

Tabela 28. Trwałość pozbiorcza ciętych kwiatostanów wyżłinu większego w zależności od rodzaju roztworu w wazonie i roku uprawy roślin *O. vulgare* ssp. *hirtum*

Rodzaj roztworu	Czas trwałości ciętych [dni]			Ubytek roztworu [cm ³]			Ubytek masy kwiatów [%]		
	2016	2017	Średnia dla lat (B)	2016	2017	Średnia dla lat (B)	2016	2017	Średnia dla lat (B)
Woda dest. (kontrola)	7,5	8,9	8,2	260,0	156,	208,0	13,1	33,1	23,1
Woda dest. + olejek 50 µl/dm ³	9,8	11,6	10,7	180,0	184,0	182,0	-2,7*	25,3	11,3
Woda dest. + olejek 100 µl/dm ³	10,2	12,4	11,3	218,0	203,0	210,5	-0,5	25,9	12,7
Woda dest. + olejek 150 µl/dm ³	9,6	10,6	10,1	173,0	232,5	202,7	8,94	29,01	19,0
Woda + 2,5% wywaru	10,5	10,5	10,5	80,0	42,5	61,2	21,3	54,1	37,7
Woda + 5,0% wywaru	8,0	9,9	8,9	57,0	36,0	46,5	31,1	49,0	40,1
Średnia	9,3	10,7		121,0	142,3		11,9	36,1	
NIR _{0,05}		A=1,439 B=0,539 B/A=n.i. A/B=n.i.			A=27,456 B=10,283 B/A=25,188 A/B=38,828			A=7,489 B=2,938 B/A=7,198 A/B=10,592	

* – wartość ujemna oznacza przyrost masy;

czynnik A – rodzaj roztworu, czynnik B – rok uprawy roślin, z których ziela pozyskano olejek i sporządzono wywar

6. Dyskusja

Plon świeżego ziele wykorzystywanej w badaniach lebiodki (*O. vulgare* L.) był wyraźnie zróżnicowany w zależności od podgatunku, sezonu wegetacji roślin (rośliny jednoroczne, dwu- i trzyletnie) oraz roku ich uprawy (2 cykle uprawowe). W okresie wielolecia (2015-2018) średni plon świeżego ziele ssp. *vulgare* był większy niż ssp. *hirtum* (odpowiednio 2,34 i 1,65 kg·1m⁻²), podobnie jak średni plon ziele roślin dwuletnich (4,31 i 2,44 kg·1m⁻²) i trzyletnich (2,25 i 1,51 kg·1m⁻²), zaś plon ziele roślin jednorocznych w obu cyklach uprawy był większy w przypadku ssp. *hirtum* (po 1,01 kg·1m⁻²) niż ssp. *vulgare* (0,50 i 0,44 kg·1m⁻²). W badaniach własnych, plon roślin jednorocznych obu podgatunków był w odróżnieniu od wyników Baranauskienė i in. (2013) zróżnicowany i niższy niż ci autorzy uzyskali na Litwie (po ok. 1,80 kg·1m⁻²), a w Polsce Nurzyńska-Wierdak (2009) ssp. *vulgare* (1,44 kg·1m⁻²) oraz Król i in. (2019) dla ssp. *hirtum* (0,44 kg powietrznie suchego ziele·1m⁻²). Natomiast uzyskany w pracy plon ziele roślin trzy- i zwłaszcza dwuletnich, był większy niż podawany przez Baranauskienė i in. (2013) i Nurzyńską-Wierdak (2009) dla jednorocznych roślin oregano. Wyniki własne odpowiadają opinii Skoufogianni i in. (2019), że najbardziej wydajne w uprawie oregano są rośliny dwuletnie. Zgodnie z danymi źródłowymi plon ziele oregano jest zmienny, zależny od wielu czynników, m.in. nawożenia (Karamanos i Sotiropoulou 2013), obsady roślin (De Falco i in. 2013), fazy rozwoju roślin i terminu ich zbioru (Nurzyńska-Wierdak i in. 2009, Baranauskienė i in. 2013, Król i in. 2019), a także miejsca uprawy, warunków klimatycznych i meteorologicznych. Porównanie uzyskanego w pracy plonu roślin trzyletnich wskazuje, że w 2018 roku, przy wysokim usłonecznieniu, wysokiej temperaturze oraz suszy, plon ziele obu podgatunków był drastycznie mniejszy niż w roku 2017 – chłodniejszym i mokrym. Rzekanowski i in. (2008) stwierdzili, że plon lebiodki pospolitej zwiększał się wraz ze wzrostem sumy opadów i dawek nawodnieniowych.

W pracy zbadano zawartość suchej masy w świeżym i powietrznie suchym ziele obu podgatunków oraz zawartość olejku, polifenoli ogółem i cukrów ogółem, w suchej masie ziele powietrznie suchego, w roślinach jednorocznych, dwu- i trzyletnich w dwóch cyklach uprawy 2015-2017 i 2016-2018 (tab. 5 i 6). Porównanie średniej zawartości badanych składników (dla lat 2015-2018) wskazuje (tab. 7), że ssp. *hirtum* miało istotnie więcej niż ssp. *vulgare* suchej masy w świeżym ziele oraz olejku w suchej masie ziele powietrznie suchego, natomiast średnie zawartości polifenoli i cukrów ogółem nie różniły się istotnie. Koncentracja badanych składników w ziele roślin dwu- i trzyletnich obu

podgatunków, była większa niż w ziele roślin jednorocznych. Wyniki uzyskane przez Nurzyńską-Wierdak (2009), Baranauskienė i in. (2013), Król i in. (2019) wskazują, że zawartość takich składników jak olejek, sucha masa rozpuszczalna, cukry ogółem, polifenole rosła w jednorocznych roślinach oregano wraz z postępem ich rozwoju wegetacyjnego.

Porównanie wyników własnych z uzyskanymi przez innych autorów wskazuje, że zawartości suchej masy w ssp. *hirtum* (27,33-36,59 %) oraz ssp. *vulgare* (25,27-31,96 %) stwierdzone w latach 2015-2018, są większe niż donoszą Adámková i in. (2015) dla oregano badanego w jednym sezonie wegetacyjnym. Odmienne niż w badaniach własnych w ocenianym przez tych autorów świeżym ziele ssp. *vulgare* było więcej suchej masy (20,2%) niż w ssp. *hirtum* (18,1%), podobnie jak w ziele naturalnie wysuszonym (odpowiednio 98,6 i 90,2 %). W badaniach własnych także średnio więcej suchej masy stwierdzono w powietrznie suchym ziele ssp. *vulgare* (90,47%) niż w ssp. *hirtum* (87,63%). Baranauskienė i in. (2013) większą zawartość suchej masy rozpuszczalnej odnotowali również w ziele ssp. *vulgare* (12,7-19,7 %), niż w ssp. *hirtum* (4,9-17,8 %), przy czym najwięcej, w materiale zbieranym na początku września – po kwitnieniu. Autorzy ci stwierdzili także, że koncentracja cukrów ogółem zwiększała się w kolejnych fazach rozwoju wegetacyjnego oregano (podobnie jak sucha masa rozpuszczalna), a ich średnia zawartość była w świeżym ziele ssp. *vulgare* nieco wyższa niż w ssp. *hirtum* (odpowiednio 2,27 i 2,17 %). Badania własne wykazały, że w powietrznie suchym ziele tych podgatunków średnia dla wielolecia zawartość cukrów ogółem była praktycznie jednakowa (10,64 i 10,62 g·100g⁻¹ s.m.), ale średnia zawartość w materiale z roślin dwu- i trzyletnich była w ssp. *hirtum* większa niż w ssp. *vulgare* (odpowiednio 11,38 i 9,79 oraz 13,10 i 12,59 g·100g⁻¹ s.m.), natomiast w przypadku roślin jednorocznych mniej cukrów występowało w ssp. *hirtum* (7,37 g·100g⁻¹ s.m., a 9,53 g·100g⁻¹ s.m. w ssp. *vulgare*).

Przeprowadzona w pracy ocena zawartości polifenoli ogółem wykazała, że w wieloleciu średnia zawartość tych związków w suchej masie powietrznie suchego ziele obu podgatunków była podobna (11,15 oraz 10,13 g·100g⁻¹ s.m.), chociaż nieco więcej tych związków zarówno w wieloleciu, jak też średnio w ziele roślin jednorocznych (9,60 i 8,19) oraz trzyletnich (13,11 i 11,04 g·100g⁻¹ s.m.) występowało w ssp. *vulgare*, natomiast ziele dwuletnich roślin tego podgatunku zawierało mniej polifenoli niż ssp. *hirtum* (10,75 i 11,16 g·100g⁻¹ s.m.). Wyższą niż w badaniach własnych zawartość polifenoli ogółem w ssp. *hirtum* (9,219-19,057 g·100g⁻¹ powietrznie suchego ziele) wykazali Król i in. (2019), przy czym największa koncentracja tych związków

występowała w fazie kwitnienia ziela. Znacznie niższą zawartość polifenoli niż w badaniach własnych oraz Król i in. (2019), stwierdzili Adámková i in. (2015) – w ziele ssp. *vulgare* i *hirtum* odpowiednio 4,73-4,83 i 3,00-4,87 g·100g⁻¹ s.m. oraz Kouřimska i in. (2014) – odpowiednio 3,20-4,21 oraz 3,68-5,81 g·100g⁻¹ s.m. a także Dambolena i in. (2010) w ssp. *vulgare* (1,604-1,888 g·100 g⁻¹ s.m.). W badaniach własnych oraz Adámkovej i in. (2015) odnotowano tendencję większej zawartości polifenoli w ziele ssp. *vulgare* niż *hirtum*. Goncariuc i in. (2015) badając różne genotypy tych podgatunków występujące na terenie Mołdawii wykazali, że bogatsze w polifenole były genotypy należące do ssp. *vulgare* (99,25-166,43 mg·100g⁻¹), a mniej tych związków gromadziło ziele genotypów ssp. *hirtum* (53,51-85,59 mg·100g⁻¹). Stwierdzili też w obrębie obu podgatunków negatywną korelację między zawartością polifenoli a zawartością olejku. W badaniach własnych większej koncentracji polifenoli w ziele roślin dwu- i trzyletnich odpowiadał też wzrost zawartości olejku.

Stwierdzona w pracy zawartość olejku odpowiada prawidłowości, że w podgatunkach *O. vulgare* jest ona zróżnicowana, przy czym zwykle wysoka w ssp. *hirtum* (Russo i in. 1998, Konakchiev i in. 2004, De Martino i in. 2009, Karamanos i Sotiropoulou 2013), a niska w ssp. *vulgare* (Nurzyńska-Wierdak 2009, Nurzyńska-Wierdak i in. 2012, Dambolena i in. 2010, Kosakowska i in. 2013, Vazirian i in. 2015). W badaniach własnych średnia zawartość olejku w powietrznie suchym ziele ssp. *hirtum* i *vulgare* wynosiła odpowiednio 4,39 i 0,59 % v/w s.m., przy wahaniach 2,79-5,53 oraz 0,34-0,80 % v/w s.m. Podobne rezultaty uzyskali w badaniach porównawczych obu podgatunków Goncariuc i in. (2015) w Mołdawii (odpowiednio 2,315-4,923 i 0,077-0,360 % olejku w suchej masie ziela ssp. *hirtum* i *vulgare*) oraz Baranauskienė i in. (2013) – 2,29-5,75 i 0,20-0,65 % v/w ziela powietrznie suchego. W odróżnieniu od wyników własnych (a także przywołanych wyżej badań innych autorów) Sahin i in. (2004) stwierdzili znaczną zawartość olejku (2,31%) w suchej masie ziela ssp. *vulgare* rosnącego dziko na terenie Turcji, na co wpływ mogła mieć lokalizacja siedliska roślin na wysokości 1200 m n.p.m. Sarikurkcü i in. (2015) również wykazali, że w suszonym ziele ssp. *vulgare*, występowała wysoka zawartość olejku (5,09 %), na co z kolei mógł mieć wpływ tymolowym chemotyp.

Wyniki prezentowane przez innych autorów rzadko dotyczą zmian zawartości olejku zachodzących w oregano w kolejnych sezonach wegetacji. Badania własne dowiodły, że w obu cyklach uprawy, największą zawartością olejku odznaczało się, powietrznie suche ziele roślin dwuletnich (średnio 5,52 i 0,74 % s.m., odpowiednio ssp.

hirtum i ssp. *vulgare*), następnie trzyletnich (średnio 4,80 i 0,62 % s.m.), a najmniej olejku zawierało ziele roślin jednorocznych (średnio 2,80 i 0,40 % s.m.). Odmienne niż w badaniach własnych, Karamanos i Sotiropoulou (2013) wykazali, że średnia zawartość olejku w ssp. *hirtum* była większa w ziele roślin trzeciego sezonu wegetacji (5,2-5,6 % v/w), niż w ziele roślin drugiego sezonu wegetacyjnego (1,5-2,0 % v/w). Autorzy stwierdzili, że większemu nagromadzeniu olejku, bardziej sprzyjał sezon wilgotniejszy i chłodniejszy niż gorący i suchy. W badaniach własnych również zaobserwowano, że ziele roślin trzyletnich obu podgatunków, zbierane w roku 2018 (suchym i gorącym) miało istotnie mniejszą zawartość olejku niż pochodzące ze zbioru w 2017 roku – wilgotnym i chłodniejszym. Rzekanowski i in. (2008) odnotowali, że wraz ze wzrostem średniej temperatury podczas wegetacji roślin *O. vulgare* L. zawartość olejku malała.

Elezi i in. (2013) podkreślają wiodący wpływ cech genetycznych zarówno na zawartość jak i skład chemiczny olejku *O. vulgare*, ale istotne znaczenie mają też czynniki zewnętrzne, tj. środowiskowe, klimatyczne, geograficzne, w tym temperatura, wilgotność, wysokość nad poziomem morza (Pirigharnaei i in. 2011), rok uprawy, termin zbioru (Nurzyńska-Wierdak 2009, Król i in. 2019).

Skład chemiczny badanych w pracy olejków odpowiadał prawidłowości, że olejki podgatunku *hirtum* mają najczęściej chemotyp szlaku „cymylowego”, o wysokim udziale karwakrolu i/lub tymolu (De Martino i in. 2009, Baranauskienė i in. 2013, Karamanos i Sotiropoulou 2013, Goncariuc i in. 2015, Król i in. 2019), a olejki ssp. *vulgare* zwykle mają charakter „niefenolowy” i znaczący udział takich składników jak sabinen, germakren D, β -kariofilen, tlenek kariofilenu, 1,8-cyneol, terpinen-4-ol oraz (Z) i (E)- β -ocimen, zaś tymol i karwakrol nie występują w nich wcale, albo ich udział jest niewielki (Nurzyńska-Wierdak 2009 i 2012, Goncariuc i in. 2015, Kosakowska i in. 2013).

Olejek ssp. *hirtum* badany w pracy reprezentował chemotyp karwakrolowy. Zawartość tego składnika wynosiła 73,79-79,24 %, przy czym w każdym cyklu uprawy najwięcej karwakrolu występowało w olejku roślin dwuletnich, a najmniej w jednorocznych. Karamanos i Sotiropoulou (2013) wykazali, że w olejku z kwiatostanów i liści ssp. *hirtum* zawartość karwakrolu wynosiła odpowiednio 72,07-84,88% oraz 56,46-82,70% i również więcej tego składnika gromadziło się w olejku roślin drugiego sezonu wegetacyjnego, a mniej w trzecim sezonie – cieplejszym i suchszym. Większą niż w badaniach własnych zawartość karwakrolu w olejku ssp. *hirtum*, stwierdzili Baranauskienė i in. (2013) oraz Goncariuc i in. (2015), odpowiednio 72,4-88,2 oraz 74,63-88,13 %. Natomiast zbliżony do wyników tej pracy jest udział karwakrolu (76,14-

79,44 %), jaki Król i in. (2019) wykazali w olejku ssp. *hirtum*, uprawianego w Polsce. Autorzy ci odnotowali też, że jego zawartość rosła wraz z rozwojem roślin, osiągając maksimum w olejku ziela zbieranego w momencie zawiązywania pąków, po czym malała w materiale zbieranym w pełni kwitnienia i po jego zakończeniu.

W czterech z sześciu badanych w pracy olejków ssp. *hirtum* największy po karwakrolu udział miał γ -terpinen (3,54-7,63 %), a następnie o- lub p-cymen, natomiast w dwóch olejkach (z ziela zbieranego w „mokrym” 2017 roku) największy po karwakrolu był udział o-cymenu, a następnie γ -terpinenu. Jest to zgodne z faktem, że w olejkach typu karwakrol/tymol często występuje znacząca ilość γ -terpinenu i p-cymenu, które są prekursorami tymolu i karwakrolu (Król i in. 2019). We wszystkich badanych w pracy olejkach ssp. *hirtum* obecny był też kariofilen-E (1,61-2,65%). Podobny udział kariofilenu (1,49-2,10 %) miał jeden z chemotypów olejku ssp. *hirtum* badanych przez Goncariuc i in. (2015). Przykładem odmiennych chemotypów olejku ssp. *hirtum* są wyniki De Martino i in. (2009) oraz Sarikurkcü i in. (2015), którzy zidentyfikowali odpowiednio chemotyp „octan linalylu (15,90%)/linalol (12,50 %)” oraz chemotyp linalolowy, o udziale tego składnika wynoszącym ponad 96 %.

Badania własne dowiodły, że we wszystkich olejkach ssp. *vulgare* największy udział w sumie składników miał germakren D (11,77-18,22%), a następnie kariofilen E (9,71-14,93%). Sabinen (6,46-11,39%) w olejku roślin dwu- i trzyletnich był na ogół trzecim ilościowo składnikiem, ale w olejkach z ziela roślin jednorocznych malejący udział składników był następujący: germakren D/kariofilen E/ocimen-Z- β oraz germakren D/kariofilen E/tymol. Porównanie udziału germakrenu, kariofilenu i sabinenu w olejkach z ziela roślin trzyletnich wskazuje, że gorący i suchy rok 2018 sprzyjał większemu nagromadzeniu tych składników. Składniki fenolowe miały większy udział zwłaszcza w olejkach ziela roślin jednorocznych ssp. *vulgare*, w których stwierdzono 1,90 i 8,55 % tymolu oraz 3,13 i 4,67 % karwakrolu.

Podobnie jak w niniejszej pracy germakren D i kariofilen były wiodącymi składnikami olejków ssp. *vulgare*, ocenianych przez Goncariuc i in. (2015), ale ich udział był większy (odpowiednio 26,01-33,98 i 12,16-33,16 %). Odmiennie od wyników własnych Nurzyńska-Wierdak i in. (2012) stwierdzili brak składników fenolowych w olejkach z różnych ekotypów ssp. *vulgare*, a w największej ilości występował w nich sabinen (10,85-25,46 %), następnie Z-(β)-ocimen (9,10-16,33 %) i germakren D (9,36-15,34 %) oraz kariofilen E (9,38-12,87 %). We wcześniejszych badaniach Nurzyńska-Wierdak (2009) badając skład olejku z ziela jednorocznych roślin, uprawianych w tej

samej lokalizacji w dwóch kolejnych latach, stwierdziła, że w jednym roku badań wiodącym składnikiem olejku był sabinen (15,41-21,67 % w zależności od fazy rozwoju roślin), a w następnym sabineniu nie wykryto, zaś w największej ilości występował β -pinen. Obrazuje to dobitnie jak może zmieniać się udział składników w olejku w zależności od roku uprawy. Na znaczenie tego czynnika wskazują też wyniki badań własnych, a także Viturro i in. (2010).

Przykładem wyjątków od typowego składu olejków ssp. *vulgare* oraz badań własnych są wyniki Vazirian i in. (2015) i Sarikurkcü i in. (2015), którzy stwierdzili ich "tymolowy chemotyp" (badania w Iranie i Turcji), natomiast w olejku roślin tego podgatunku z regionu Tilcara w Argentynie największa była zawartość β -burbonenu – 16,7-25,7%) (Viturro i in. 2010), a z doliny Oltu w Turcji – kariofilenu (14,4%) i spatulenolu (11,6%) (Sahin i in. 2004).

Zróznicowanie chemiczne olejków oregano ilustruje też zmienna liczba występujących w nich składników. W olejkach ssp. *hirtum* Goncariuc i in. (2015) wykazali 18-25 składników, a De Martino i in. (2009) – 60. De Falco i in. (2013) stwierdzili obecność aż 120 składników w olejku ssp. *vulgare*, a Goncariuc i in. (2015) jedynie 18-25. W badaniach własnych liczba składników wahała się w przedziałach 51-90 oraz 54-99 odpowiednio w olejku ssp. *hirtum* i ssp. *vulgare*.

Wyniki badań własnych wskazują na zbliżony potencjał antyoksydacyjny suszonego ziele obu podgatunków. Aktywność antyutleniająca ocenianego w pracy powietrznie suchego (rozdrobionego) ziele ssp. *hirtum* oraz *vulgare*, wyrażona jako zdolność neutralizacji DPPH*, zawierała się odpowiednio w przedziale 50,6-61,4 oraz 50,8-65,2 %, przy czym susz z ziele jednorocznych i trzyletnich roślin ssp. *vulgare* miał większą wartość inhibicji DPPH* (59,3 i 64,8 %) niż ssp. *hirtum* (54,1 i 58,0 %), natomiast w przypadku roślin dwuletnich susz ssp. *hirtum* miał istotnie większą średnią wartość inhibicji DPPH* niż ssp. *vulgare* (59,9 i 54,8%). To zróznicowanie było najprawdopodobniej związane z zawartością polifenoli, która w roślinach dwuletnich była większa w ziele ssp. *hirtum*, a w jednorocznych i trzyletnich w ssp. *vulgare*. Na korelację między zawartością polifenoli a aktywnością antyutleniającą ziele wskazują wyniki badań innych autorów (Barros i in. 2009, Adámková i in. 2015, Karimi i in. 2015, Kouřimská i in. 2014, Król i in. 2019). Jednak Dambolena i in. (2010) podkreślają, że aktywność antyoksydacyjna różnych gatunków nie *Origanum* zależała wprost od zawartości polifenoli, co mogło wynikać z charakteru tych związków. Wpływ na wyniki mają też przyjęte warunki badań, w tym rodzaj rozpuszczalnika stosowanego do

ekstrakcji polifenoli. Karimi i in. (2015) stwierdzili, że zdolność redukcji DPPH* przez susz z liści *O. vulgare* była największa przy zastosowaniu ekstrakcji acetonem (52,4%), następnie metanolem (48,2%), a najmniejszą wykazywały ekstrakty wodne (31,7%).

Inhibicja rodników DPPH przez susz *O. vulgare* była w badaniach własnych większa niż uzyskana przez Karimi in. (2015), a mniejsza niż podają Capecka i in. (2005) oraz Matsuura i in. (2003) - >90 %, a także Dambolena i in. (2010) – 74,6-75,3 %. Porównując poziom aktywności przeciwutleniającej ziela obu podgatunków uzyskiwano także różne wyniki wskazując na „przewagę” ssp. *hirtum* (Kouřimska i in. 2014), albo ssp. *vulgare* (Adámková i in. 2015).

W odróżnieniu od zbliżonego do siebie poziomu aktywności przeciwutleniającej suszu ssp. *vulgare* i *hirtum*, stwierdzono w pracy, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejków, sproszkowanego suszu i wywarów oceniana *in vitro*, zależała przede wszystkim od podgatunku – była wysoka w przypadku ssp. *hirtum*, a niskim poziomem tej aktywności charakteryzował się podgatunek *vulgare*. Badania Lopez i in. (2007) oraz Martins i in. (2014) wskazują, że nie występowała zależność między aktywnością antyoksydacyjną a przeciwdrobnoustrojową i tej prawidłowości odpowiadają wyniki badań własnych dotyczące ssp. *vulgare*. Można też wnioskować, że decydujące znaczenie dla aktywności przeciwdrobnoustrojowej obu podgatunków miał przede wszystkim chemotyp ich olejków. W obrębie obu podgatunków, ssp. *hirtum* i *vulgare*, występują chemotypy olejków eterycznych, zarówno o fenolowym jak i niefenolowym charakterze (Nurzyńska-Wierdak 2012, Sarikurkcü i in. 2015). Wysoką aktywność wykazują zwłaszcza olejki zasobne w składniki fenolowe – karwakrol i tymol (Adam i in. 1998, Daferera i in. 2003, Vale-Silva i in. 2012), niezależnie od podgatunku, na co wskazują wyniki Sarikurkcü i in. (2015). Autorzy ci wykazali (odmiennie niż w badaniach własnych), że olejek ssp. *vulgare* bogaty w tymol, miał wyższą aktywność antymikrobiologiczną niż niefenolowy (linalolowy) olejek ssp. *hirtum*. De Martino i in. (2009) stwierdzili, że wśród olejków ssp. *hirtum*, mniejszą aktywnością antymikrobiologiczną odznaczał się olejek o chemotypie octan linalilu/linalol, niż olejki o chemotypach fenolowych. O zależności poziomu aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków ssp. *virens* od zawartości karwakrolu, świadczą wyniki Vale-Silva i in. (2012).

W niniejszej pracy stwierdzono, że olejek ssp. *vulgare* (germakren D/kariofilen/sabinen), głównie z ziela roślin jednorocznych (gdy zawierał więcej składników fenolowych), wykazywał działanie hamujące wzrost testowanych szczepów, ale strefy hamowania ich wzrostu były w 6-tej dobie niewielkie – od zera (*P. cyclopium*) do 26,0

mm (*T. roseum*). Sahin i in. (2004) wykazali, że olejek ssp. *vulgare* również o niefenolowym chemotypie, ale innym (kariofilen/spatulenol) niż w badaniach własnych, był aktywny wobec 15 szczepów grzybów pleśniowych reprezentujących rodzaje: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Moniliana*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Trichophyton* oraz drożdży *Candida albicans*. Strefy hamowania wzrostu grzybów przez ten olejek w trzeciej dobie hodowli (przy dawce 10 µl/krażek) były także stosunkowo niewielkie (13-35mm), ale większe niż powodowane przez netilmicinę (30µg/krażek).

W badaniach własnych aktywność przeciwgrzybowa olejku ssp. *hirtum* oceniana metodą krążkową, była uzależniona istotnie od gatunku grzyba i dawki olejku (10, 5 i 1 µl/krażek). Istotnie większe średnie (dla trzech dawek) strefy zahamowania wzrostu (55,6-70,4 mm) olejek powodował w odniesieniu do *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichotecium roseum*, *Cladosporium herbarum* i *Botrytis cinerea*, a istotnie mniejsze (23,0-34,9 mm) w przypadku *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, *Fusarium oxysporum* i *Alternaria sp.* Adam i in. (1998) stwierdzili, że olejek z *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*, wykazywał zróżnicowaną aktywność wobec chorobotwórczych dla ludzi grzybów: *Malassezia furfur*, *Trichophyton rubrum*, *Trichosporon beigelii* i co istotne, nie wykazywał aktywności mutagennej. Daferera i in. (2003) wykazali, że olejek oregano *O. vulgare*, w którym dominował tymol, całkowicie hamował (przy stężeniu 85 µg/ml) wzrost *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* i *Clavibacter michiganensis*. Kocić-Tanackov i in. (2012) stwierdzili, że dostępny w handlu preparat *O. vulgare* L., zawierający 34,2% karwakrolu, w zastosowanych dawkach (0,35-2,50 cm³·100 cm³) skuteczniej hamował wzrost kolonii *Penicillium sp.* niż *Fusarium sp.*

Badany w pracy olejek ssp. *hirtum* działał najefektywniej w dawce największej, ale w 6-tej dobie inkubacji strefy zahamowania wzrostu grzybów powodowane przez olejek w dawkach 10 i 5 µl/krażek (a przypadku szczepów bardziej wrażliwych, także 1 µl/krażek) były większe niż uzyskane pod wpływem nystatyny oraz Topsinu M. W dawce 1 µl/krażek olejek działał najkrócej, ale w dawce 10 µl/krażek strefy hamowania wzrostu wszystkich grzybów, chociaż małe, to utrzymywały się przez 30 dni na poziomie istotnie większym od powodowanych przez substancje referencyjne. Podobnie jak w tej pracy inne doniesienia wskazują, że wielkość stref hamowania wzrostu grzybów maleje wraz ze wzrostem czasu inkubacji (Jakowienko i Wójcik-Stopczyńska 2009). Przy większej dawce roślinnego preparatu czas jego efektywnego działania wydłuża się (Özcan 1998, Kocić-Tanackov i in. 2012). Zwykle większa dawka określonego olejku

lub ekstraktu ma silniejsze działanie przeciwgrzybowe (Peèiulytè 2005, Soyulu i in. 2007, Tian i in. 2011a, Kocić-Tanackov i in. 2012, Xu i in. 2013), ale niektóre doświadczenia wskazują na większą skuteczność mniejszej dawki (Mohammadi, Aminifard 2012).

O stabilności właściwości antygrzybowych olejku ssp. *hirtum* świadczy fakt, że średnie strefy zahamowania wzrostu testowanych grzybów przez olejek roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich (przy dawce 10 i 5 $\mu\text{l}/\text{krążek}$) nie różniły się istotnie. Olejki z roślin dwu- i trzyletnich zawierały więcej karwakrolu, ale nie wpłynęło to na zwiększenie średniej strefy inhibicji wzrostu grzybów. W literaturze wskazuje się, że aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejku zależy nie tylko od zawartości i rodzaju składnika głównego, ale znaczenie ma ogólna kompozycja olejku (Kalemba, Kunicka 2003, Burt 2004). W działaniu na poszczególne (niektóre) szczepy grzybów odnotowano istotne różnice wielkości stref zahamowania ich wzrostu w zależności od roku uprawy roślin, z których pozyskano olejek. Rok uprawy miał wpływ na skład chemiczny olejku, co mogło powodować różnice w jego aktywności. Na zróżnicowanie aktywności antimikrobiologicznej olejku bazyliowego w zależności od roku uprawy roślin, z których był pozyskany, wskazują wyniki pracy Wójcik-Stopczyńskiej i Jakowienko (2013).

W badaniach własnych stwierdzono, że olejki ssp. *hirtum* uzyskane z ziela roślin jednorocznych posiadały poziom MIC i MFC odpowiednio w granicach $<0,32-20,00$ oraz $<0,32->20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, dwuletnich $<0,32-10,00$ i $<0,32-20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, a trzyletnich $<0,32-10,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ dla obu wskaźników. Dla testowanych w pracy szczepów większy zakres MIC i MFC olejek przyjmował w odniesieniu do *A. niger* ($2,5-20 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $5,0->20 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$), *P. cyclopium* ($2,5-5,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $5,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) i *F. oxysporum* ($1,25-5,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $1,25-20,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$), a mniejszy w działaniu na *B. cinerea* ($<0,32-0,63 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $<0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$), *S. sclerotiorum* ($<0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $<0,32-2,50 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$), *T. roseum* ($0,32-1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $0,32-2,50 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) oraz *C. herbarum* ($<0,32-2,5$ i $<0,32-5,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3} \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) i *Alternaria sp.* ($0,32-2,5 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ i $0,63-5,0 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Niższe niż w badaniach własnych poziomy MIC i MFC miał olejek ssp. *hirtum* (typu karwakrol/tymol) badany przez Dzamic i in. (2008): dla *Alternaria alternata* i *Aspergillus niger* $0,25 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ i $0,5 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ dla *Cladosporium cladosporioides* i *C. fulvum* oba wskaźniki wynosiły $0,1 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, natomiast dla *Fusarium tricinctum* i *F. sporotrichoides* oraz *Penicillium funiculosum* i *P. ochrochloron* MIC i MFC miały poziom $0,5-1,0 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$. Przyczyną różnic mogło być użycie innych gatunków grzybów testowych, inny skład chemiczny olejku.

Vale-Silva i in. (2012), uzyskali zbliżone do wyników własnych poziomy MIC i MFC olejku *O. vulgare* ssp. *virens* oraz jego składników dla *A. niger*: olejek miał poziom MIC i MFC wynoszący odpowiednio 0,32-1,25 i 1,25-20 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, karwakrol 0,16 i 0,32 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, linalol 5 i 20 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$, a γ -terpinen oba wskaźniki $>20\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$. Mieszczące się w zakresie wyników własnych, poziomy MIC dla olejku *O. vulgare* o niezidentyfikowanym składzie, określili też Souza i in. (2007), którzy stwierdzili, że dla drożdży *Candida krusei*, *Rhodotorula rubra* i *Saccharomyces. cerevisiae* wynosił on 1,25 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ natomiast dla *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Pichia minuscula* i *Pichia ohmeri* był na poziomie 0,62 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Przeprowadzona w pracy ocena aktywności przeciwgrzybiczej suszu i wywarów, metodą „zatrutego podłoża” wykazała, że zahamowanie wzrostu testowanych grzybów przez te pochodne ssp. *hirtum* wynosiło odpowiednio 59,0-100 i 63,5-100%. W obu przypadkach średnia inhibicja wzrostu grzybów pleśniowych (za wyjątkiem *A. niger* i *P. cyclopium*) przekraczała poziom 75 %, który Askarne i in. (2012) uznają za wysoki. Susze i wywary ssp. *vulgare* badane w pracy nie ograniczały wzrostu kolonii grzybów, a w przypadku *Alternaria* sp., *A. niger*, i *P. cyclopium* stymulowały ich wzrost. Na stymulowanie wzrostu grzybów przez różne naturalne substancje wprowadzane do podłoża hodowlanego wskazują też inni autorzy (Özcan 1998, Sagdic i in. 2002, Wójcik-Stopczyńska i Jakubowka 2018).

Dane na temat aktywności przeciwgrzybiczej suszu z oregano są zróżnicowane. Chalfoun i in. (2004) stwierdzili, że badany przez nich susz oreganowy działał na wzrost *A. niger* i *E. repens* słabiej niż susz z goździków, cynamonu, czosnku, tymianku, mięty i anyżu. Z kolei w badaniach Wójcik-Stopczyńskiej i Jakubowskiej (2018) susz z oregano dostępny w sieci handlowej jako przyprawa, wykazywał większą aktywność niż tymiankowy, rozmarynowy i bazyliowy. Zastosowany w dawce 1% silnie ograniczał wzrost kolonii grzybów kserofilnych z rodzaju *Eurotium* (średnio o 95,5%) oraz z rodzajów *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichotecium* (średnio o 90,2%).

Stwierdzona w pracy wysoka aktywność wywaru z ssp. *hirtum* odpowiada wynikom badań Özcan i Boyraz (2000), którzy wykazali, że wywar ze świeżego ziela ssp. *hirtum* dodany do podłoża w dawce 10%, całkowicie hamował w ciągu 7 dni wzrost: *Alternaria solani*, *Aspergillus parasiticus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseoli* i *Rhizoctonia solani*.

Mechanizm przeciwgrzybowego działania olejków nie jest do końca poznany, ale wiadomo, że powodują one uszkodzenia ścian i membran komórkowych oraz deformacje, uszkodzenia i rozpad konidów i/lub grzybni (Solgi i Ghorbanpour 2014). Zamieszczone w pracy fotografie 1-4 dowodzą, że w warunkach *in vitro*, działaniu hamującemu wzrost grzybów zwłaszcza pod wpływem olejków, ale także suszu i wywaru z ssp. *hirtum*, towarzyszyły zmiany cech makroskopowych grzybni.

Olejki obu badanych w pracy podgatunków wykazywały aktywność hamującą wzrost bakterii *E. coli*, *E. faecalis* i *Bacillus sp.*, przy czym olejek ssp. *hirtum* był miał większą aktywność (strefy hamowania wzrostu 25,0-42,3 mm) niż ampicilina (15,2-20,0 mm) oraz olejek ssp. *vulgare* (9,0-18,3 mm). Hać-Szymańczuk i in. (2014) stwierdzili, że olejek *O. vulgare* (10 μ l/krażek) o wysokiej zawartości karwakrolu powodował strefy hamowania wzrostu bakterii należących do 9-ciu rodzajów wynoszące 17,6-41,3 mm i był efektywniejszy niż olejek szałwiowy (7,2-8,8 mm), natomiast olejek ze świeżych liści oregano o nieokreślonym składzie (Hać-Szymańczuk i in. 2012) miał słabe działanie antibakteryjne (strefy hamowania wzrostu 0-1,1 mm). Chaudhry i in. (2007) uzyskali strefy zahamowania wzrostu 11 rodzajów bakterii, przez olejek *O. vulgare* (w dawce 10 μ l/krażek) o nieokreślonym składzie, wynoszące 0-24 mm. Szereg badań potwierdza antibakteryjną aktywność olejku *O. vulgare* (m.in. Sahin i in. 2004, Teixeira i in. 2013, Siroli i in. 2014, Suzuki i in. 2015), przy czym większą w przypadku olejku ssp. *hirtum* o tymolowym charakterze (Dorman i Deans 2000), niż olejku ssp. *vulgare* o chemotypie terpenowym (Sahin i in. 2004, De Falco i in. 2013).

Skuteczność działania olejku ssp. *hirtum* wykazana metodą *in vitro* została potwierdzona w badaniach *in vivo*. Wyniki prac innych autorów (Vitoratos i in. 2013, Dikbas i in. 2008) także wskazują, że aktywność antygrzybowa olejków stwierdzona w warunkach *in vitro*, przekłada się na efektywne działanie w warunkach *in vivo*, ale Pedrotti i in. (2017) odnotowali, że aktywność była większa w warunkach *in vitro*.

Olejek ssp. *hirtum* zastosowany w niniejszej pracy jako „fumigant”, w stężeniu 100 μ l·dm⁻³ powietrza, efektywnie hamował rozwój *B. cinerea* na owocach truskawek (‘Senga Sengana’, ‘Roxana’) i śliwek (‘Węgierka Zwykła’), *Alternaria sp.* na owocach pomidorów *cherry* oraz *S. sclerotiorum* na korzeniach marchwi ‘Perfekcja’. Stwierdzono, że 10-20% inokulowanych owoców śliwek ‘Węgierka Zwykła’, przechowywanych w warunkach fumigacji oparami olejku, wykazywało objawy rozwoju *B. cinerea*. Aminifard i Mohammadi (2013) odnotowali, że przy dwukrotnie większym stężeniu olejków czarnuszki, kopru włoskiego i mięty (200 μ l·dm⁻³), zainfekowanie

inokulowanych *B. cinerea* owoców śliwek, po 45 dniach w 4°C, wynosiło 30-40 % (dla olejku czarnuszki i kopru) oraz 50-65% dla olejku miętowego, a całkowite zahamowanie rozwoju szarej pleśni uzyskano przy aplikowaniu olejków w stężeniu ośmiokrotnie większym niż w badaniach własnych. Natomiast olejek cytrynowy już w stężeniu 50 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ całkowicie hamował rozwój *B. cinerea* na truskawkach (Vitoratos i in. 2013). W badaniach Vitoratos i in. (2013) olejek tymiankowy nie działał efektywnie na ograniczenie porażenia owoców truskawek przez szarą pleśń, przeciwieństwie do wyników Reddy i in. (1998), którzy stwierdzili, że w atmosferze olejku tymiankowego w dawce 200 ppm, po 14 dniach przechowywania tylko 9,5-11,7% owoców truskawek wykazywało porażenie (przy 85,3% w kontroli).

Badania własne dowiodły, że olejek ssp. *hirtum*, stosowany po inokulacji owoców (interwencyjnie) hamował w porównaniu z kontrolą rozwój *B. cinerea* na truskawkach i śliwkach przechowywanych zarówno w temperaturze otoczenia jak i w chłodni (5 °C). Dikbas i in. (2011) stwierdzili, że olejek cząbrowy zastosowany jako fumigant (w stężeniu 450 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$) w pełni chronił owoce truskawek i winogron przed rozwojem *B. cinerea* przez 26 i 30 dni w temperaturze 5°C, natomiast owoce przechowywane w 20°C nie różniły się stopniem porażenia od kontrolnych. Dikbas i in. (2008) odnotowali też, że aplikowany kontaktowo olejek cząbrowy (o stężeniu 25 $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$), stosowany prewencyjnie hamował rozwój *A. niger* na owocach cytryn (20 dni, 10°C), natomiast był nieskuteczny, jeśli aplikowano go tuż po inokulacji owoców.

Vitoratos i in. (2013) wykorzystując działanie lotnej frakcji olejku *O. vulgare* ssp. *hirtum* o nieokreślonym składzie chemicznym, wykazali jego skuteczność w hamowaniu *B. cinerea* na pomidorach nieznannej odmiany. Całkowite zahamowanie rozwoju szarej pleśni uzyskano przy dawce 300 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ (większej niż w badaniach własnych), a przy stężeniach 0, 80, 120, i 220 $\mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ porażenie owoców wynosiło odpowiednio 100; 62,5; 45,6 i 18,7 %. Rozwój *B. cinerea* na pomidorach kontrolnych odnotowano już po 48 h, a na fumigowanych olejkiem po 5 dniach (w temperaturze 22°C).

Na zaszczepionych *Alternaria* sp. pomidorach *cherry* uzyskano w pracy całkowite zahamowanie rozwoju grzyba w ciągu 7 dni działania olejku ssp. *hirtum*, w temperaturze 20°C. Tian i in. (2011) oraz Tian i in. (2015) stwierdzili, że na inokulowanych owocach pomidorów *cherry*, fumigowanych olejkiem z nasion kopru (w stężeniu 120 $\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ powietrza) oraz perillaldehydem (w stężeniu 0,05 $\text{ml}\cdot\text{dm}^{-3}$ powietrza), rozwój *Alternaria alternata* nastąpił na odpowiednio 16,7 i 13,9 % pomidorów (po 9 dniach przechowywania w 18°C). Mniejsze ograniczenie wzrostu *Alternaria alternata* (o 48% w

porównaniu z kontrolą), na pomidorach *cherry* powodował olejek cytronelowy (z *Cymbopogon nardus*) o stężeniu $1,5 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$, zastosowany kontaktowo (20 μl) w miejsce inokulacji (Chen i in. 2014). Xu i in. (2013) stwierdzili natomiast, że aplikowany również kontaktowo (20 μl) olejek z liści laurowych (o stężeniu $500 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), hamował rozwój *Alternaria alternata* na pomidorach *cherry* o 33,9 %, a w stężeniu $2000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ o 82 %, w porównaniu z kontrolą.

Oceniany w pracy olejek ssp. *hirtum* hamował w porównaniu z kontrolą rozwój *S. sclerotiorum* na inokulowanych korzeniach marchwi 'Perfekcja', przechowywanych 10 dni w temperaturze otoczenia. Soylu i in. (2007) wykazali, że olejek z *Origanum syriacum* var. *bevanii* oraz olejek fenkułowy, wprowadzone do gleby (w stężeniu $3,2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) zakażonej przez *S. sclerotiorum* nie ograniczały zdolności kiełkowania nasion pomidora wysianych do takiej gleby, ale istotnie hamowały porażenie siewek pomidora tym patogenem. W kontroli uzyskano 26,6 % zdrowych siewek, a 69,8 i 53,3% na glebie traktowanej odpowiednio olejkiem oreganowym i fenkułowym. Włodarek i in. (2011) udowodnili, że preparaty „Grevit” i „Timorex”, zawierające odpowiednio ekstrakt z grapefruita i olejek z krzewu herbacianego, stosowane w czasie uprawy w postaci oprysków, korzystnie wpływały na przechowywanie korzeni marchwi 'Perfekcja'. Grevit ograniczył porażenie korzeni przez *S. sclerotiorum* o ponad 90 %.

W badaniach *in vivo* wskazana jest ocena nie tylko skuteczności antymikrobiologicznej naturalnych substancji, ale także analiza ich wpływu na skład chemiczny traktowanych nimi surowców. Podczas przechowywania warzyw i owoców, wskutek trwających procesów życiowych, występują w nich m.in. zmiany zawartości suchej masy, utrata części wody, rozpad skrobi do cukrów, spalanie cukrów, utlenianie witaminy C, obniżanie kwasowości, zmiany zawartości barwników, przy czym poziom tych zmian zależy od warunków przechowywania (Gajewski 2005). Rezultaty uzyskane w pracy wskazują, że olejek ssp. *hirtum* nie wpływał negatywnie na skład chemiczny traktowanych nim surowców. W truskawkach i śliwkach zarówno kontrolnych jak i traktowanych olejkiem, przechowywanych w temperaturze otoczenia i w chłodni, w przyjętym czasie przechowywania następowało zwykle istotne obniżenie zawartości suchej masy, ekstraktu ogólnego, cukrów ogółem i witaminy C (w truskawkach), obniżenie poziomu kwasowości ogólnej, oraz zróżnicowane zmiany zawartości polifenoli ogółem (częściej wzrost ich koncentracji). Pozytywny wpływ olejków z czarnuszki, kopru włoskiego i mięty na jakość śliwek wykazali Aminifard i Mohammadi (2013), którzy stwierdzili, że fumigowane nimi owoce miały w porównaniu z kontrolą, mniejsze

ubytki masy, a więcej ekstraktu ogólnego i węglowodanów oraz wyższe pH i kwasowość ogólną. Badania własne wskazują, że truskawki ‘Roxana’ oraz śliwki ‘Węgierka Zwykła’ składowane w warunkach chłodniczych i traktowane olejkami, zachowały istotnie więcej suchej masy, cukrów ogółem i ekstraktu ogólnego (truskawki) niż owoce kontrolne, mniejsze też były zmiany ich kwasowości ogólnej. Na korzystne rezultaty łączenia traktowania owoców naturalnymi substancjami z przechowywaniem w chłodni, wskazują też wyniki badań Dikbas i in. (2011) oraz Gupta i Jain (2014).

W fumigowanych olejkami ssp. *hirtum* pomidorach *cherry* i korzeniach marchwi ‘Perfekcja’, przechowywanych w temperaturze otoczenia, w przyjętym czasie przechowywania również następowały zmiany badanych składników, ale porównywalne ze zmianami zachodzącymi w materiale kontrolnym. Jednocześnie, w porównaniu z kontrolą, korzenie marchwi traktowane olejkami zawierały po przechowywaniu istotnie więcej karotenoidów ogółem, a pomidory *cherry* istotnie więcej cukrów ogółem. Chen i in. (2014) stwierdzili, że po przechowywaniu pomidorów *cherry* (15 dni w 13°C) obniżeniu uległa ich masa, zawartość ekstraktu ogólnego i jędrność, nastąpiły też zróżnicowane zmiany kwasowości ogólnej, ale w pomidorach traktowanych olejkami cytronelowym i kontrolnych, wartości tych wskaźników nie różniły się istotnie.

W przeprowadzonym w pracy doświadczeniu przechowalniczym zbadano też wpływ olejku i wywaru ssp. *hirtum* na zmiany liczby drobnoustrojów występujących naturalnie w zdrowych korzeniach marchwi (‘Major F₁’ i ‘Romance F₁’) oraz pietruszki (‘Hanacka’ i ‘Berlińska’). Oceniono zmiany liczby bakterii mezofilnych tlenowych i grzybów pleśniowych, zachodzące w wyniku przechowywania korzeni (2 miesiące w 5°C) w atmosferze olejku (100 µl·dm⁻³ powietrza), korzeni namoczonych przed przechowywaniem w wywarze oraz kontrolnych. Podczas przechowywania korzeni wszystkich wariantów następował zwykle istotny wzrost liczby bakterii i grzybów (rys. 5-8). Wpływ olejku i wywaru z ssp. *hirtum* na liczbę bakterii i grzybów w przechowywanych korzeniach był zróżnicowany w zależności od grupy drobnoustrojów oraz odmiany marchwi i pietruszki. W porównaniu z kontrolą i olejkami, traktowanie wywarem miało pozytywny wpływ na ograniczenie początkowej i końcowej liczby bakterii w marchwi ‘Romance F₁’ oraz w obu odmianach pietruszki, ale sprzyjało wzrostowi liczby grzybów. Z kolei traktowanie olejkami wpłynęło na ograniczenie końcowej liczby grzybów, istotne zwłaszcza w marchwi ‘Major F₁’ i pietruszce ‘Berlińska’. Jego wpływ na liczbę bakterii był mniejszy niż wywaru, przy czym korzystny w pietruszce ‘Berlińska’, a ujemny w marchwi ‘Major F₁’. Nie uzyskano zatem

jednoznacznych wyników, jak miało to miejsce w przypadku efektywnego hamowania przez olejek rozwoju grzybów na owocach i warzywach celowo infekowanych. Tian i in. (2015) stwierdzili również, że olejek pachnotki zwyczajnej skuteczniej hamował rozwój grzybów na inokulowanych nimi pomidorach *cherry*, niż rozwój naturalnej mikrobioty obecnej na zdrowych pomidorach. W odróżnieniu od wyników tej pracy Serrano i in. (2005) stwierdzili, że w czereśniach przechowywanych 16 dni (1°C) w atmosferze tymolu, eugenolu, mentolu i eukaliptolu nastąpiło istotne obniżenie liczby bakterii (z 4,2 do 2,8-3,0 log jtk·g⁻¹) oraz grzybów z 2,1 do 0,8-1,5 log jtk·g⁻¹), natomiast w owocach kontrolnych istotny wzrost liczby bakterii (do 4,8 log jtk·g⁻¹) i grzybów (do 4,9 log jtk·g⁻¹). Jednak efektywnemu hamowaniu rozwoju drobnoustrojów przez eukaliptol towarzyszył niekorzystny wpływ na cechy czereśni (jędrność, barwę owoców i szypulek). Lopez-Reyes i in. (2010, 2013) stwierdzili z kolei fitotoksyczne działanie olejków (m.in. *O. vulgare*) stosowanych jako emulsje (o stężeniu olejku 10%) w ochronie przed rozwojem grzybów na owocach jabłek, śliwek, brzoskwiń i nektaryn. W badaniach własnych opary olejku *O. vulgare* ssp. *hirtum* nie wywoływały objawów fitotoksyczności na surowcach użytych w doświadczeniach *in vivo*. Niekorzystnych zmian w wyglądzie korzeni marchwi ('Major F₁' i 'Romance F₁') oraz pietruszki ('Hanacka' i 'Berlińska') nie powodował również wywar stosowany do namoczenia korzeni przed ich przechowywaniem. Jednak w korzeniach pietruszki obu odmian traktowanych wywarem zawartość witaminy C była po przechowywaniu istotnie mniejsza niż w kontrolnych i traktowanych olejkami, a w korzeniach 'Hanackiej' stwierdzono też istotnie mniej suchej masy, cukrów ogółem i błonnika. Również korzenie marchwi 'Major F₁' traktowane wywarem zachowały istotnie mniej suchej masy i cukrów ogółem. W korzeniach pietruszki i marchwi traktowanych olejkami zawartość badanych składników nie różniła się istotnie lub była większa (np. cukrów – istotnie), niż w korzeniach kontrolnych.

W odróżnieniu od wpływu traktowania wywarem na skład chemiczny korzeni marchwi i pietruszki, wyniki innych prac (Gupta i Jain 2014, Malik i in. 2015) wskazują na korzystne działanie zanurzania owoców w ekstraktach roślinnych zarówno na ograniczenie rozwoju porażenia przez drobnoustroje, jak też utrzymanie fizykochemicznych cech owoców. Znaczenie ma jednak rodzaju wyciągu/ekstraktu, jego dawka oraz temperatura i czasu przechowywania (Gupta, Jain 2014, Malik i in. 2015, 2016).

W niniejszej pracy olejek oraz wywar z ssp. *hirtum* poddano też badaniom mającym na celu ocenę ich wpływu na trwałość pozbiorną kwiatów wyżłinu większego.

W dwuletnich badaniach wykorzystano surowce (cięte kwiaty, olejki, wywary) pozyskane z roślin uprawianych w dwóch sezonach wegetacyjnych. Stwierdzono, że oznaczane w pracy wskaźniki – czas „trwałości wazonowej”, ubytek roztworu, w którym trzymano kwiaty oraz ubytek masy kwiatów, były zmienne w zależności od stężenia olejku i wywaru w roztworze, a także roku doświadczenia. Wykazano jednak, że w porównaniu z kontrolą olejek użyty we wszystkich stężeniach oraz wywar o stężeniu 2,5% istotnie wydłużały czas trwałości kwiatów wyżlinu, przy czym najbardziej olejek o stężeniu $100 \mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ (średnio o 3 dni). Olejek w tym stężeniu powodował też średnio największy (choć nieistotnie w porównaniu z kontrolą) ubytek roztworu, świadczący o jego pobraniu przez kwiaty. Średnie ubytki masy kwiatów, umieszczonych w roztworach olejków o stężeniu 50 i $100 \mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$ były natomiast mniejsze (11,3 i 12,7 %) niż w kontroli (23,1%) o 11,8 i 10,4 %. Kwiaty umieszczone w roztworach wywarów (2,5 i 5,0 %) miały w porównaniu do kontroli i roztworów olejku, istotnie największe ubytki masy (37,7 i 40,1 %), powodując jednocześnie istotnie najmniejsze ubytki roztworu.

W literaturze zarówno krajowej jak i zagranicznej brak jest danych dotyczących wpływu olejku oreganowego na trwałość ciętych kwiatów. Wyniki badań innych olejków wskazują, że istotny jest dobór par „olejek : gatunek kwiatów”. Znaczenie ma też stężenie olejku, co stwierdzono również w badaniach własnych. Salehi Salmi i in. (2018) udowodnili, że olejki: miętowy, cząbrowy, tymiankowy oraz *Bunium persicum* (stosowane w stężeniach 100, 200 i $400 \mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$) przedłużyły trwałość pozbiorną róż, ale najefektywniej (11,2 dnia) działał olejek miętowy użyty w najmniejszym stężeniu, zaś w roztworze olejku cząbrowego o największym stężeniu czas trwałości róż był najkrótszy (9,1 dnia). Olejek miętowy w koncentracji $50 \text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ przedłużył też w porównaniu z kontrolą, trwałość ciętych kwiatostanów alstromerii o 1,5 dnia (Bazaz i Theranifar 2011), a tymiankowy (w koncentracji $150 \text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) trwałość pozbiorną eustomy i goździków – odpowiednio o 7,0 i 8,9 dnia (Kazemi i Ameri 2012, Kazemi i in. 2012).

Podobnie jak olejek ssp. *hirtum* w badaniach własnych, również inne olejki wywierają korzystny wpływ na pobranie roztworu i ograniczenie ubytków masy ciętych kwiatów w trakcie ich „życia wazonowego”. Różę trzymane w roztworach olejku miętowego (o stężeniu 200 i $300 \text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) powodowały większe pobranie tych roztworów w porównaniu do próby kontrolnej (Saaghzaed i in. 2014). W stosunku do obiektu kontrolnego, ubytkiem masy mniejszym aż o 60%, odznaczały się goździki umieszczone w roztworze olejku cząbrowego o stężeniu $100 \text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ (Bayat i in. 2011).

Dareini i in. (2014) stwierdzili, że masa kwiatostanów gerbery, umieszczonych w roztworze olejku tymiankowego (o koncentracji $50 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$), była o 6% większa niż roślin trzymanych w wodzie, a kwiaty róż i kwiatostany mieczyka umieszczone, w roztworze olejku kminkowego ($500 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) miały masę o 13,6% większą w porównaniu do próby kontrolnej (Marandi i in. 2011a, b). W badaniach własnych prowadzonych w 2016 roku, również stwierdzono przyrost masy kwiatów wyżlinu (tab. 28) trzymanych w roztworach olejku ssp. *hirtum* o stężeniach 50 i $100 \mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$.

W literaturze przedmiotu brak jest danych na temat wykorzystania wywarów jako środków przedłużających trwałość kwiatów ciętych, ale wyniki badań własnych wskazują, że wywar z ssp. *hirtum* (zwłaszcza w stężeniu 5 %) działał niekorzystnie.

7. Wnioski

1. W latach badań (2015-2018) średni plon świeżego zielea *O. vulgare* ssp. *vulgare* (2,34 kg·1m⁻²) oraz otrzymany w każdym roku wegetacji dwu- i trzyletnich roślin, był większy niż plon *O. vulgare* ssp. *hirtum*, który średnio wynosił 1,65 kg·1m⁻²; tylko w przypadku roślin jednorocznych plon ssp. *hirtum* był większy niż ssp. *vulgare*.

2. Podgatunek *O. vulgare* ssp. *hirtum* odznaczał się istotnie większą średnią zawartością suchej masy w świeżym zieleu niż ssp. *vulgare*, a w powietrznie suchym zieleu istotnie większą średnią zawartością olejku (4,39 i 0,59% v/w) oraz zbliżoną zawartością cukrów ogółem i polifenoli ogółem; rok uprawy roślin obu podgatunków miał zwykle istotny wpływ na zawartość badanych składników, a średnia ich zawartość w zieleu roślin dwu- i trzyletnich była większa niż w zieleu roślin jednorocznych.

3. Średnia aktywność antyutleniająca sproszkowanego suszu ssp. *vulgare* i ssp. *hirtum*, mierzona zdolnością do neutralizacji rodników DPPH, była znacząca i zbliżona (59,6 i 57,3 %), ale występowało jej zróżnicowanie w zależności od podgatunku i sezonu wegetacji roślin, współgrające ze zmianami w koncentracji polifenoli ogółem w suszach.

4. Olejek ssp. *hirtum* reprezentował chemotyp fenolowy (karwakrolowy), a olejek ssp. *vulgare* chemotyp terpenowy (germakren D/kariofilen E), przy czym udział wiodących składników w olejkach obu podgatunków był zróżnicowany w zależności od roku uprawy.

5. Chemotyp olejków i ich zawartość miały prawdopodobnie decydujący wpływ na odmienną przeciwdrobnoustrojową aktywność obu podgatunków – olejki, sproszkowany susz i wywary ssp. *hirtum* wykazywały *in vitro* wysoką aktywność przeciwgrzybową, a ssp. *vulgare* niską, lub stymulowały wzrost grzybów; olejek ssp. *hirtum* efektywniej niż antybiotyk i olejek ssp. *vulgare* hamował też wzrost bakterii.

6. W warunkach *in vitro* aktywność hamowania wzrostu grzybów przez olejki, susze i wywary ssp. *hirtum* uzależniona była od gatunku grzyba oraz roku uprawy roślin, z których otrzymywano wymienione środki, a w przypadku olejku także od jego dawki i czasu inkubacji. Strefy hamowania wzrostu grzybów malały wraz czasem działania, ale olejek utrzymywał długotrwałą aktywność (30 dni) i działał skuteczniej niż nystatyna i fungicyd Topsin M.

7. Susze i wywary otrzymane z ziela roślin ssp. *hirtum* drugiego i trzeciego sezonu wegetacyjnego wykazywały w warunkach *in vitro* większą aktywność przeciwgrzybową niż z roślin pierwszego roku uprawy, natomiast średnie średnice zahamowania wzrostu testowanych grzybów powodowane przez olejki (w dawkach 10 i 5 μl /krążek) z ziela roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich nie różniły się istotnie.

8. W badaniach *in vitro* olejki, susze i wywary ssp. *hirtum* najsilniej wpływały na hamowanie wzrostu *S. sclerotiorum*, *T. roseum*, *B. cinerea* i *C. herbarum*, a w dalszej kolejności *Alternaria* sp. i *F. oxysporum*, zaś większą odporność na ich działanie wykazywały *A. niger* i *P. cyclopium*. Minimalne grzybostatyczne i grzybobójcze stężenia olejku (MIC i MFC) wyznaczone dla badanych grzybów były zróżnicowane w przedziałach odpowiednio $<0,32 - 20,00$ oraz $<0,32 - >20,00 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$ w zależności od szczepu grzyba.

9. W doświadczeniach *in vivo* z celowo infekowanymi owocami i warzywami, olejek ssp. *hirtum* zastosowany jako fumigant ($100 \mu\text{l}\cdot\text{l dm}^{-3}$ powietrza) efektywnie ograniczał (o 80-100 %) rozwój *B. cinerea* na owocach truskawek ('Senga Sengana', 'Roxana') i śliwek ('Węgierka Zwykła') przechowywanych w temperaturze 20 i 5°C oraz *Alternaria* sp. na pomidorach *cherry* i *S. sclerotiorum* na korzeniach marchwi 'Perfekcja', przechowywanych w temperaturze 20°C.

10. Fumigowanie owoców i warzyw olejkim ssp. *hirtum* nie wywoływało objawów fitotoksyczności i nie powodowało w porównaniu z materiałem kontrolnym niepożądanych zmian w składzie chemicznym pomidorów *cherry* i korzeni marchwi 'Perfekcja', natomiast w truskawkach i śliwkach korzystny wpływ olejku na zawartość badanych składników odnotowano tylko w owocach przechowywanych równocześnie w warunkach chłodniczych (5°C); zmiany zawartości składników w truskawkach były zróżnicowane w zależności od odmiany.

11. W dwumiesięcznym doświadczeniu przechowalniczym traktowanie olejkim oraz wstępne namoczenie w wywarze korzeni marchwi ('Major F₁', 'Romance F₁') i pietruszki ('Hanacka', 'Berlińska') wpłynęło, w porównaniu z kontrolą, na częściowe ograniczenie liczby ich naturalnej mikrobioty (bakterii i grzybów pleśniowych), jednak było ono stosunkowo niewielkie i zróżnicowane w zależności od odmiany warzyw. W korzeniach traktowanych olejkim zawartość składników chemicznych była zwykle większa lub nie różniła się istotnie od zawartości w korzeniach kontrolnych, natomiast traktowanie

korzeni wywarem sprzyjało wzrostowi liczby grzybów oraz większym niż w warzywach kontrolnych zmianom w składzie chemicznym.

12. Olejek ssp. *hirtum* wykazał większą niż wywar przydatność do zastosowania jako naturalny środek przedłużający trwałość pozbiorną ciętych kwiatów; kwiatostany wyżłinię większego umieszczone w roztworze olejku ($100 \mu\text{l}\cdot\text{dm}^{-3}$) miały dłuższy czas „trwałości wazonowej” i odznaczały się małym ubytkiem masy, przy dużym ubytku roztworu olejku świadczącym o jego pobraniu.

13. Stwierdzono, że ziele *O. vulgare* ssp. *hirtum* jest lepszym niż ziele ssp. *vulgare* źródłem naturalnych środków, które mają potencjał do wykorzystania w pozbiorniej ochronie produktów ogrodnich przed rozwojem zwłaszcza grzybów pleśniowych, ale niezbędne jest dobranie postaci preparatu i jego dawki, produktu ogrodniego (gatunku, odmiany), który będzie poddany traktowaniu oraz określenie wpływu preparatu na stan fizykochemiczny produktu ogrodniego.

8. Piśmiennictwo

1. Abd Alla M.A., El-Mohamedy R.S.R., Badeaa R.I. 2006. Effet of some volatile compounds on black mould disease on onion bulbs during storage. *Res. J. Agric. Biol. Sci.*, 2(6), 384-390.
2. Abd El-Wahab M.A., Ellabban H.M., Moghith W.M.A. 2016. Combined effect of organic and biofertilizer on herb yield and essential oil production of *Origanum vulgare* L. plants under sandy soil conditions. *J. Agric. Res. Kafr El-Sheikh Univ.*, 42(2), 144-159.
3. Adam K., Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1739-1745.
4. Adamczewska-Sowińska K. 2000. Warzywa korzeniowe [w: Polowa uprawa warzyw]. Red. M. Orłowski. Szczecin, Brasika 261 -265.
5. Adámková A., Kouřimská L., Kadlecová B. 2015. The effect of drying on antioxidant activity of selected *Lamiaceae* herbs. *Potr. S. J. F. Sci.*, 9(1), 252-257.
6. Aminifard M.H., Mohammadi S. 2013. Essential oils to control *Botrytis cinerea* *in vitro* and *in vivo* on plum fruits. *J. Sci. Food Agric.*, 93, 348-353.
7. Arslan M., Uremis I., Demirel N. 2012. Effects of sage leafhopper feeding damage on herbage colour, essential oil content and compositions of Turkish and Greek oregano. *Expl. Agric.*, 48 (3), 428-437.
8. Askarne L. Talibi I., Boubaker H., Boudyach E.H., Msanda F., Saadi B., Serghini M.A. 2012. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of several Moroccan plants against *Penicillium italicum*, the causal agent of citrus blue mold. *Crop Prot.*, 40, 53-58.
9. Awuah R.T., Ellis W.O. 2002. Effects of some groundnut packaging methods and protection with *Ocimum* and *Syzygium* powders on kernel infection by fungi. *Mycopathologia*, 154, 29-36.
10. Azizi A., Yan F., Honermeier B. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Ind Crops Prod.*, 29, 554-561.
11. Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol.*, 21, 33-42.
12. Baranauskiene R., Venskutonis P.R., Dambrauskienė E., Viškelis P. 2013. Harvesting time influences the yield and oil composition of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and ssp. *hirtum*. *Ind. Crops Prod.*, 49, 43-51.
13. Barros L., Carvalho A.M., Ferreira I.C. 2009. Evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of three *Lamiaceae* often used in Portuguese folk medicine. Euro Food Chem XV "Food for future" the contribution of chemistry to improvement of food quality. Proceeding 2, Copenhagen, Danmark, 5-8 July 2009, 47-50.
14. Baser K.H.C., Buchbauer G. 2015. Antioxidative properties of essential oils and single fragrance compounds. By Taylor & Francis Group. LLC, 332-340.
15. Basilico M.Z., Basilico J.C. 1999. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 238-241.

16. Bazaz A.M., Tehranifar A. 2011. Effect of ethanol, methanol and essential oils as novel agents to improve vase-life of alstroemeria flowers. *J. Biol. Environ. Sci.*, 5(14), 41-46.
17. Bayat H., Azizi M., Shoor M., Mardani H. 2011. Effect of ethanol and essential oils on extending vase-life of carnation cut flower (*Dianthus caryophyllus* cv. 'Yellow Candy'). *Not. Sci. Biol.*, 3(4), 100-104.
18. Bhargava K., Conti D.S., da Rocha S.R.P., Zhang Y. 2015. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiol.*, 47, 69-73.
19. Burt S.A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiology*, 94, 223-254.
20. Capecka, E. Mareczek A., Leja M. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chem.*, 93, 223-226.
21. Chalchat J., C, Pasquier B. 1998. Morphological and chemical studies of *Origanum* clones: *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. *J. Essent. Oil*, 11, 143-144.
22. Chalfoun S.M., Pereira M.C., Resende M.L., Angelico C.L., da Silva R.A. 2004. Effect of powdered spice treatments on mycelial growth, sporulation and production of aflatoxins by toxigenic fungi. *Cienc. Agrotec. Lavras.*, 28 (4), 856-862
23. Chaudhry N.M.A., Saeed S., Tariq P. 2007. Antibacterial effects of oregano (*Origanum vulgare*) against Gram negative bacilli. *Pak. J. Bot.*, 39 (2): 609-613.
24. Chauhan N. K., , Singh S., Haider S.Z., Lohani H. 2013. Influence of phenological stages on yield and quality of oregano (*Origanum vulgare* L.) under the agroclimatic condition of Doon Valley (Uttarakhand). *Indian J Pharm Sci.*, 75(4): 489-493.
25. Chen Q., Xu S., Wu T., Guo J., Sha S., Zheng X., Yu T. 2014. Effect of citronella essential oil on the inhibition of postharvest *Alternaria alternata* in cherry tomato. *J. Sci. Food Agric.* 94, 2441-2447.
26. Chen J., Shen Y., Chen Ch., Wan Ch. 2019. Inhibition of key citrus postharvest fungal strains by plant extracts *in vitro* and *in vivo*. *Plants*, 8(26), 1-19.
27. Chishti S., Kaloo Z.A., Sultan P., Hamida-Tun-Nisa, Nahida-Tun-Nisa 2016. Quantitative analysis of the essential oil of *Origanum vulgare* (L) growing in the Kashmir valley. *Int. J. App. Res.*, 2(2), 552-557.
28. Cui H., Zhang C., Li C., Lin L. 2019. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Ind. Crops Prod.*, 139, 1-9.
29. Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Prot.*, 22, 39-44.
30. Dambolena J.S., Zunino M.P., Lucini E.I., Olmedo R., Banchio E., Bima P.J., Zygadlo J.A. 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 1115-1120.
31. D'Antuono F.L., Galletti G.C., Bocchini P. 2000. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a north Mediterranean area (Liguria Region, Northern Italy). *Ann. Bot.*, 86, 471-478.
32. Dareini H., Abdos V., Danaee E. 2014. Effect of some essential oils on postharvest quality and vase life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonii* cv. Sorbet). *Euro. J. Exp. Bio.*, 4(3), 276-280.

33. De Falco E., Mancini E., Roscigno G., Enrico Mignola E., Tagliatalata-Scafati O., Felice Senatore F. 2013. Chemical composition and biological activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under different growth conditions. *Molecules.*, 18, 14948-14960.
34. De Martino L., De Feo V., Formisano C., Mignola E., Senatore F. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (southern Italy). *Molecules.*, 14, 2735-2746.
35. De Mastro G., Ruta C., Marzi V. 2004. Agronomic and technological assessment of oregano (*Origanum vulgare* ssp.) biotypes. *Acta Hort.*, 629, 355-362.
36. Dikbas N., Kotan R., Dadasoglu F., Sahin F. 2008. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. *Int. J. Food Microbiol.*, 124, 179-182.
37. Dikbas N., Dadasoglu F., Kotan R., Cakir A. 2011. Influence of summer savory essential oil (*Satureja hortensis*) on decay of strawberry and grape. *Jeobp.*, 14(2), 151-160.
38. Dordas C. 2009. Foliar application of calcium and magnesium improves growth, yield, and essential oil yield of oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Ind. Crops Prod.*, 29 (2-3), 599-608.
39. Dorman H.J.D., Deans, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antimicrobial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 308-316.
40. Dzamic A., Sokovic M., Ristic M.S., Grujic-Jovanovic S., Vukojevica J., Marin P. D. 2008. Chemical composition and antifungal activity of *Origanum heracleoticum* essential oil. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(5), 659-660.
41. Elezi F., Plaku F., Ibraliu A., Stefkov G., Karapandzova M., Kulevanova S., Aliu S. 2013. Genetic variation of oregano (*Origanum vulgare* L.) for etheric oil in Albania. *Agric. Sci.*, 4(9), 449-454.
42. Farmakopea Polska VIII. 2008. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa.
43. Feng W., Zheng X. 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo*. *Food Control*, 18, 1126-1130.
44. Figiel A., Szumny A., Gutierrez-Ortiz A.A., Carbonell-Barrachina A.A. 2010. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *J. Food Eng.*, 98, 240-247.
45. Gajewski M. 2005. *Przechowalnictwo warzyw*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa. Wydanie II, 33-38.
46. Generalić-Mekinić I., Skroza D., Ljubenkov I., Simat V.S., Mozina S.S., Katalinic V. 2014. *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Lamiaceae* phenolic extracts: A Correlation Study. *Food Technol. Biotechnol.*, 52(1), 119-127.
47. Goncariuc M., Balmuş Z., Benea A., Barsan V., Sandu T. 2015. Biochemical diversity of the *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart genotypes from Moldova. *Journal of ASM. Life Sci.*, 2(326), 92-100.
48. Górnicki K., Kaleta A., Golisz E., Kukielko E., Sojak M. 2017. Charakterystyka wybranych surowców i produktów roślinnych w aspekcie ich utrwalania różnymi metodami. Wydawnictwo SGGW, Warszawa. 64-87.
49. Grevsen K., Frette X.C., Christensen L.P. 2009. Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperature climate. *Eur. J. Hort. Sci.*, 74(5), 193-203.

50. Gumus T., Demirc A. S., Sagdic O., Arici M. 2010. Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. Food Sci. Biotechnol., 19(5),1241-1244.
51. Gunduz G.T., Gonul S.A., Karapinar M. 2010. Efficacy of sumac and oregano in the inactivation of *Salmonella typhimurium* on tomatoes. Int. J. Food Microbiol., 141, 39-44.
52. Gupta N., Jain S.K. 2014. Storage behavior of mango as affected by postharvest application of plant extracts and storage conditions. J Food Sci Technol., 51(10), 2499-2507.
53. Hać-Szymańczuk E., Lipińska E., Grzegorzółka O. 2012. Ocena aktywności przeciwbakteryjnej oregano (*Origanum vulgare* L.). Bromat. Chem. Toksykol., XLV (3), 308-314.
54. Hać-Szymańczuk E., Lipińska E., Chlebowska-Śmigiel A. 2014. Porównanie działania przeciwdrobnoustrojowego olejków eterycznych z szaławii (*Salvia officinalis* L.) i oregano (*Origanum vulgare* L.). Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 577, 53-62.
55. Han F., Ma G-q, Yang M., Yan L., Wei Xiong W., Shu J., Zhi-dong Zhao Z., Xu H. 2017. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano. J. Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol.), 18(1),79-84.
56. Hyun J.E., Bae Y.M., Yoon J.H., Lee S.Y. 2015. Preservative effectiveness of essential oils in vapor phase combined with modified atmosphere packaging against spoilage bacteria on fresh cabbage. Food Cont., 51, 307-313.
57. Ietswaart J.H. 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (*Labiatae*). Leiden Botanical series, Leiden University Press, The Hague, Leiden, 4, 266-269.
58. IUNG 1990. Zalecenia nawozowe. Liczby graniczne do wyceny zawartości w glebach makro- i mikroelementów. IUNG, Puławy.
59. Jakowienko P., Wójcik-Stopczyńska B. 2009. Wpływ olejków eterycznych bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.) 'Wala' na wzrost grzybów z rodzaju *Eurotium*. Acta Sci. Pol., Biol., (1-4), 17-25.
60. Kaczorowska Z. 1962. Opady w Polsce w przekroju wieloletnim. Przegląd Geograficzny IG PAN, 33, 112.
61. Kalembe D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem., 10(17), 813-829.
62. Karagiannidis N., Thomidis T., D. Lazari D., Panou-Filotheou E., Karagiannidou C. 2011. Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. Sci. Horti-Amsterdam, 129, 329-334.
63. Karamanos A.J., Sotiropoulou D.E.K. 2013. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. Ind. Crops Prod., 46, 246-252.
64. Karan T., Simsek S., Yildiz I., Erenler R. 2018. Chemical composition and insecticidal activity of *Origanum syriacum* L. essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica*. Int. J. Sec. Metabolite., 5(2), 87-93.
65. Karimi A., Min B., Brownmiller C., Lee S.O. 2015. Effects of extraction techniques on total phenolic content and antioxidant capacities of two oregano leaves. JFR., 4(1), 112-123.

66. Kazemi M., Ameri A. 2012. Response of vase-life carnation cut flower to salicylic acid, silver nanoparticles, glutamine and essential oil. *Asian J. Anim.*, 6(3), 122-131.
67. Kazemi H.M., Hajizadeh S., Gholami M., Asadi M., Aghdasi S. 2012. Efficiency of essential oils, citric acid, malic acid and nickel reduced ethylene production and extended vase life of cut *Lisianthus* flowers, *Research Journal of Botany*, 7(1), 14-18.
68. Kerłowska-Kułaś M. 1993. *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE, Warszawa, 560.
69. Khan M., Khan S.T., Khan N.A., Mahmood A., Al-Kdhairy A., Alkathlan H.Z. 2018. The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. *Arab. J. Chem.*, 11(8), 1189-1200.
70. Khenizy S.A.M., Azza M. Abd El-Moneim, H. Abdel-Fattah Gehan. 2014. Effect of natural extracts on vase life of *Gypsophila* cut flowers. *Scientific J. Flowers & Ornamental Plants*, 1(1), 1-16.
71. Klepacka M. 1996. *Analiza żywności*. Wydaw. Fundacja – Rozwój, SGGW, Warszawa, 186.
72. Kocić-Tanackov S., Dimić G., Tanackov I. 2012. Antifungal activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) extract on the growth of *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. *Hem. Ind.* 66(1), 33-41.
73. Kokkini S. 1997. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano; 1997 May 8-12; Valenzano (Bari), Italy, 122-132.
74. Kokkini S., Karousou R., Hanlidou E. 2004. Essential oil composition of Greek (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) and Turkish (*O. onites*) oregano a tool for their distinction. *J. Essent. Oil Res.*, 16, 334-338.
75. Kołodziej B. 2018. *Uprawa ziół*. Wyd. PWRiL Sp. z o.o., Warszawa, 262-264.
76. Konakchiev A., Genova E., Couladis M., 2004. Chemical composition of the essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart in Bulgaria. *Cr. Acad. Bulg. Sci.*, 57, 49-52.
77. Kosakowska O., Bączek K., Geszprych A., Węglarz Z. 2013. Ocena składu chemicznego olejku eterycznego dziko rosnących populacji lebidki pospolitej (*Origanum vulgare* L.). *Pol. J. Agr.*, 15, 60-64.
78. Kosakowska O., Czupa W. 2018. Morphological and chemical variability of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) occurring in eastern Poland. *Herba Pol.*, 64 (1), 11-21.
79. Kouřimská, L., Sabolová, M., Dvořáková, B., Roubíčková, I., Pánek, J., Nový, P. 2014. Antioxidant activity of *Lamiaceae* herbs grown under organic and conventional farming. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 45(1), 19-25.
80. Kouřimská L., Ešlerová K., Khatri Y. 2016. The effect of storage on quality of herbs genus *Origanum*. *Potr. S. J. F. Sci.*, 10(1), 207-214.
81. Koźmiński C., Michalska B., Czarnecka M. 2012. *Klimat województwa zachodniopomorskiego*. Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Handlowe ZAPOL, 31.
82. Król B., Kołodziej B., Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Sugier D., Luchowska K. 2019. Date of harvesting affects yields and quality of *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart. *J. Sci. Food Agric.*, 5432-5443.
83. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.*, 603, 591-592.

84. Lopez V., Akerreta S., Casanova E., Garcia-Mina J.M., Caverro R.Y., Calvo M. I. 2007. *In vitro* antioxidant and Anti-rhizopus activities of *Lamiaceae* herbal extracts. *Plant Food Human Nutr.*, 62, 151-155.
85. Lopez-Reyes J.G., Spadaro D., Lodovica Gullino M., Garibaldi A. 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples *in vivo*. *Flavour Fragr. J.*, 25, 171–177.
86. Lopez-Reyes J.G., Spadaro D., Prella A., Garibaldi A., Gullino M.L. 2013. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits *in vivo*. *J. Food Prot.*, 76(4), 631-639.
87. Lukas B., Schmiderer C., Novak J. 2013. Phytochemical diversity of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* (*Lamiaceae*) from Austria. *Bioch. Syst. Ecol.*, 50, 106-113.
88. Lukas B., Schmiderer C., Novak J. 2015. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*). *Phytochemistry*, 119, 32-40.
89. Malik A., Ahmed N., Chauhan H., Gupta P. 2016. Plant extracts in post-harvest disease management of fruits and vegetables. *J. Food Process. Technol.*, 7(6); doi: 10.4172/2157-7110.1000592
90. Malik A., Bhat A., Ahmed N., Kaul R. 2015. Effect of postharvest application of plant extracts on physical parameters and shelf life of guava. *Asian Agrihist.*, 19(3), 185-193.
91. Marandi R. J., Abdollahi A., Hanafi S. 2011a. Improvement of the vase life of cut gladiolus flowers by essential oils, salicylic acid and silver thiosulfate. *J. Med. Plant. Res.*, 5(20), 5039-5043.
92. Marandi R. J., Hassani A., Abdollahi A., Hanafi S. 2011b. Application of *Carum copticum* and *Satureja hortensis* essential oils and salicylic acid and silver thiosulfate in increasing the vase life of cut rose flower. *J. Med. Plant. Res.*, 5(20), 5034-5038.
93. Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Henriques M., Silva S., Ferreira I.C. 2014. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. *Food Chem.*, 158, 73-80.
94. Martyniak-Przybyszewska B., Majkowska-Gadomska J. 2006. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na plon cząbrku ogrodowego (*Satureja hortensis* L.) i lebidki pospolitej (*Origanum vulgare* L.). *Ann UMCS Lublin – Polonia*, 16, 113-117.
95. Matsuura H., Chiji H., Asakawa C., Amano M., Yoshihara T., Mizutani J. 2003. DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67(11), 2311-2316.
96. Mikiciuk G., 2000, Przynależność systematyczna oraz właściwości fizykochemiczne gleb występujących w obrębie Stacji Doświadczalnej w Dołujach. *Folia Univ. Agric. Stettin., Agricultura*, 209(83), 99-111.
97. Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene A. 2003. The β -ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* growing wild in Lithuania. *Biochem. Sys. Ecol.*, 31, 269-278.
98. Modnicki D., Balcerk M. 2009. Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. commercial samples. *Herba Pol.*, 55(1), 35-43.
99. Mohammadi S., Aminifard M.H. 2012. Effect of essential oils on postharvest decay and some quality factors of peach (*Prunus persica* var. Redhaven). *J. Biol. Environ. Sci.*, 6(17), 147-153.

100. Mohapatra S., Das S., Chand M.K., Tayung K. 2014. Biocontrol potentials of three essential oils against some postharvest pathogens. *J. Agric. Technol.*, 10(3), 571-582.
101. Ninou E.G, Paschalidis K.A, Mylonas I.G, Vasilikiotis C., Mavromatis A.G. 2017. Essential oil responses to water stress in Greek oregano populations. *Acta Agr. Scand., B.-S. P.* 67(4), 12-23.
102. Nostro A., Blanco A., Cannatanelli M., Eneo V., Flamini G., Morelli I. 2004. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *Microbial. Lett.*, 230(2), 191-197.
103. Nurzyńska-Wierdak R. 2009. Herb yield and chemical composition of common oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil according to the plant's developmental stage. *Herba Pol.*, 55(3), 55-62.
104. Nurzyńska-Wierdak R. 2012. Lebiodka pospolita (*Origanum vulgare* L.) – dziko rosnąca i uprawiana roślina zielarska. *Ann UMCS. Sect. EEE: Horticultura.*, 22(4). 1-11.
105. Nurzyńska-Wierdak R., Bogucka-Kocka A., Sowa I., Szymczak G. 2012. The composition of essential oil from three ecotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* cultivated in Poland. *Farmacia* 60(4), 571-577.
106. Özcan M. 1998. Inhibitory effect of spice extracts on the growth of *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 strain. *Z Lebensm Unters Forsch.*, 207, 253-255.
107. Özcan M. 2004. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chem.*, 84, 437-440.
108. Özcan M., Boyraz N. 2000. Antifungal properties of some herb decoctions. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 86-88.
109. Özcan M. Erkmen O. 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 658-660.
110. Pedrotti C., Ribeiro R.T.S., Schwambach J. 2017. Control of postharvest fungal rots on grapes using essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. *J. Agr. Sci.*, 9 (4), 205-216.
111. Peèiulytė D. 2005. Effect of tea tree essential oil on microorganisms 2. Evaluation of fungal reaction to tea tree oil under different conditions. *Biologija.* 2, 21-28.
112. Pirigharnej M., Zare S., Heidary R., Khara J., Sabzi R.E., Kheiry F. 2011. The essential oils compositions of Iranian oregano (*Origanum vulgare* L.) populations in field and provenance from Piranshahr district, West Azarbaijan province, Iran. *AJP*, 1(2), 106-114.
113. PN-EN 6571:2009. Przyprawy i zioła – Oznaczenie zawartości olejku eterycznego (metoda hydrodestylacji).
114. PN-ISO 7925. 2001. Suszona lebiodka (*Origanum vulgare* L.) Liście całe lub rozdrobnione.
115. Poniedziałek M. 2000. Warzywa korzeniowe [w: Polowa uprawa warzyw]. Red. M. Orłowski. Szczecin, Brasika 251 -260.
116. Rakotonirainy M.S., Lavedrine B. 2005. Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 55, 141-147.
117. Reddy M.V.B., Angers P., Gosselin A., Arul J. 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 47(8), 1515-1520.

118. Rossi M., Giussani E., Morelli R., Scalzo R., Nani R.C., Torreggiani D. 2003. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. *Food Res. Int.*, 36, 999-1005.
119. Russo M., Galletti G.C., Bocchini P., Carnacini A. 1998. Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis. 1. Inflorescences. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 3741-3746.
120. Rzekanowski C., Marynowska K., Rolbiecki S., Rolbiecki R. 2008. Oddziaływanie wybranych czynników meteorologicznych na niektóre elementy plonu czterech gatunków ziół uprawianych w warunkach deszczowania. *Acta Agroph.*, 12 (1), 163-171.
121. Saaghzaed F., Khodadadi M., Mobasser H. 2014. Effects of different concentrations of plant chemicals on vase life of rose varieties Utopia. *Int. J. Farm. & Alli. Sci.*, 152-154.
122. Sagdic O., Kuscu A., Özcan M. Özcelikk S. 2002. Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.*, 19, 473-480.
123. Sagdic O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *LWT*, 36, 467-473.
124. Sagdic O., Özcan M. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosol. *Food Cont.*, 14, 141-143.
125. Şahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G., Özer H. 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Cont.*, 15(7), 549-557.
126. Said-Al Ahl H. A. H., Ayad H.S., Hendawy S. F. 2009. Effect of potassium humate and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano under different irrigation intervals. *J. Appl. Sci.*, 2(3), 319-323.
127. Sakkas H., Papadopoulou C. 2017. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 27(3), 429-438.
128. Salehi Salmi M.R., Falehi Hoseini M., Heidari M., Daneshvar M.H. 2018. Extending vase life of cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Bacara by essential oils. *Adv. Hort. Sci.*, 32(1), 61-69.
129. Sarikurkcü C., Zengin G., Oskay M., Uysal S., Ceylan R., Aktumse A. 2015. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two *Origanum vulgare* subspecies (subsp. *vulgare* and subsp. *hirtum*) essential oils. *Ind. Crops Prod.*, 70, 178-184.
130. Senhaji B., Chebli B., Mayad E.H., Ferji Z. 2014. Antifungal activity of medicinal plants extracts against *Botrytis cinerea* the causal agent of gray mold on tomato. *J. Biol. Agric. Healthcare*, 4 (26), 141-147.
131. Serrano M., Martinez-Romero D., Castillo S., Guillen F., Valero D. 2005. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 6, 115-123.
132. Shahi S.K., Patra M., A.C. Shukla A.C., Dikshit A. 2003. Use of essential oil as botanical-pesticide against postharvest spoilage in *Malus pumilo* fruits. *BioControl*, 48, 223-232.

- 133.Singleton L., Orthofer R., Lamuela-Raventions R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299, 152-178.
- 134.Siroli L., Patrignani F., Montanari Chh., Tabanelli G., Bargossi E., Gardini F., Lanciotti R. 2014. Characterization of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil and definition of its antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* *in vitro* system and on foodstuff surfaces. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 8(29), 2746-2753.
- 135.Skoufogianni E., Solomou A.D, Danalatos N.G. 2019. Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. *Not. Bot. Horti. Agrobo.*, 47(3), 545-552.
- 136.Sotiropoulou D.E., Karamanos A.J. 2010. Field studies of nitrogen application on growth and yield of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart. *Ind Crops Prod.*, 32(3), 450-457.
- 137.Solgi M., Ghorbanpour M. 2014. Application of essential oils and their biological effects on extending the shelf-life quality of horticultural crops. *Trakia J. Sci.*, 2, 198-210.
- 138.Souza E.L., Stamford T.L.M., Lima E.O., Trajano V.N. 2007. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Cont.*, 18, 409-413.
- 139.Soylu S., Yigitbas H., Soyly E.M., Kurt S. 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Appl. Microbiol.*, 103, 1021-1030.
- 140.Suzuki É. Y., Soldati P.P., Chaves M., Raposo N. R. B. 2015. Essential oil from *Origanum vulgare* Linnaeus: an alternative against microorganisms responsible for bad perspiration odour. *J. Young Pharm.*, 7(1), 12-20.
- 141.Świdzińska M. 2000. Rośliny jednoroczne [w: Uprawa roślin ozdobnych]. Red. H. Chmiel. Warszawa, PWRiL, 253-254.
- 142.Teixeira B., Marques A., Ramos C., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M., Saraiva J.A., Nunes M.L. 2013. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *J. Sci. Food Agric.*, 93(11), 2707-2714.
- 143.Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chem.*, 90, 333-340.
- 144.Tian J., Ban X., Zeng H., Huang B., He J., Wang Y. 2011. *In vitro* and *in vivo* activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. *Food Cont.*, 22, 1992-1999.
- 145.Tian J., Ban X., Zeng H., He J., Huang B., Wang Y. 2011a. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. *Int. J. Food Microbiol.*, 145, 464-470.
- 146.Tian J., Zeng X., Lü A., Zhu A., Peng X., Wang Y. 2015. Perillaldehyde, a potential preservative agent in food: Assessment of antifungal activity against microbial spoilage of cherry tomatoes. *LWT – Food Sci. Technol.*, 60, 63-70.
- 147.Vale-Silva L., Silva M-J., Oliveira D., Goncalves M-J. Cavaleiro C., Salgueiro L., Pinto E. 2012. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their *in vitro* activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. *J. Med. Microbiol.*, 61, 252-260.

148. Van Den Dool H., Kratz P.D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.*, 11, 463-471.
149. Vazirian M., Mohammadi M., Farzaei M.H., Amin G., Amanzadeh Y. 2015. Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oil from Iran. *Research Journal of Pharmacognosy*, 2(1), 41-46.
150. Veres K., Varga E., Dobos A., Hajdu Z., Mathe I., Nermeth E. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart. *Chromatographia*, 57(1, 2), 95-98.
151. Verma R.S., Padalia R.C., Chauhan A. 2012. Volatile constituents of *Origanum vulgare* L., 'thymol' chemotype: variability in North India during plant ontogeny. *Nat. Prod. Res.*, 26(14), 1358-1362.
152. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J.A. 2007. Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils. *J. Food Safety*, 27(1), 91-101.
153. Vitoratos A., Biladis D., Karkanis A., Efthimiadou A. 2013. Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Not. Bot. Horti. Agrobi.*, 41(1), 86-92.
154. Viturro C.I., Molina A.C., Villa W.C., Heit C.I. 2010. Characterization of *Origanum* species grown in Quebrada de Humahuaca, Jujuy, Argentina, through the study of the essential oils. *Molecular Medicinal Chemistry*. 21, 73-79.
155. Vivas-Vivas F.E., Castro Cuello R.L., Macías Macías D., Rosado G.P. 2017. Elaboration of essential oil from the oregano for medicinal use sheet. *IJPSE*, 1(1), 70-74.
156. Wang Ch.Y. 2003. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 38, 869-875.
157. Witrowa-Rajchert D., Hankus M., Pawlak E. 2009. Wpływ metody suszenia na zawartość chlorofilu i barwę oregano oraz bazylii. *Inż. Ap. Chem.*, 48(1), 70-71.
158. Włodarek A., Badełek E., Robak J. 2011. Wpływ środków konwencjonalnych i pochodzenia naturalnego stosowanych przedzbiorniczo na trwałość przechowalniczą korzeni marchwi. *Nowości Warzywnicze*. Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach. 37-45.
159. Woś A. 1999. *Klimat Polski*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 187.
160. Wójcik-Stopczyńska B., Jakowienko P. 2013. Antygrzybowa aktywność olejków eterycznych ziela bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum* L.) odmiany Wala. *Episteme*, 20, t. I, 623-632.
161. Wójcik-Stopczyńska B., Jakubowska B. 2018. Ocena *in vitro* aktywności przeciwgrzybowej niektórych suszonych przypraw ziołowych. *ŻNTJ*, 25, 1(114), 112-125.
162. Xu S., Yan F., Ni Z., Chen Q., Zhang H., Zheng X. 2014. *In vitro* and *in vivo* control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese origin. *J. Sci. Food Agric.*, 1403-1408.
163. Yen G.C., Chen H.Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 43(1), 27-32.
164. Zimowska B. 2015. Fungi threatening the cultivation of oregano (*Origanum vulgare* L.) in South-Eastern Poland. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 14(4), 65-78.

9. Spis tabel, rysunków i fotografii

Spis tabel	Strona
Tabela 1. Charakterystyka warunków termiczno-wilgotnościowych w latach uprawy lebiodki pospolitej..	38
Tabela 2. Usłonecznienie (h) w latach 2015-2018 na tle wielolecia.....	39
Tabela 3. Zawartość składników mineralnych w próbach gleby pobranych z pola doświadczalnego.....	40
Tabela 4. Plon ziela lebiodki ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$) w zależności od podgatunku i roku wegetacji roślin.....	41
Tabela 5. Skład chemiczny ziela <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>vulgare</i>	42
Tabela 6. Skład chemiczny ziela <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i>	44
Tabela 7. Porównanie średniej zawartości składników w ziele badanych podgatunków <i>O. vulgare</i> L. w okresie wielolecia (2015-2018).....	45
Tabela 8. Aktywność antyoksydacyjna suszu z ziela roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich w zależności od podgatunku lebiodki pospolitej i roku uprawy roślin.....	46
Tabela 9. Skład olejku pozyskanego z powietrznie suchego ziela <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>hirtum</i>	47
Tabela 10. Skład olejku pozyskanego z powietrznie suchego ziela <i>O. vulgare</i> L. ssp. <i>vulgare</i>	48
Tabela 11. Wpływ olejku oreganowego <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich oraz substancji kontrolnych na wielkość stref zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w 6 dobie inkubacji, w zależności od dawki olejku i szczepu grzyba.....	57
Tabela 12. Wpływ olejku oreganowego <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (dawka 10 μl /krążek) pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich, na wielkość stref (mm) zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w 6 dobie hodowli, w zależności od roku uprawy roślin i szczepu grzyba.....	58
Tabela 13. Minimalna hamująca (MIC) i grzybobójcza (MFC) koncentracja olejku <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich wyznaczona dla testowanych grzybów.....	59
Tabela 14. Inhibicja wzrostu (%) kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z 1% dodatkiem suszu <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich, w zależności od roku uprawy roślin i szczepu grzyba.....	60
Tabela 15. Zahamowanie wzrostu (%) kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z dodatkiem wywaru pozyskanego z suszu <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> z roślin jedno-, dwu- i trzyletnich, w zależności od roku uprawy i szczepu grzyba.....	61
Tabela 16. Wpływ olejku oreganowego <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> pozyskanego z roślin jednorocznych, dwu- i trzyletnich na wielkość średnicy stref zahamowania wzrostu grzybów pleśniowych w szóstej dobie inkubacji.....	65
Tabela 17. Procentowe zahamowanie wzrostu kolonii grzybów w 6 dobie hodowli na podłożu z dodatkiem suszu (1,0%) i wywaru (30%) pozyskanego z suszu <i>O. vulgare</i> ssp. <i>vulgare</i> z roślin jednorocznych i dwuletnich.....	66
Tabela 18. Aktywność przeciwbakteryjna olejków ssp. <i>hirtum</i> i ssp. <i>vulgare</i> , pozyskanych z ziela roślin dwuletnich (z 2016 r.).....	67
Tabela 19. Porównanie zawartości niektórych składników w truskawkach ‘Senga Sengana’ traktowanych olejkiem (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C.....	69
Tabela 20. Porównanie zawartości niektórych składników w truskawkach ‘Roxana’ traktowanych olejkiem (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C.....	70
Tabela 21. Porównanie zawartości niektórych składników w śliwkach ‘Węgierka Zwykła’ traktowanych olejkiem (O) i nietraktowanych (K) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C i 5°C.....	73
Tabela 22. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Perfekcja’ nietraktowanych (K) i traktowanych olejkiem (O) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C.....	76
Tabela 23. Porównanie zawartości składników w pomidorach <i>cherry</i> nietraktowanych (K) i traktowanych olejkiem (O) – stan początkowy i po przechowywaniu w temperaturze 20°C.....	77
Tabela 24. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Major F ₁ ’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkiem i wywarem.....	79
Tabela 25. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach marchwi ‘Romance F ₁ ’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkiem i wywarem.....	80

Tabela 26. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkami i wywarem	83
Tabela 27. Porównanie zawartości niektórych składników w korzeniach pietruszki ‘Berlińska’ przed- i po przechowywaniu – kontrolnych, traktowanych olejkami i wywarem	84
Tabela 28. Trwałość pozbiorna ciętych kwiatostanów wyżłinu większego w zależności od rodzaju roztworu w wazonie i roku uprawy roślin <i>O. vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i>	88

Spis rysunków

Strona

Rys. 1. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu <i>A. niger</i> w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. <i>hirtum</i> oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)	52
Rys. 2. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu <i>P. cyclopium</i> w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. <i>hirtum</i> oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)	53
Rys. 3. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu <i>S. sclerotiorum</i> w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. <i>hirtum</i> oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)	53
Rys. 4. Zmiany średniej średnicy zahamowania wzrostu <i>T. roseum</i> w zależności od czasu działania różnych dawek olejku ssp. <i>hirtum</i> oraz substancji kontrolnych (średnie z lat 2015-2018)	54
Rys. 5. Zmiany ogólnej liczby bakterii w korzeniach marchwi ‘Major F ₁ ’ i ‘Romance F ₁ ’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B).....	78
Rys. 6. Zmiany liczby grzybów pleśniowych w korzeniach marchwi ‘Major F ₁ ’ i ‘Romance F ₁ ’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B).....	79
Rys. 7. Zmiany ogólnej liczby bakterii w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B)	81
Rys. 8. Zmiany liczby grzybów pleśniowych w korzeniach pietruszki ‘Hanacka’ i ‘Berlińska’ w zależności od fazy oceny (A) oraz sposobu traktowania korzeni (B).....	82

Spis fotografii

Strona

Fot. 1. Wpływ olejków i substancji kontrolnych na wielkość strefy zahamowania wzrostu <i>T. roseum</i> w 6 dobie obserwacji – olejek ssp. <i>hirtum</i> : 1μl/krażek (A), 5μl/krażek (B), 10 μl/krażek (C); olejek ssp. <i>vulgare</i> 10 μl/krażek (D); nystatyna (E); Topsin M (F).....	62
Fot. 2. Wpływ olejków i substancji kontrolnych na wielkość strefy zahamowania wzrostu <i>Alternaria sp.</i> w 6 dobie obserwacji – olejek ssp. <i>hirtum</i> : 1μl/krażek (A), 5μl/krażek (B), 10 μl/krażek (C); olejek ssp. <i>vulgare</i> 10 μl/krażek (D); nystatyna (E); Topsin M (F).....	63
Fot. 3. Porównanie wzrostu kolonii <i>T. roseum</i> w 6 dobie hodowli: na podłożu kontrolnym (A), na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. <i>vulgare</i> : 30% wywaru (B), 1% suszu (C), na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. <i>hirtum</i> : 15% wywaru (D), 1% suszu (E).....	64
Fot. 4. Porównanie wzrostu kolonii <i>A. niger</i> w 6 dobie hodowli: na podłożu kontrolnym (A); na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. <i>vulgare</i> : 30% wywaru (B), 1% suszu (C); na podłożach z dodatkiem pochodnych ssp. <i>hirtum</i> : 15% wywaru (D), 1% suszu (E).....	64
Fot. 5. Stan owoców ‘Senga Sengana’ zainfekowanych <i>B. cinerea</i> , po 3 dniach składowania w temp. 20°C: traktowane olejkami – po lewej, nietraktowane olejkami – po prawej.....	68
Fot. 6. Stan owoców ‘Roxana’ zainfekowanych <i>B. cinerea</i> , po 10 dniach składowania w temp. 5°C: traktowane olejkami – po lewej, nietraktowane olejkami – po prawej.....	68
Fot. 7. Stan śliwek ‘Węgierka Zwykła’ zainfekowanych <i>B. cinerea</i> , po 7 dniach składowania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkami – po lewej, traktowane olejkami – po prawej.....	72
Fot. 8. Stan śliwek ‘Węgierka Zwykła’ zainfekowanych <i>B. cinerea</i> , po 28 dniach składowania w temperaturze 5°C: nietraktowane olejkami – na górze, traktowane olejkami – na dole.....	72
Fot. 9. Stan korzeni marchwi ‘Perfekcja’ zainfekowanych <i>S. sclerotiorum</i> , po 10 dniach przechowywania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkami – na górze, traktowane olejkami – na dole.....	75
Fot. 10. Stan pomidorów <i>cherry</i> zainfekowanych <i>Alternaria sp.</i> , po 7 dniach przechowywania w temperaturze 20°C: nietraktowane olejkami – po lewej, traktowane olejkami – po prawej.....	76
Fot. 11. Stan ciętych kwiatostanów wyżłinu umieszczonych: w wodzie destylowanej – po lewej (obiekt kontrolny), w wodzie z dodatkiem olejku ssp. <i>hirtum</i> (100 μl/dm ³) – w środku, w 2,5% roztworze wywaru – po prawej.....	86