



UNIwersytet
Przyrodniczy
we Wrocławiu

Naturalne związki bioaktywne w nawłoci późnej (*Solidago gigantea* Aiton) oraz ich właściwości przeciwbakteryjne i chemoprewencyjne

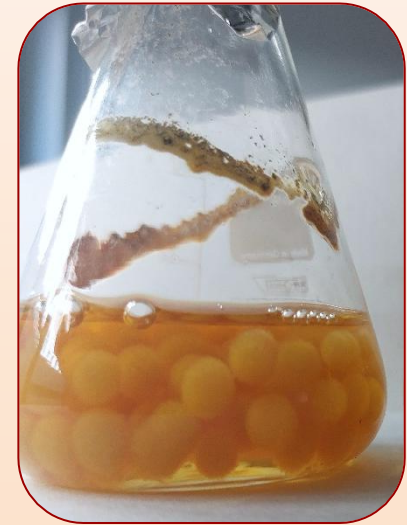
Dr Elżbieta Gębarowska
Katedra Ochrony Roślin
Pracownia Biogeochemii i Mikrobiologii Środowiskowej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Biopreparaty rolnicze

Zawierają żywe organizmy (np. owady, nicienie, bakterie, grzyby, wirusy) lub ich metabolity, a także substancje pochodzenia naturalnego (np. olejki eteryczne, wyciągi z roślin), które wykorzystywane są m.in. w przemyśle rolniczym, spożywczym, w ochronie środowiska, czy w medycynie.

Ich zadaniem jest wspieranie procesów biologicznych w ochronie roślin, w oczyszczaniu środowiska lub w poprawie zdrowia ludzi i zwierząt.

Bashan et al., *Microbial Inoculants in Sustainable Agriculture*, 2014



Kultura
Trichoderma spp.

Globalny rynek biopreparatów (wg IMARC Group)
Wartość w 2024 roku: od 7,6 do 8,7 miliarda USD
Prognoza na 2034 rok: od 18,6 do 32,17 miliarda USD

IMARC - International Market Analysis Research and Consulting Group

Ekologiczność –
biodegradowalne,
mniejsze ryzyko
skażenia
środowiska.

**Bezpieczeństwo
dla ludzi
i roślin**
– wiele
związków ma
niski poziom
toksyczności
w stosunku
do organizmów
niecelowych.

**Niższe ryzyko
oporności** –
wielokierunkowy
mechanizm
działania
utrudnia
patogenom
adaptację.

**Synergia z
konwencjonalnymi
pestycydami /
antybiotykami**
– możliwość
redukcji dawek
chemicznych.

Zalety stosowania naturalnych związków

Wyzwania i ograniczenia w stosowaniu związków naturalnych

Stabilność
– niektóre związki
są lotne lub łatwo
ulegają degradacji
w świetle UV
i wysokiej
temperaturze.

Standaryzacja
– zmienny skład
wyciągów
w zależności
od surowca
i metody
ekstrakcji.

Koszty
– pozyskiwanie
i formułacja
(np. mikro-
kapsułkowanie,
czy nanoemulsje)
podnoszą cenę.

Regulacje
– rejestracja
biopreparatów
jest często
kosztowna
i czasochłonna.

Charakterystyka *Solidago gigantea* Aiton
Nawłóć późna (olbrzymia)
Rodzina: *Asteraceae*

Pochodzenie: ojczyzna to Ameryka Północna, a do Europy została wprowadzona jako roślina ozdobna w XVII wieku.



Znaczenie gospodarcze

Jedna z najbardziej inwazyjnych roślin występujących w Polsce.

Tendencja do szybkiego kolonizowania i konkutowania z rodzimą roślinnością na obszarach zaburzonych (pobocza dróg, tory kolejowe, opuszczone pola).

Często zajmuje siedliska pól uprawnych, zmniejsza obfitość i różnorodność rodzimych zbiorowisk roślinnych poprzez konkurencję o wodę, składniki odżywcze i światło.

Wytwarza związki allelopatyczne, które utrudniają wzrost sąsiednich roślin poprzez hamowanie kiełkowania nasion i zahamowanie wydłużania korzeni.

Dodatkowe nakłady pracy w celu kontrolowania i zarządzania inwazją, wpływają na rentowność działalności rolniczej.

Sposób na nawłóć:

zagospodarowanie materiału roślinnego jako środka przeciwbakteryjnego, -grzybiczego, entomopatogenicznego, czy chemoprewencyjnego.

Cel badań

1) Określenie składu chemicznego wyciągu z nawłoci.

2) Ocena aktywności bakteriostatycznej i bakteriobójczej ekstraktu z nawłoci późnej (*Solidago gigantea*) na Gram-dodatnie i Gram-ujemne bakterie chorobotwórcze dla roślin, ludzi i zwierząt.

3) Ocena toksyczności wobec roślin, prawidłowych i nowotworowych komórek ssaków.

Wyniki tego typu badań mogą stanowić podstawę do opracowania innowacyjnych produktów wykorzystywanych zarówno w rolnictwie i ochronie środowiska, jak i w farmakoterapii różnych schorzeń.

Materiały

Wyciąg z nawłoci – otrzymano poprzez frakcjonowaną ekstrakcję suszu roślinnego metanolem (1: 5, w/v).

Testowane fitopatogeny (Bank Patogenów Roślin i Badania ich Bioróżnorodności, IOR-BIP, Poznań).

Gram-ujemne pałeczki: *Burkholderia cepacia* IOR 2151, *Dickeya zeae* IOR 2243, *Pectobacterium carotovorum* IOR 1822 (*Erwinia carotovora*), *Dickeya chrysanthemi* IOR 1452 (*Erwinia chrysanthemi*), *Pseudomonas syringae* IOR 2260, *Pseudomonas syringae* var. *lachrymans* IOR 2183, *Rhizobium radiobacter* IOR 2188;

Patogeny ludzi i zwierząt (Polska Kolekcja Mikroorganizmów – PCM, PAN, Wrocław).

Gram-dodatnie ziarniaki: *Enterococcus hirae* PCM 1054, *Enterococcus faecalis* PCM 29212, *Staphylococcus aureus* PCM 2054 i PCM 458, *Staphylococcus aureus* PCM MRSA 3144 i 33592, *Staphylococcus epidermidis* PCM 2118, *Staphylococcus epidermidis* MRSE PCM 2532, *Staphylococcus pseudintermedius* PCM 2791.

Gram-dodatnia laseczka, przetrwalnikująca: *Bacillus cereus* PCM 2019.

Testowane linie komórkowe (kolekcja American Type Culture Collection, ATCC)

NHDF – prawidłowe fibroblasty skóry ludzkiej;

MCF-7 – linia ludzkiego raka piersi i linia doksorubicyno-oporna **MCF-7/DX**;

LoVo – linia ludzkiego raka okrężnicy i linia doksorubicyno-oporna **LoVo/DX**;

A549 – linia ludzkiego raka płuca i **THP-1** – linia ludzkiej białaczki monocytowej;

Metody badawcze

***Izolacja i identyfikacja związków biologicznie czynnych w wyciągu z nawłoci.**

Całkowita zawartość flawonoidów (TFC) i fenoli (TPC) metoda spektroskopowa, kolorymetryczna. Izolacja i identyfikacja flawonoidów i kwasów fenolowych – chromatografia cieczową (LC) sprzężona z tandemową spektrometrią masową (MS/MS).

***Ocena potencjalnych właściwości przeciwbakteryjnych wyciągu z nawłoci**

– metoda krążkowo-dyfuzyjna (CLSI, M2-A9, 2007)

***Ocena działania bakteriostatycznego (MIC₅₀ i MIC₉₀) i bakteriobójczego (MBC)**

– metoda mikrorozcieńczeń (CLSI, M100, 2017);

***Ocena wpływu wyciągu z nawłoci na wzrost roślin – metoda zatrutego podłoża.**

Ocena działania cytotoksycznego wyciągu z nawłoci na komórki prawidłowe i nowotworowe – test kolorymetryczny MTT (PN, ISO 10993-5).

*Gębarowska E., Łyczko J., Rdzanek M., Wiatrak B., Płaskowska E. et al., Evaluation of Antimicrobial and Chemopreventive Properties and Phytochemical Analysis of *Solanum nigrum* L. Aerial Parts and Root Extracts". Applied Sciences, 2022, 12(14), 6845.

Wnioski

- 1) Działanie przeciwbakteryjne wyciągu z nawłoci zależało od rodzaju bakterii – bakterie Gram-dodatnie były bardziej wrażliwe niż Gram-ujemne.
- 2) Wyciąg z nawłoci wykazywał zarówno działanie bakteriostatyczne jak i bakteriobójcze, głównie wobec bakterii Gram-dodatnich z rodzaju *Staphylococcus*.
- 3) W przypadku patogenów roślin wyciąg z nawłoci wykazywał jedynie działanie bakteriostatyczne, bez efektu bakteriobójczego.
- 4) Stwierdzono, że wyciąg z nawłoci hamował kiełkowanie nasion ogórka, pszenicy ozimej i rzepaku ozimego.
- 5) Wyciąg z nawłoci wykazywał potencjał przeciwnowotworowy – zdolność do skutecznego niszczenia komórek nowotworowych (w tym niektórych opornych na chemioterapię np. LoVo/DX) przy jednocześnie stosunkowo niewielkim wpływie na komórki prawidłowe (NHDF).
- 6) W ekstrakcie z nawłoci zidentyfikowano sześć kwasów fenolowych i siedem flawonoidów, spośród których dominowały kwas chlorogenowy i rutyna. Związki te charakteryzują się m.in. działaniem przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym, przeciwzapalnym oraz antyoksydacyjnym.

Podsumowanie

W różnych badaniach dotyczących ekstraktów roślinnych wartości MIC/MBC mieściły się w zakresie od 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ do 250 mg/mL .

**Aktywność biologiczna wyciągów z roślin zależy od wielu czynników, takich jak:
metoda suszenia, sposób ekstrakcji, rodzaj rozpuszczalnika, skład frakcji chemicznych, gatunek rośliny oraz testowany patogen.**

Nowe kierunki badań

Wymagane są dalsze badania nad możliwością łączenia wyciągów roślinnych z innymi ekstraktami, olejkami eterycznymi, mikroorganizmami, a także z pestycydami i antybiotykami.