Acta Juvenum vol. 6: s. 45-51, 2021
I Ogólnokształcące Liceum Akademickie
im. Janiny Kossakowskiej-Dębickiej
w Kielcach

WPŁYW JUGLONU EKSTRAHOWANEGO Z LIŚCI ORZECHA WŁOSKIEGO (*JUGLANS REGIA* L.) NA ROZWÓJ SIEWEK RZODKIEWKI (*RAPHANUS SATIVUS* VAR. *SATIVUS*)

INFLUENCE OF JUGLONE EXTRACTED FROM THE WALNUT LEAVES (*JUGLANS REGIA* L.) FOR THE DEVELOPMENT OF RADISH SEEDLINGS (*RAPHANUS SATIVUS* VAR. *SATIVUS*)

Daria Chwaścińska

ABSTRACT

Studies with modern taxonomic methods such as molecular or biochemical methods have allowed to determine the multicomponent structure of lichens and classified them into lichenized fungi. This taxonomic classification is determined by the fungus occurring in the lichen mycelia. The wall lichen (*Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.) is a species of fungi in the lichen family (Teloschistaceae). It is classified as a lichen because of its symbiosis with algae.
The characteristic feature of lichens is the production of organic compounds or lichen acids which are secondary metabolites. These compounds are fatty acids and phenols. They are deposited on the external side of the mycelium hyphae in the form of crystals. Lichen acids have a defensive function inhibiting the development of bacteria and parasitic fungi. Among others, usnic acid and parietic acid have bactericidal properties. These compounds are specific only to lichens. Goldenseal produces a chemical compound called anthraquinone. Its orange crystals are deposited in the upper cortex of the mold. UV light and enzymes from the photosynthetase group produced by the Trebouxia algae in it are involved in the production of this compound. In addition, wall goldweed produces fallacinal, emodin, teloschistin and parietic acid in smaller amounts. Since lichen acids exhibit fungicidal properties, the present study was aimed at demonstrating these properties with respect to mold fungi and at indicating their applicability for the control of mold developing on food products using natural preparations that are solutions of lichen acids. Mycelium culture of black decomposer on bread was inflicted with anthraquinone solutions obtained from goldenseal moulds. The concentration of the applied solutions was varied at 0.25%, 05% and then sprays were made on the developed mycelium of the black decomposer. The results of the experiment were summarized in a table, noting the type and time of occurring changes and taking photographic documentation. A very quick reaction of the mycelium to the applied solution of anthraquinone was found, which is a premise for the use of this compound as a natural fungicide.
.

Słowa kluczowe: porosty, wtórne metabolity, właściwości grzybobójcze, plecha
***Key words*:** *lichens, secondary metabolites, fungicidal properties, thallus*

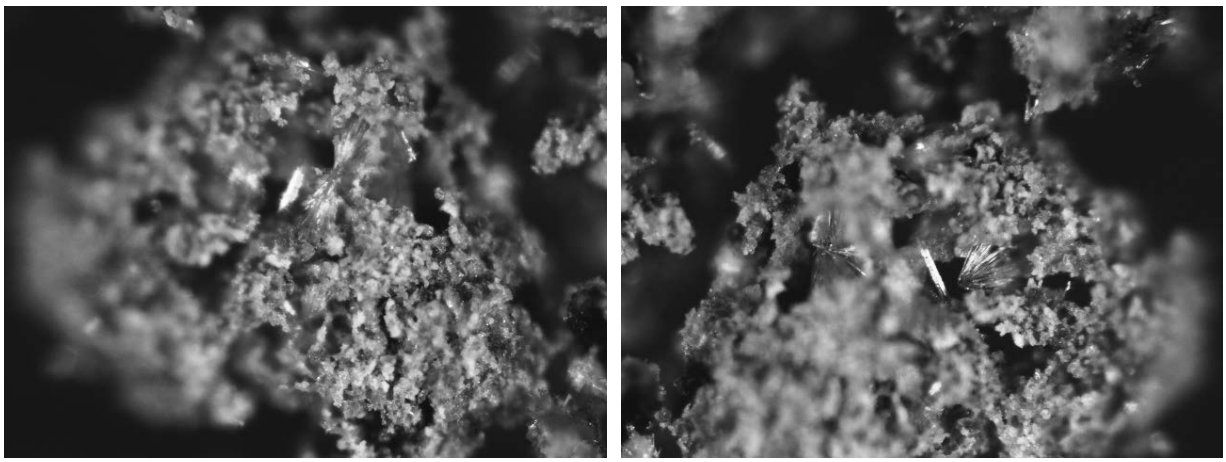
Daria Chwaścińska, kl. I, I Ogólnokształcące Liceum Akademickie im. Janiny Kossakowskiej-Dębickiej w Kielcach, e-mail: daria.chwascinskax@icloud.com

Opiekun merytoryczny/*Guardian substantive*: dr hab. Małgorzata Anna Jóźwiak

Wprowadzenie

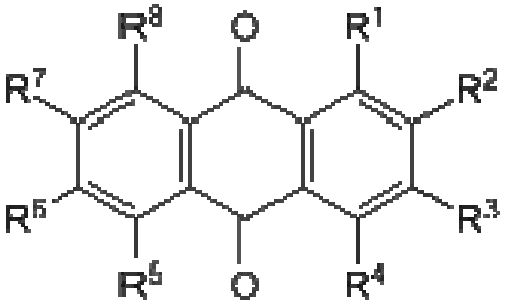
Porosty to plechowce o dualistycznej naturze anatomicznej. Powstają w wyniku połączenia dwóch odmiennych komponentów, grzyba i komórek zielenic lub cyjanobakterii. Typ oddziaływań międzygatunkowych funkcjonujący w strukturze tak zbudowanej plechy określany jest jako mutualizm. Jest to specyficzna forma współżycia. Skutkuje ona występowaniem cech, które są odmienne w stosunku do obu komponentów plechy i powoduje powstanie odrębnej grupy taksonomicznej (Wójciak 2010). Systematyka porostów stanowi integralną część systemu klasyfikacyjnego grzybów a nazwa mykobionta jest nazwą gatunkową porostu, który go tworzy (Fałtynowicz 2003). Organizm autotroficzny (glon) klasyfikowany jest niezależnie. Do podstawowych cech pozwalających na taksonomiczną klasyfikację porostów są cechy morfologiczno-anatomiczne (kształt i kolor plechy, kształt owocników, sposób uczepu i typ podłoża) oraz cechy chemiczne. Dzięki metodom chemicznym identyfikowane są wtórne metabolity obecne w plechach porostów, które są związkami o szerokim znaczeniu biologicznym. Znaczenie tych związków wynika z ich właściwości antybakteryjnych, cytotoksycznych, antywirusowych i przeciwgrzybiczych. Znane są liczne, historyczne wzmianki wykorzystujące właściwości metabolitów porostowych. Wzmianki te pojawiają się w dokumentach obejmujących okres cywilizacji chińskiej i egipskiej. Plechy porostów odnajdywano w starożytnym Egipcie w szczątkach wielu mumii. Stosowano je do balsamowania zwłok wykorzystując w ten sposób ich własności przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjnie. Skutecznie stosowano je również w przeszłości do sporządzania trucizn (*Letharia vulpina*) na lisy i wilki. Dziś znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach życia m.in. do produkcji środków zwalczających roślinożerne owady i ślimaki. Właściwości antybiotyczne wtórnych metabolitów porostowych wykazano po raz pierwszy w 1944 r. Za najbardziej aktywne chemicznie uznano kwas usninowy, pochodne kwasu fulwinowego, depsydy i depsydony grupy orcynowej oraz kwasy alifatyczne. Eksperymentalnie udowodniono ich wpływ na różne organizmy, w szczególności na bakterie i grzyby (Wójcik i in. 2005).

Są one bowiem istotnym zagrożeniem dla plech porostowych, zatem wytwarzanie przez nie antybiotycznych metabolitów jest naturalną reakcją obronną porostów (Bystrek 1997; Bystrek, Leonowicz 1987). Niektóre gatunki grzybów wytworzyły jednak sposoby omijania chemicznych barier porostowych. Rodzaj *Fusarium* pasożytujący na *Lasallia papulosa* wykształcił mechanizm enzymatycznego rozkładu kwasu gyroforowego chroniącego plechę porostu *Lasallia papulosa*. Wykazano również grzybobójcze właściwości wtórnych metabolitów porostowych w odniesieniu do glebowych grzybów mikoryzowych, badając ich wpływ na kiełkowanie nasion sosny (*Pinus silvestris*). Porosty, podobnie jak i grzyby, przez długi czas były uważane za rośliny lub też jako samodzielna gromada świata żywego. Dawna łacińska nazwa tych organizmów to *Lichenes*, stąd nauka o porostach to lichenologia. Przeprowadzone w ostatnich kilkudziesięciu latach dokładne badania z wykorzystaniem nowoczesnych metod taksonomicznych (m.in. molekularnych i biochemicznych) pozwoliły stwierdzić, że porosty ze względu na swoją wieloskładnikową strukturę zaliczane są do grzybów lichenizowanych. Ponieważ cechą charakterystyczną porostów jest zdolność do wytwarzania wtórnych metabolitów zwanych popularnie kwasami porostowymi to obecność tych związków, wykorzystuje się przy identyfikacji taksonomicznej poszczególnych gatunków ponieważ dają tzw. reakcje barwne. Opisano ponad 350 różnych kwasów porostowych, m.in. są to kwas usninowy, kwas wulpinowy, kwas gyroforowy, kwas lekanorowy, kwas tamnoliowy, kwas fumaroprotocetrariowy. Są pochodnymi kwasów tłuszczowych i fenoli. Znajdują się na zewnętrznej stronie strzępek grzybów w postaci kryształków o różnej barwie (Opanowicz 2002; Opanowicz 2003). Złotorost ścienny wytwarza związek chemiczny o nazwie antrachinon. Jego pomarańczowe kryształki znajdują się w górnej korze plechy (fot. 1). W wytwarzaniu tego związku bierze udział promieniowanie UV oraz enzymy z grupy fotosyntetaz wytwarzane przez znajdujące się w nim glony z rodzaju *Trebouxia*. Ponadto złotorost ścienny w mniejszych ilościach wytwarza fallacinal, emodyny, teloschistin i kwas parietynowy wykazujący silną fluorescencję pod wpływem światła UV i wrażliwość na odczyn środowiska. Antrachinony, z uwagi na strukturę chemiczną, zalicza się do utlenionych pochodnych antracenu (ryc. 1, 2). Zdolność ich biosyntezy przez wiele gatunków grzybów lichenizowanych objawia się charakterystycznym żółtym, pomarańczowym lub czerwonym zabarwieniem porostu. Wszystkie antrachinony cechuje wielokierunkowa aktywność biologiczna. Wykazują właściwości ściągające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeczyszczające, fotoochronne oraz przeciwbakteryjne.Wyizolowane z gatunków porostów rodzaju *Xanthoria sp.* pochodne antracenu takie jak erytroglaucyna, fiscion czyli parietyna, ksantoryna, emodyna, fallacynal i teloschistyna, czyli fallacynol mają właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Badania laboratoryjne wykazały,

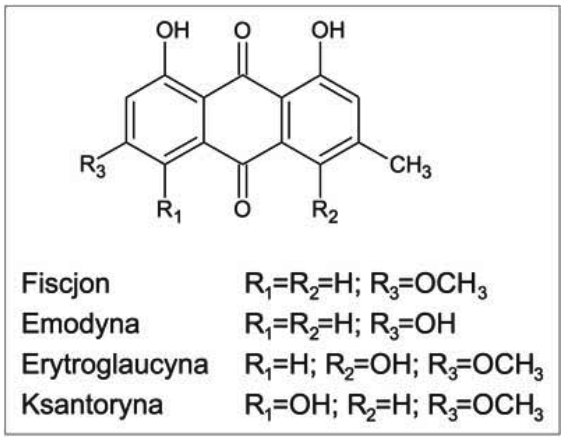


Fot. 1. Pomarańczowe kryształy antrachinonu na górnej powierzchni plechy Xantoria parietina (Fot. M. Jóźwiak)
Photo 1. Orange anthraquinone crystals on the upper surface of the thallus of Xanthoria parietina (Photo M. Jóźwiak)

że wymienione antrachinony w stężeniu 20–80 µg/ml hamowały wzrost wobec testowanych w eksperymentach laboratoryjnych gatunków grzybów. Stanowią największą grupę naturalnie występujących chinonów, obok benzochinonów i naftochinonów. Występują w wielu organizmach, przede wszystkim u roślin (głównie z rodzajów marzanowatych, rdestowatych i szakłakowatych), ale również u bakterii, porostów i grzybów, a nawet u niektórych zwierząt. Mogą występować w formie wolnej bądź jako glikozydy np. alizaryna i jeden z jej glikozydów, kwas ruberytrynowy. Struktura chemiczna wszystkich antrachinonów oparta jest na wspólnym szkielecie.



Ryc. 1. Ogólna struktura antrachinonów
Fig. 1. General structure of anthraquinones
https://pl.linkfang.org/wiki/Kwasy_porostowe



Ryc. 2. Wzory wybranych antrachinonów.
Fig. 2. Formulas of selected anthraquinones.
https://pl.linkfang.org/wiki/Kwasy_porostowe

Materiały i metody

Wydzielenie kwasu porostowego z plechy złotorostu ściennego

Kwasy porostowe ekstrahowano w łaźni wodnej w temperaturze 50–60oC w obecności acetonu. W kolbie okrągłodennej o pojemności100 ml umieszczono 2 g zmielonej plechy *Xantoria parietina* i 50 ml acetonu. Mieszaninę ogrzewano na łaźni wodnej w temperaturze 50–60oC przez około120 minut (temperatura wrzenia acetonu 56,05°C). Mieszaninę reakcyjną pozostawiono do ostygnięcia a następnie wystudzoną przesączono przez sączek do osobnych zlewek przy pomocy szklanego lejka. Surowy produkt pozostawiono w zlewkach w do momentu odparowania acetonu. Wtórne metabolity porostowe krystalizują w postaci igieł lub płatków na dnie i powierzchni zlewki. Próbki kryształów/wtórnych metabolitów naniesiono na szkiełka podstawowe

i obserwowano przy użyciu mikroskopu świetlnego NIKON AZ100 i dokonywano cyfrowego zapisu obrazu otrzymanych kryształów.Uprawę prowadzono przez trzy tygodnie od momentu braku pojawiania się kolejnych, nowych kiełkujących siewek.

Hodowla grzybni rozłożka czerniejącego

Na trzech szalkach Petriego umieszczono wilgotne kromki jasnego pieczywa. Szalki nakryto szklanym słojem i pozostawiono w zacienionym miejscu na trzy doby na czas rozwoju grzybni. Oceniano etapy rozwoju strzępek wegetatywnych i sporangialnych. Rozwój trzonków sporangialnych a na ich szczytach zarodni pozwolił na rozpoczęcie eksperymentu.

Przebieg eksperymentu

Wodny roztwór kwasów porostowych stosowano na wyhodowaną pleśń grzybni rozłożka czerniejącego, rozpylając roztwór nad jej powierzchnią.

Szalka I – Roztwór kwasów porostowych rozpylano 1x dziennie przez 7 dni.

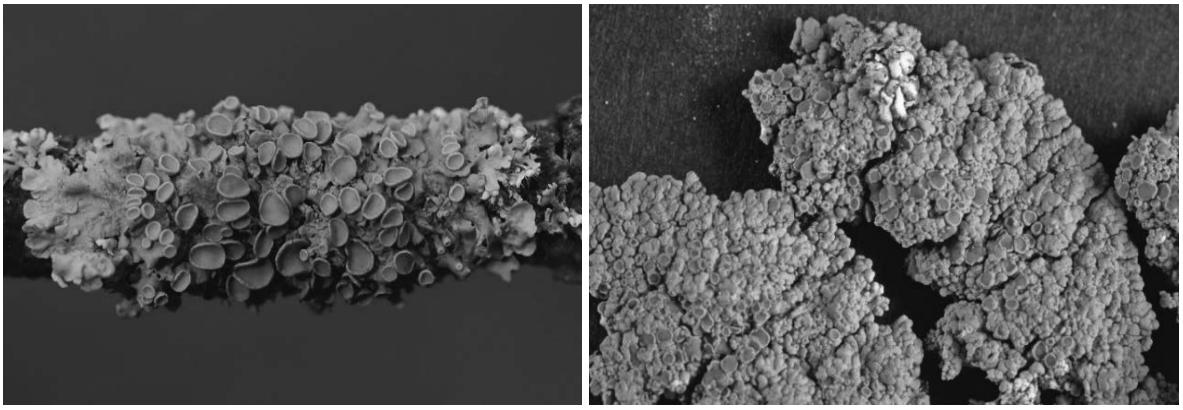
Szalka II – Roztwór kwasów porostowych rozpylano 2x dziennie przez 7 dni.

Szalka III – Roztwór kwasów porostowych rozpylano 3x dziennie przez 7 dni.

Wyniki obserwacji notowano w tabeli według wzoru.

Wzór tabeli

Nr szalki	Zmiany w wyglądzie grzybni pod wpływem oprysku roztworem kwasów porostowych						
	1 dzień badań	2 dzień badań	3 dzień badań	4 dzień badań	5 dzień badań	6 dzień badań	7 dzień badań
I jednokrotnyoprysk							
II dwukrotnyoprysk							
III trzykrotnyoprysk							



Fot. 2. Plecha złotorostu ściennego (Fot. M. Jóźwiak)
Photo 2. Thallus of golden algae (Photo M. Jóźwiak*)*

Charakterystyka obiektu badań

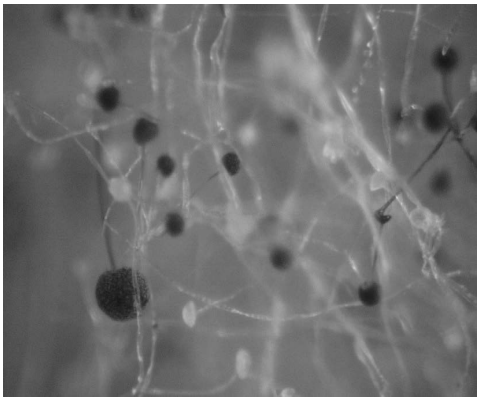
Systematyka tego grzyba w klasyfikacji według *Index Fungorum* zalicza go do *Xanthoria*, *Teloschistaceae*, *Teloschistales*, *Lecanoromycetidae*, *Lecanoromycetes*, *Pezizomycotina*, *Ascomycota*, *Fungi*.

Budowa morfologiczna plechy złotorostu ściennego: plecha listkowata, tworząca duże rozety do 10 cm średnicy łączące się w kolonie (fot. 2). Odcinki plechy grzbietobrzuszne spłaszczone, ale lekko wzniesione ku górze na zakończeniach. Powierzchnia górna żółta, pomarańczowa, gładka, nieco pomarszczona, bez sorediów. Rdzeń biały, z wydłużonymi strzępkami grzyba. Powierzchnia dolna biała (do żółtej), pomarszczona, z krótkimi, białymi chwytnikami. W rozmnażaniu nie wytwarza sorediów, ani izydiów, rozmnaża się wyłącznie przez zarodniki wytwarzane w apotecjach lekanorowych. Jest gatunkiem szeroko rozprzestrzenionym. Spotykany na wszystkich kontynentach oprócz Antarktydy. W Polsce jest pospolity na terenie całego kraju. Rośnie na korze i drewnie drzew i krzewów, zarówno

liściastych, jak i iglastych (rzadziej), a także na skałach wapiennych, betonie i na słomianych dachach. Swoje szerokie rozprzestrzenienie złotorost ścienny zawdzięcza dużej odporności na zanieczyszczenia. Jest w dużym stopniu odporny również na metale ciężkie, z tego też powodu znalazł zastosowanie w biomonitoringu. Na skali porostowej znajduje się w 3 grupie porostów, mogących rosnąć w powietrzu silnie zanieczyszczonym. Jest gatunkiem azotolubnym, z tego powodu często występuje na obszarach zaludnionych i rolniczych, o dużym stopniu eutrofizacji (https://pl.wikipedia.org/wiki/Złotorost_ścienny https://nagrzyby.pl/atlas/5223; http://www.wigry.org.pl/stowcip/ porosty_spk3.htm).

Charakterystyka rozłożka czerniejącego

Rozłożek czerniejący (*Rhizopus stolonifer*) należy do sprzężniowców. Jest to pospolicie występujący grzyb pleśniowy, kosmopolityczny. Występuje w wielu miejscach na Ziemi, takich jak tereny tropikalne czy subtropikalne. Jest toksyczny. Jego strzępki rozwijają się na powierzchni pożywienia, przerastając ją, pobierają substancje odżywcze. Jego grzybnia zbudowana jest ze strzępek, w których występują często nieregularne przegrody poprzeczne (cenocytowe), służące do oddzielenia struktur rozrodczych od reszty grzybni. Ściana komórkowa składa się z chityny i chitynostanu. Rozmnaża się bezpłciowo za pomocą nieruchliwych zarodników – aplanospor, roznoszonych przez wiatr oraz płciowo, jednak nie wytwarza gamet. Rozmnażanie płciowe polega na gametangiogamii (zygogamii), czyli na kopulacji dwóch gametangiów, najczęściej jednakowych morfologicznie, ale różnych fizjologicznie strzępek „–” i „+”. Powstała zygospora wykazuje charakter przetrwalnikowy. Po okresie spoczynku zygospora pęka i na krótkiej strzępce pojawia się kulista zarodnia (fot. 3) z haploidalnymi zarodnikami zdeterminowanymi płciowo. W każdej zarodni powstaje tylko jeden rodzaj zarodników, które rozwijają się w męskie i żeńskie grzybnie. Jeżeli warunki środowiska pogarszają się (np. gdy pleśń wyczerpie pokarm) *Rhizopus* może się rozmnażać płciowo.



Fot. 3. Strzępki grzybni wraz z zarodniami rozłożka czerniejącego (*Rhisopus nigricans*) (Fot. M. Jóźwiak)
Photo 3. Mushroom mycelium with white fodder spores (Rhisopus nigricans) (Photo M. Jóźwiak)

Wyniki

W wyniku ekstrachowania kwasów porostowych z plechy złotorostu ściennego otrzymano wielościenne kryształy kwasu parietinowego. Osadzone na dnie i ścianach kolby a następnie zebrane do zlewki rozpuszczono w wodzie i rozpylano nad powierzchnią trzech hodowli grzybni rozłożka czerniejącego nie zmieniając stężenia roztworu. Uzyskiwane w każdym kolejnym dniu trwania doświadczenia wyniki obserwacji wpisywano do tabeli (tab. 1).

Dwukrotny i trzykrotny oprysk dzienny spowodował w drugim dniu prowadzonych obserwacji zmiany w kolonii rozłożka czerniejącego. Przy jednokrotnym oprysku dziennym zmiany te nastąpiły w trzecim dniu stosowania roztworu kwasu. Całkowitą nekrozę grzybni po jednokrotnym oprysku zaobserwowano w szóstym dniu stosowania roztworu. Przy stosowaniu dwukrotnego i trzykrotnego dziennego oprysku całkowita nekroza nastąpiła w piątym dniu jego stosowania.

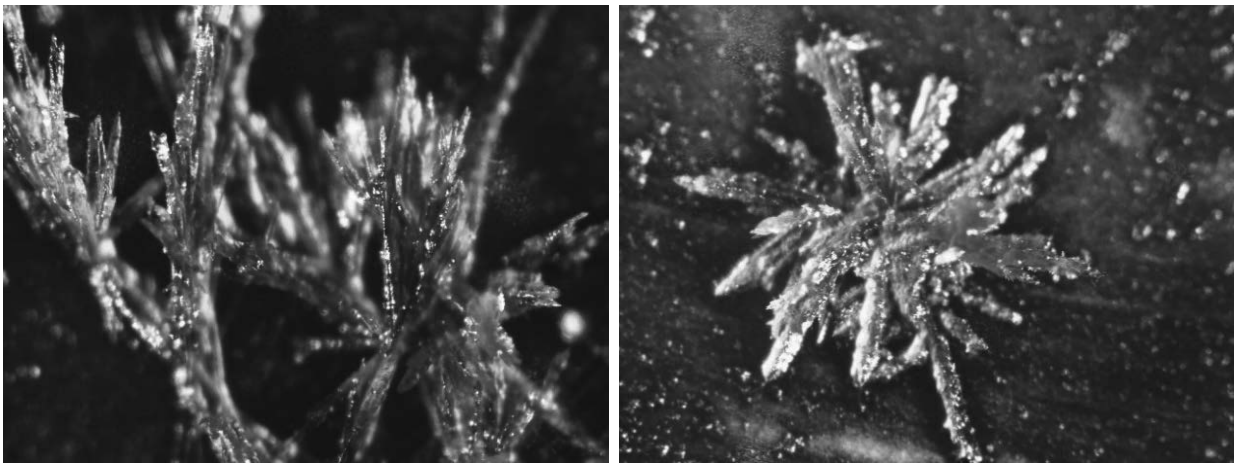
Podsumowanie i wnioski

Dzięki syntezie wtórnych metabolitów porosty są źródłem aktywnych biologicznie związków. Z tego powodu cieszą się zainteresowaniem i wiele badań laboratoryjnych sprawdza eksperymentalnie możliwości ich zastosowania w medycynie. Potwierdzono już ich aktywność przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczną, przeciwnowotworową oraz cytotoksyczną (Studzińska i in. 2008; Studzińska-Sroka, Bylka, 2010).

Wśród wtórnych metabolitów porostowych najbardziej aktywne są: kwas usninowy, pochodne kwasu fulwinowego, depsydy i depsydony grupy orcynowej oraz kwasy alifatyczne. Wrażliwe na działanie metabolitów porostowych są bakterie gram-Dodatnie, niektóre szczepy bakterii gram-Ujemnych i grzyby. Wtórne metabolity porostowe mają również działanie antywirusowe. Porostowe depsydy i depsydony mogą hamować aktywność jednego z głównych enzymów wirusa HIV, a kwas usninowy rozwój wirusów zwierzęcych PV i HSV (Opanowicz 2002). Próby zbadania skuteczności i zastosowania kwasów porostowych przeciw grzybom pleśniowym może przyczynić się do zachowania trwałości produktów spożywczych i dzięki temu wpłynąć na gospodarcze znaczenie tych kwasów.

Tabela 1. Zmiany grzybni rozłożka czerniejącego pod wpływem oprysku roztworem kwasu parietinowego
Table 1. Changes in the mycelium of decomposition blackening under the influence of spraying with a solution of parietinic acid

Nr szalki	Zmiany w wyglądzie grzybni pod wpływem oprysku roztworem kwasu parietinowego						
	1 dzień badań	2 dzień badań	3 dzień badań	4 dzień badań	5 dzień badań	6 dzień badań	7 dzień badań
I jednokrotny oprysk	Brak zmian w grzybni	Brak zmian w grzybni	Obumieranie strzępek wegetatywnych na brzegach kolonii	Czernienie grzybni obumieranie strzępek sporangialnych	Brak zarodni całkowita nekroza strzępek wegetatywnych	Nekroza całej grzybni	Nekroza całej grzybni
II dwukrotny-oprysk	Brak zmian w grzybni	Obumieranie strzępek wegetatywnych na brzegach kolonii	Czernienie grzybni obumieranie strzępek sporangialnych	Brak zarodni całkowita nekroza strzępek wegetatywnych	Nekroza całej grzybni	Nekroza całej grzybni	Nekroza całej grzybni
III trzykrotny oprysk	Brak zmian w grzybni	Obumieranie strzępek wegetatywnych na brzegach kolonii	Czernienie grzybni obumieranie strzępek sporangialnych	Brak zarodni całkowita nekroza strzępek wegetatywnych	Nekroza całej grzybni	Nekroza całej grzybni	Nekroza całej grzybni



Fot. 4. Kryształy kwasu parietinowego (Fot. M. Jóźwiak)
Photo 4. Crystals of parietinic acid (Photo M. Jóźwiak)

Literatura

Bystrek J., 1997, Podstawy lichenologii. Wyd. UMCS, Lublin.

Bystrek J., Leonowicz A., 1987, Porosty i ich właściwości lecznicze. Folia Societatis Scientiarum Lublinensis 29.1, 27–37.66.

Fałtynowicz W., 2003, The Lichenes, Lichenicolous and allied Fungi of Poland. Krytyczna lista porostów i grzybów naporostowych Polski. Kraków: Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN, ISBN 83-89648-06-7.

Opanowicz M., 2002, Ekologiczna rola wtórnych metabolitów porostowych. Wiadomości Botaniczne 46, 35–44.

Opanowicz M., 2003, Ekologiczna rola wtórnych metabolitów porostowych. Wiad. Bot. 46.1-2: 35-44.

Studzińska E., Witkowska-Banaszczak E., Bylka W., Związki biologicznie aktywne porostów. Herba Pol 2008.

Studzińska-Sroka E., Bylka W., 2010, Aktywność przeciwdrobnoustrojowa metabolitów wtórnych porostów.

Wójcik P., Otta H., Wójcik J., Kędzia B., 2005, Brodaczka włosowata (*Usnea barbata* L.) – surowiec do preparatu o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbakteryjnym. Herba Polonica 51 (Suppl. 1), 151.

Wójciak H., 2010, Porosty, mszaki, paprotniki. Warszawa: Multico Oficyna Wydawnicza. ISBN 978-83-7073-552-4.

Netografia

https://pl.linkfang.org/wiki/Kwasy_porostowe.

https://pl.wikipedia.org/wiki/Złotorost_ścienny https://nagrzyby.pl/atlas/5223.

http://www.wigry.org.pl/stowcip/ porosty_spk3.htm.

STRESZCZENIE

Badania nowoczesnymi metodami taksonomicznymi takimi jak metody molekularne czy biochemiczne pozwoliły określić wieloskładnikową strukturę porostów i zaliczyły je do grzybów lichenizowanych. O takiej klasyfikacji taksonomicznej decyduje występujący w plechach porostowych grzyb. Złotorost ścienny (*Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.) jest gatunkiem grzybów z rodziny złotorostowatych (*Teloschistaceae*). Ze względu na symbiozę z glonami zaliczany jest do porostów.

Cechą charakteryzującą porosty jest wytwarzanie przez nie związków organicznych, czyli kwasów porostowych będących wtórnymi metabolitami. Związki te to kwasy tłuszczowe i fenole. Deponowane są na zewnętrznej stronie strzępek grzybni w postaci kryształków. Kwasy porostowe pełnią funkcje obronną, hamując rozwój bakterii i grzybów pasożytniczych Własności bakteriobójcze posiadają między innymi kwas usninowy i kwas parietynowy. Związki te są specyficzne tylko dla porostów. Złotorost ścienny wytwarza związek chemiczny o nazwie antrachinon. Jego pomarańczowe kryształki odkładają się w górnej korze plechy. W wytwarzaniu tego związku bierze udział promieniowanie UV oraz enzymy z grupy fotosyntetaz wytwarzane przez znajdujące się w nim glony z rodzaju *Trebouxia*. Ponadto złotorost ścienny w mniejszych ilościach wytwarza fallacinal, emodyny, teloschistin i kwas parietynowy. Ponieważ kwasy porostowe wykazują właściwości grzybobójcze prowadzone badania miały na celu wykazanie tych właściwości w odniesieniu do grzybów pleśniowych i wskazanie możliwości ich zastosowania do zwalczania pleśni rozwijającej się na produktach spożywczych z użyciem naturalnych preparatów będących roztworami kwasów porostowych. Hodowlę grzybni rozłożka czerniejącego na pieczywie zadawano roztworami antrachinonu pozyskanego z plech złotorostu ściennego. Różnicowano stężenie stosowanych roztworów na 0,25%, 05% a następnie wykonywano opryski rozwiniętej grzybni rozłożka czerniejącego. Wyniki eksperymentu zestawiono w tabeli notując rodzaj i czas pojawiających się zmian a także wykonując dokumentację fotograficzną. Stwierdzono bardzo szybką reakcję grzybni na zastosowany roztwór antrachinonu, co jest przesłanką do wykorzystania tego związku jako naturalnego preparatu grzybobójczego.