



Univerza v Ljubljani  
*Pedagoška* fakulteta



Univerza v Ljubljani  
*Biotehniška* fakulteta



## Študija potencialno antimikotičnih lastnosti piperidinskih alkaloidov v plodovih črnega poprovca (*Piper nigrum* L.)

### TEORETIČNO – RAZISKOVALNA NALOGA

Zunanji mentor:  
asist. Miha SLAPNIČAR, prof. kem., biol.

Zunanji mentor:  
asist. Matej VOŠNJAK, mag. inž. hort.

Šolska mentorica:  
Darja RIZMAL, prof. kem., biol.

Avtorici:  
Ana Lucija ČUK  
Hana GRINTAL

Ljubljana, april 2021

## POVZETEK

Črni poprovec (*Piper nigrum* L.) je večletna lesnata ovijalka, ki spada v družino poprovk (Piperaceae). Skozi zgodovino je poper veljal za najprestižnejšo začimbo, danes pa je črni poper trgovsko najbolj razširjena začimba na svetu. Glede na način obdelave plodov črnega poprovca ločimo črni, zeleni in beli poper. Ti se med seboj razlikujejo v več fizikalnih in kemijskih lastnostih. Različne dele rastline uporabljajo zaradi visoke vsebnosti sekundarnih metabolitov kot zdravila, konzervanse in naravna sredstva s široko uporabo. Izmed sekundarnih metabolitov je v plodovih črnega poprovca najbolj zastopan alkaloid piperin, ki jim daje njihovo ostrino, ima pa tudi vrsto drugih bioloških lastnosti, med drugimi bi ga lahko uporabili pri kontroli glivičnih okužb v kmetijstvu. Za zatiranje glivičnih okužb se v praksi večinoma uporabljajo sintetični pesticidi, ki pa imajo negativen vpliv na okolje. V teoretično raziskovalni nalogi smo pregledali obstoječe raziskave o potencialno antimikotičnih lastnostih črnega poprovca in piperina na nekatere vrste gliv. Podrobneje smo raziskali najpogostejše glivične bolezni v sadovnjakih. Veliko raziskav omenja možnost uporabe pripravkov iz različnih delov rastline črni poprovec kot naraven fungicid, ki pa niso nič manj učinkoviti. Ugotovili smo, da bi z uporabo učinkovitih naravnih pripravkov iz plodov črnega poprovca lahko zmanjšali uporabo fitofarmaceutskih sredstev, zmanjšali vpliv škodljivih snovi na okolje, stroške pridelave, izboljšala bi se varnost hrane, biotična raznolikost, produktivnost tal in vzdržnost kmetijstva. Uporaba rastlinskih ekstraktov iz plodov črnega poprovca bi lahko potencialno predstavljala alternativo pogosto uporabljenim sintetičnim pesticidom ter bi s tem nekoliko omejili okoljske težave, povezane z njihovo uporabo. Bi pa bile v tej smeri potrebne raziskave v laboratoriju, da bi ugotovili najučinkovitejše kombinacije izvlečkov in koncentracij in vpliv le teh na preučevane vrste gliv.

**Ključne besede:** Črni poprovec, alkaloid, piperin, biopesticidi, glivične bolezni

## ABSTRACT

Black pepper (*Piper nigrum* L.) is a woody perennial belonging to the pepper family (Piperaceae). Throughout history, pepper has been considered the most valuable spice, and today black pepper is the most traded spice in the world. Depending on how the black pepper fruit is processed, it is classified into black, green and white pepper. These differ from each other in several physical and chemical properties. Various parts of the plant are used as medicines, preservatives and natural remedies with wide applications due to the high content of secondary metabolites. Of the secondary metabolites, the alkaloid piperine is most abundant in the fruits of black pepper and gives them their pungency, but it also has a number of other biological properties, among which it could be used in the control of fungal infections in agriculture. In practice, synthetic pesticides are usually used to control fungal infections, but they have a negative impact on the environment. In the theoretical research project, we reviewed existing research on the potential antifungal properties of black pepper and piperine on some species of fungi. We studied in more detail the most common some fungi species, the causal agents of the most important fungal diseases in fruit crops. Many studies mention the possibility of using preparations from different parts of the black pepper plant as a natural fungicide, which are no less effective. We found that the use of effective natural preparations from the fruits of black pepper could reduce the use of pesticides, reduce the impact of pollutants on the environment and production costs, improve food safety, biodiversity, soil productivity and agricultural sustainability. The use of plant extracts from black pepper fruits could potentially be an alternative to commonly used synthetic pesticides, thus somewhat limiting the environmental problems associated with their use. However, laboratory studies in this direction would be required to determine the most effective combinations of extracts and concentrations and their effects on the fungal species studied.

**Keywords:** Black pepper, alkaloid, piperine, biopesticide, fungal diseases

## KAZALO VSEBINE

	str.
POVZETEK	II
ABSTRACT	III
KAZALO VSEBINE	IV
KAZALO SLIK	VI
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
<b>1 RAZISKOVALNI PROBLEM IN NAMEN TEORETIČNO- RAZISKOVALNE NALOGE</b>	<b>1</b>
<b>2 ČRNI POPROVEC (<i>Piper nigrum</i> L.)</b>	<b>3</b>
2.1 Opis rastline	3
2.2 Zgodovina	4
2.3 Pridelava po svetu	4
2.4 Tehnologija pridelave	5
2.5 Obdelava plodov	8
2.6 Vsebnost snovi	10
2.6.1 SPLOŠNO	10
2.6.2 SEKUNDARNI RASTLINSKI METABOLITI	12
2.7 Uporabna vrednost plodov	13
<b>3 ALKALOIDI</b>	<b>15</b>
3.1 Zgodovina alkaloidov	15
3.2 Izvor imena alkaloidi in njihovo poimenovanje	16
3.3 Delitev alkaloidov	17
3.4 Učinki in uporabne vrednosti alkaloidov	19
3.5 Dokazne obarjalne reakcije za alkaloide	22
<b>4 PIPERIN</b>	<b>24</b>
4.1 Biosinteza piperina	26
4.2 Laboratorijska sinteza	27
4.3 Piperin kot »bioojačevalec«	29
4.4 Antioksidativna aktivnost piperina	30
4.5 Protirakava aktivnost piperina	30
4.6 Antidepresivne aktivnosti piperina	31

<b>5</b>	<b>RASTLINSKE BOLEZNI</b>	32
<b>5.1</b>	<b>Zgodovina rastlinskih bolezni</b>	32
<b>5.2</b>	<b>Pomen rastlinskih bolezni v sadjarstvu</b>	32
<b>5.3</b>	<b>Pogoji za razvoj bolezni</b>	32
<b>5.4</b>	<b>Povzročitelji rastlinskih bolezni</b>	33
<b>5.5</b>	<b>Glive kot povzročiteljice bolezni</b>	33
<b>5.6</b>	<b>Fitoformacevtska sredstva</b>	33
5.6.1	FUNGICIDI	34
5.6.2	NADZOR IN UPORABA FUNGICIDOV	34
<b>5.7</b>	<b>Uporaba rastlinskih ekstratov</b>	35
<b>5.8</b>	<b>Izbrane rastlinske bolezni</b>	35
5.8.1	CVETNA MONILIJA ( <i>Monilinia laxa</i> (Aderh. & Ruhl.) Honey)	35
5.8.2	GRENKA SADNA GNILOBA, ČRNA PEGAVOST ( <i>Colletotrichum</i> spp.)	37
5.8.3	SIVA PLESEN ( <i>Botrytis cinerea</i> Pers.)	39
5.8.4	PLODOVA MONILIJA ( <i>Monilinia fructicola</i> (Wint.) Honey)	41
<b>6</b>	<b>RASTLINE KOT BIOTIČNO SREDSTVO ZA VARSTVO PRED GLIVIČNIMI BOLEZNIMI</b>	43
<b>6.1</b>	<b>Antimikotična aktivnost rastlin rodu <i>Piper</i></b>	46
<b>7</b>	<b>SKLEPI</b>	49
<b>8</b>	<b>PREDLOGI NADALJNJEGA DELA</b>	50
<b>9</b>	<b>LITERATURA</b>	52

**ZAHVALA**

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Listi s socvetji (levo), cvetovi (sredina) in nedozoreli plodovi (desno) črnega poprovca (National Parks Board, 2013).	3
Slika 2: Nasad črnega poprovca (Diana Duff, 2016).	6
Slika 3: Okužba z glivo <i>Phytophthora capsici</i> (Thomas in Naik, 2017).	7
Slika 4: Antraknoza na listu črnega poprovca (TNAU Agritech portal, 2016).	7
Slika 5: Hrošč <i>Longitarsus nigripennis</i> , ki objeda plodove (levo) in poganjke (desno) črnega poprovca (Satyagopal idr., 2014).	8
Slika 6: Črni poper (levo), beli poper (sredina) in zeleni poper (desno) (Kew Science, 2017).	9
Slika 7: Koka ( <i>Erythroxylum coca</i> L.).	15
Slika 8: Friedrich Sertürner (1783-1841).	16
Slika 9: Skeletna formula molekule koniina (NEUROtiker, 2007).	17
Slika 10: Skeletna formula molekule tubokurarina (Calvero).	17
Slika 11: Skeletna formula molekule efedrina (NEUROtiker, 2008).	18
Slika 12: Skeletna formula molekule adrenalina (Wikipedia, 2007).	18
Slika 13: Skeletna formula molekule hemisina-A (ciklopeptidni alkaloid).	18
Slika 14: Skeletna formula molekule lolina (peptidni alkaloid) (Yikrazuu).	18
Slika 15: Skeletna formula molekule teofilina (Sunridin).	19
Slika 16: Skeletna formula molekule teobromina (Harbin).	19
Slika 17: Skeletna formula molekule morfina (NEUROtiker, 2007).	20
Slika 18: Skeletna formula molekule nikotina (Wikipedia, 2008).	20
Slika 19: Opijski mak ( <i>Papaver somniferum</i> L.) (Bodieko, 2012).	21
Slika 20: Skeletna formula molekule kokaina (Wikipedia, 2007).	21

Slika 21: Skeletna formula, slika krogličnega in kalotnega modela molekule piperidina (NEUROtiker, 2008).	24
Slika 22: Piperidinski alkaloidi (Ojima in Iula, 1999).	25
Slika 23: Reakcijska shema biosinteze piperidina iz L-lizina (Chopra idr., 2016).	26
Slika 24: Reakcijska shema reakcije sinteze piperina (Chopra idr., 2016).	26
Slika 25: Reakcijska shema laboratorijske sinteze piperina (Okwute idr., 2013, str. 110).	27
Slika 26: Skeletna formula molekule piperina (Gorgani idr., 2017, str. 124-125).	28
Slika 27: Geometrijski izomeri molekule piperina (Gorgani idr., 2017, str. 124-125).	28
Slika 28: Cvetna monilija na plodu slive (levo; Pitorac, 2018), poganjkah češnje (sredina; Mitja Neem'O'holich, 2016) in plodu marelice (desno; Pitorac, 2017).	36
Slika 29: Bolezen antraknoza povzročena z glivo <i>Colletotrichum acutatum</i> na plodovih ameriških borovnic (levo) in jablane (desno) (Peres idr., 2005)	38
Slika 30: Siva plesen na grozdju (levo; Burgess, 2020), plodovih jagode (sredina; Kitemann, 2019) in jablane (desno; CL Xiao, USDA-ARS, 2020).	40
Slika 31: Plodova monilija na češnjah (levo; Tom Creswell, 2018) in na plodu breskve (sredina; Jonas Janner Hamann, 2018).	41
Slika 32: Pogostost (%) v literaturi omenjenih skupin spojin v rastlinah s antimikotičnim delovanjem (podatki iz 1965 virov). Največkrat so bile s antimikotičnim delovanjem navedene spojine iz skupine fenolnih spojin (47%), terpenoidov (29%) in alkaloidov (11%) (povzeto po Boulogne idr., 2012).	45
Slika 33: Pogostost (%) v literaturi omenjenih družin rastlin s antimikotičnimi lastnostmi (predstavljene družine rastlin imajo pogostnost omembe v literaturi več kot 1 %) (povzeto po Boulogne idr., 2012).	45

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Taksonomska klasifikacija črnega poprovca (USDA, 2020)	4
Preglednica 2: Hranilna vrednost na 100 g črnega popra (USDA, 2020)	11
Preglednica 3: Posamezne fenolne skupine in spojine določene v plodovih črnega poprovca (Feng idr., 2020)	12
Preglednica 4: Pravi alkaloidi	17
Preglednica 5: Protoalkaloidi	18
Preglednica 6: Peptidni in ciklopeptidni alkaloidi	18
Preglednica 7: Psevdoalkaloidi	19
Preglednica 8: Značilnosti testov dokaznih reakcij za prisotnost alkaloidov v vzorcu	23
Preglednica 9: Fizikalne lastnosti piperidina	24
Preglednica 10: Taksonomska klasifikacija cvetne monilije (EPPO, 2020)	36
Preglednica 11: Taksonomska klasifikacija grenke sadne gnilobe ( <i>Colletotrichum acutatum</i> ) (EPPO, 2020)	38
Preglednica 12: Taksonomska klasifikacija sive plesni ( <i>Botrytis cinerea</i> ) (EPPO, 2020)	39
Preglednica 13: Taksonomska klasifikacija plodove monilije ( <i>Monilinia fructicola</i> ) (EPPO, 2020)	41



## 1 RAZISKOVALNI PROBLEM IN NAMEN TEORETIČNO-RAZISKOVALNE NALOGE

Črni poprovec (*Piper nigrum* L.) je rastlina ovijalka, ki raste v tropskem in subtropskem pasu na nadmorski višini do 600 m. Rastlina izvira iz Indije, dandanes je razširjena po večjem delu sveta, pridelujejo jo že v 26 državah. Plodove se že stoletja uporabljajo kot začimbo. Ugodno vplivajo na delovanje trebušne slinavke, uporabljajo ga za zdravljenje prehlada, nevritisa idr. Glede na način obdelave plodov ločimo zeleni, črni in beli poper. Različne vrste popra se razlikujejo po vonju, okusu in količini vsebnih snovi. Plodovi so bogat vir različnih snovi, kot so vitamini, minerali, beljakovine, vlaknine, eterična olja in sekundarni metaboliti. Med sekundarne metabolite spadajo tudi piperidinski alkaloidi, za katere je znano, da imajo različne biološke aktivnosti. Spadajo med bazične snovi, ki imajo različne fiziološke aktivnosti na ljudi in ostale organizme. Alkaloidi, ki jih že dolgo poznamo, so morfij, kofein, nikotin, kokain, kinin in strihnin. Danes je odkritih kar 12000 različnih spojin alkaloidov. Alkaloide delimo na več glavnih skupin. To so pravi alkaloidi, protoalkaloidi, poliaminski alkaloidi, peptidni in ciklopeptidni alkaloidi. Predstavniki različnih skupin se med seboj razlikujejo po zgradbi in velikosti. Alkaloidi imajo različne zdravilne lastnosti, nekateri izmed njih lajšajo bolečine, so močni anestetiki.

V plodovih črnega poprovca najdemo piperin, ki spada med piperidinske alkaloidne in se nahaja v različnih živih bitjih. Uporabljajo ga v več organskih sintezah, s katerimi pridobivajo nekatere farmacevtske izdelke. Piperin lahko pridobivajo tudi z laboratorijsko sintezo. Spada med bioojačevalce, saj zavira delovanje nekaterih encimov, omogoča boljše delovanje zdravil, deluje pa tudi insekticidno, fitotoksično in antimikotično.

V sadjarstvu se pojavlja veliko rastlinskih glivičnih boleznih, ki povzročajo škodo na rastlinah. Posledice so lahko zelo hude, saj lahko ena sama gliva povzroči propad drevesa, izpad pridelka in posledično okužbo sosednjih rastlin. Za zatiranje se največkrat uporablja sintetične fungicide, ki so za okolje škodljivi. Pri aplikaciji ti prehajajo v pitno vodo in prst, s tem pa tudi v našo hrano. Nadzor uporabe sintetičnih fungicidov ponekod ni strogo nadzorovan, zato je škoda lahko tam še večja. Skozi leta uporabe sintetičnih fungicidnih sredstev so nekatere patogene glive postale na njih tudi odporne. Vse bolj postaja zaželena uporaba naravnih pripravkov, med katere uvrščamo tudi naravne produkte, ki so pridobljeni iz rastlin. Med alternativami sintetičnim fungicidom je lahko tudi uporaba ekstraktov rastlin z antimikotičnim delovanjem. V zadnjem času se je povečalo število raziskav na temo rastlinskih ekstraktov in različnih rastlin, ki imajo potencialno antimikotične lastnosti, saj so ljudje bolj ozaveščeni o škodljivi uporabi pesticidov, vse več pa je pridelovalcev, ki so vključeni v ekološko kmetovanje, kjer uporaba sintetičnih pesticidov ni dovoljena.

Ker je znano, da ima piperin in tudi drugi alkaloidi iz skupine piperidinskih alkaloidov antimikotično delovanje, bi lahko ekstrakti rastlinskih delov črnega poprovca v prihodnosti predstavljali sredstvo za zatiranje številnih glivičnih bolezni in tako bili alternativa sintetičnim pesticidom.

Namen naloge je priprava obširnejšega pregleda relevantne literature o črnem poprovcu s poudarkom na plodovih in najpomembnejših skupinah sekundarnih metabolitov v njih. Naloga vključuje tudi pregled pomembnejših virov o potencialno antimikotičnih lastnostih rastline. V okviru teoretično-raziskovalne naloge so opisane nekatere pomembnejše in razširjene glive v Sloveniji, ki povzročajo škodo v sadjarstvu, in sicer gliva *Botrytis cinerea* Pers., povzročiteljica sive plesni, gliva *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, povzročiteljica plodove monilije, gliva *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhl.) Honey, povzročiteljica cvetne monilije, in gliva iz rodu *Colletotrichum*, povzročiteljica antraknoze oz. grenke gnilobe plodov. Predstavljene so možnosti izkoriščanja antimikotičnih lastnosti črnega poprovca pri kontroli glivičnih patogenov.

V nadaljevanju so predstavljena pomembnejša poglavja za namen teoretično-raziskovalne naloge.

## 2 ČRNI POPROVEC (*Piper nigrum* L.)

### 2.1 Opis rastline

Črni poprovec (*Piper nigrum* L.) spada v družino poprovk (*Piperaceae*) in rod poprovec, v katerem je več kot 1000 različnih vrst (Ahmad idr., 2012). Je olesenela večletna ovijalka, ki lahko v višino zraste do 9 metrov. Iz stebelnih nodijev izraščajo vitice, ki omogočajo rastlini oporo in razraščanje. Steblo je sivkaste barve in lahko doseže debelino do 1,2 cm. Listi so debeli, gladki in rahlo povoščeni, ovalne, eliptične ali pa jajčaste oblike in veliki med 13 in 25 cm. Listni rob je lahko valovit ali raven. Zgornja stran listov je temno zelena, spodnja pa svetlo zelene barve (Nelson in Cannon-Eger, 2011; Ravindran, 2000). Nasproti izraščanja listov rastlina razvije ozka podolgovata socvetja (t. i. klaski), velika od 1,6 do 2 cm, na katerih se razvijejo drobni cvetovi bele barve (Slika 1). V posameznem socvetju se razvije od 50 do 60 plodov (poprovih jagod), je pa to odvisno od števila listov, ki jih razvije rastlina (Nelson in Cannon-Eger, 2011). Mlada rastlina ima poganjke belkasto zelene ali svetlo vijolične barve. Starejša stebela rastline se odebelijo in postanejo hrapava, zelene, svetlo rumene ali vijolične barve (Ravindran, 2000).

Črni poprovec, ki raste v divjini, je dvodomna rastlina, kar pomeni, da se pojavljajo ženske in moške rastline. Nove sorte, ki se uporabljajo v pridelavi, pa so večinoma enodomne. Gojeni črni poprovec je samooprašna rastlina, kjer pride do oprasitve s pomočjo dežja (Ravindran, 2000).



Slika 1: Listi s socvetji (levo), cvetovi (sredina) in nedozoreli plodovi (desno) črnega poprovca (National Parks Board, 2013)

Preglednica 1: Taksonomska klasifikacija črnega poprovca (USDA, 2020)

Sistemska kategorija	Znanstveno ime
Kraljestvo	Plantae (rastline)
Deblo	Magnoliophyta (semenke)
Razred	Mangoliopsida (dvokaličnice)
Red	Piperales (poprovci)
Družina	Piperaceae (poprovke)
Rod	<i>Piper</i> (poprovec)
Vrsta	<i>Piper nigrum</i> L.(črni poprovec)

## 2.2 Zgodovina

Zgodovino popra bi lahko opisali kot zgodovino trgovine z začimbami, saj je predstavljal 35 % vseh začimb, s katerimi so trgovali. Skozi zgodovino so ga ljudje imeli za prestižno začimbo in še danes nosi naziv »kralj začimb«. Poper izvira iz hribov zahodne Indije, kjer so ga gojili v predelih Kerala, delih Karnatake, Tamil Nadu in Goa, kasneje pa se je razširil po celem svetu. Središče izvora so vlažni tropski gozdovi, ki mejijo na obalo Malabar. To je del zahodnih Gatov, ki veljajo za eno od bolj biotsko raznovrstnih področij rastlin na Zemlji. Na območju Malabarske obale so se že zelo zgodaj ukvarjali z gojenjem in trgovanjem popra. Od tam so poper nato prevažali v Indonezijo, Malezijo in kasneje tudi v druge države (Ravindran, 2006).

Črni poper je v letih 372–287 pr. n. št. prepoznal starogrški filozof in utemeljitelj botanike Teofrast, uporabljali so ga že stari Grki v letu 440 pred našim štetjem, kjer ga je v svojih zapisih omenjal grški antični zdravnik Hipokrat. Poper je bil tako dragocen, da so ga v času rimskega imperija uporabljali kot plačilno sredstvo za blagovno menjavo. Leta 1280 je Marco Polo odšel na Javo, kjer je poper opisal v svoji knjigi »Description of the World«. Kasneje se je črni poper razširil po celotni Evropi, saj so ga uporabljali kot zelišče in v medicini. Od srednjega veka naprej je bil poper osrednja surovina evropske trgovine z začimbami (Charles, 2013).

## 2.3 Pridelava po svetu

Črni poper je trgovsko najbolj razširjena začimba na svetu, predstavlja približno 20 % celotnega uvoza začimb. Trenutno poper pridelujejo v šestindvajsetih državah po svetu (Ravindran, 2006). Okoli leta 1970 so bile glavne proizvajalke Indija, Indonezija, Brazilija, Šrilanka, Malezija in Afrika. Do leta 1980 je prišlo do manjših sprememb v količini proizvedenega popra med državami.

Najbolj drastičen padec proizvodnje črnega popra je bil v Maleziji, največji porast pa sta doživeli Brazilija in Indonezija (Ravindran, 2006). Sedaj ga največ gojijo v tropskih državah.

V letu 2018 je bila svetovna proizvodnja črnega popra ocenjena na 752.000 ton, svetovni uvoz 414.000 ton ter izvoz 392.000 ton, pri vseh pa se kaže naraščajoč trend. Prav tako je bilo v letu 2018 v svetu 590.000 hektarov površin za pridelavo črnega popra (od tega največ v Indoneziji, Indiji in Vietnamu), s skupnim povprečnim pridelkom 1.3 ton/hektar (FAO, 2018).

Vietnam velja za največjega svetovnega pridelovalca popra z 273.000 tonami v letu 2018, kar je predstavljalo cca. 36 % svetovne proizvodnje popra. Po pridelavi mu sledijo Brazilija (101.274 ton), Indonezija (88.715 ton), Indija (67.472 ton), Šrilanka (48.253 ton), Kitajska (36.125 ton), Malezija (30.457 ton) in Mehika (9.141 ton). Največja uvoznica črnega popra je ZDA (74.923 ton), sledijo ji Vietnam (35.416 ton), Nemčija (30.765 ton) in Indija (26.009 ton). Največji izvozniki črnega popra so Vietnam (160.375 ton), Brazilija (72.580 ton), Indonezija (47.614 ton) in Indija (16.726 ton). Največ popra porabijo v Vietnamu, Indiji in ZDA (41 % celotne porabe) (FAO, 2018).

## 2.4 Tehnologija pridelave

Črni poprovec najbolje uspeva v vlažnem in vročem podnebju, kjer se temperature gibljejo med 22 °C do 30 °C, vendar pa temperatura ne sme pasti pod 10 °C. Uspeva v tropskem in v subtropskem pasu z nadmorsko višino do približno 600 m. Rastlina potrebuje enakomerno porazdeljeno letno količino padavin in najbolje uspeva na ravnih ali položnih pobočjih (Nelson in Cannon-Eger, 2011).

V divjini lahko črni poprovec zraste v dolžino 10 m ali več, zato je za pridelavo potrebno zagotoviti oporo. To so lahko lesena debela ali betonski stebri, visoki okrog 4 m, okoli katerih se ovija rastlina in jih je potrebno postaviti pred sajenjem rastlin (Slika 2). Priporočena razdalja med stebri (rastlinami) je 2,5 m × 2,0 m, kar pomeni populacijo 2000 rastlin na hektar. Z občasnim obrezovanjem spodbudimo stransko razraščanje rastlin in zgoščevanje krošnje, rastline pa držimo v višini njihovih opornih stebrov (Nelson in Cannon-Eger, 2011).

Za svojo rast ima najraje globoka, zračna, dobro odcedna tla, bogata s humusom in rahlo kislim pH-jem (5,5–6,0). Zaradi potrebe po veliki količini vode črni poprovec cveti v najbolj deževnem delu leta (Nelson in Cannon-Eger, 2011; Salehi idr., 2019).

Pridelava popra se začne s sajenjem rastline črnega popra. V tem času je potrebno poskrbeti za zadostno vlago. Črni poprovec se lahko razmnožuje s semeni, s stebelnimi potaknjenci ali s cepljenem.

Razmnoževanje večinoma poteka s stebelnimi potaknjenci, izbranimi iz zgornjih delov mlade, močne, visoko rodne in zdrave rastline (Nelson in Cannon-Eger, 2011).

Tretje leto po sajenju rastlina obrodi prvi manjši pridelek. Polno rodnost rastline dosežejo v 7 do 8 letih po sajenju. Rastlina v intenzivni pridelavi lahko doseže starost tudi do 20 let. Plodove črnega poprovca lahko pobiramo celo leto. Plodovi (jagode) dozoriijo v obdobju 2 do 6 mesecev, odvisno od podnebja, kjer ga pridelujejo. Obiranje zrelih jagod izvajajo na vsakih 7 do 14 dni. Po svetu poznajo več kot 40 različnih sort črnega poprovca, ki se med seboj razlikujejo po velikosti listov, dolžini socvetij, lastnostih plodov - jagod (velikost, barva, itd.), odpornosti na škodljivce in bolezni, parametre kakovosti in rodnosti. Sorte se razlikujejo tudi glede na uspevanje v različnih podnebjih, kjer nekatere vrste bolje uspevajo v vlažnih, druge pa v bolj suhih podnebjih (Nelson in Cannon-Eger, 2011).



Slika 2: Nasad črnega poprovca (Diana Duff, 2016)

Med samim gojenjem lahko črni poprovec napadejo različne bolezni in škodljivci, ki vplivajo na količino pridelka in kakovost. Med povzročitelje bolezni črnega poprovca uvrščamo baterije, glive, ogorčice (nematode) in viruse. Abiotski dejavniki, ki omejujejo pridelavo, so svetloba, pomanjkanje hranil in temperatura.

Bolezni, ki jih povzročajo bakterije, glive in/ali virusi, vplivajo na vse dele rastline. Bakterije in glive povzročajo bolezni listov in plodov, venenje ter odmiranje rastlin (Hammouti, 2019). Pogosta bolezen je gniloba korenin in stebela, ki jo povzroča gliva *Phytophthora capsici* (Slika 3).



Potek bolezni je odvisen od tega, kateri del rastline je okužen, če je prizadeto steblo, začne rastlina veneti in propade v nekaj dneh (Slika 3). V primeru okužbe korenin pa je propad rastline počasnejši (Nelson in Cannon-Eger, 2011).



Slika 3: Okužba z glivo *Phytophthora capsici* (Thomas in Naik, 2017)

Antraknoza je prav tako pogosta glivična bolezen nasadov črnega poprovca, ki jo povzroča gliva *Colletotrichum gloeosporoides*. Gliva napada mlado listje, klasje in jagode. Na listih so vidne majhne ali večje rjave lise z rumenim robom (Slika 4). Pokanje jagod lahko povzroči sekundarne okužbe z drugimi glivami, s čimer se zmanjša kakovost in količina pridelka (Anandaraj in Sarma, 1995).



Slika 4: Antraknoza na listu črnega poprovca (TNAU Agritech portal, 2016)

Simptomi virusnih okužb so predvsem zaostajanje v rasti, pegavosti oziroma razbarvanja listov in plodov ter majhni in deformirani plodovi. Vplivi abiotičnih dejavnikov, predvsem premočnega sončnega sevanja, se kažejo kot sončni ožigi plodov in listov (Hammouti idr., 2019). Črni poprovec lahko napadajo tudi različni škodljivci. Med njimi so razni hrošči (*Longitarsus nigripennis*), večje (*Cydia hemidoxa* Meyr), tripsi (*Liothrips karnyi* Bagnall) in druge žuželke (Satyagopal idr., 2014). Ličinke hrošča *Longitarsus nigripennis* zajedajo plodove, stebila in korenine rastline (Slika 5). Hrošč je prisoten predvsem v nasadih, ki so na ravnini ali nižji nadmorski višini. Napadeni poganjki počrni in propadejo, poškodovane jagode pa porumenijo, nato počrni in kasneje odpadejo (Satyagopal idr., 2014).



Slika 5: Hrošč *Longitarsus nigripennis*, ki objeda plodove (levo) in poganjke (desno) črnega poprovca (Satyagopal idr., 2014)

Za preprečevanje okužb in širjenja bolezni uporabljajo tehnike sterilizacije opreme in sadilnega materiala ter uporabo zdravih in kakovostnih semen in ostalega materiala. Hudo obolele rastline izkoreninijo in sežgejo. Za zatiranje bolezni in škodljivcev uporabljajo pesticide in druge pripravke. Uporaba pesticidov predstavlja velik problem tudi v nasadih poprovca, saj ti kar nekaj časa ostanejo na rastlini in so škodljivi za okolje in zdravje ljudi (Hammouti, idr., 2019).

## 2.5 Obdelava plodov

Glede na način obdelave plodov črnega poprovca ločimo beli, črni in zeleni poper (Slika 6). Črni poper so nezreli plodovi črnega poprovca, ki svojo značilno črno barvo pridobijo s sušenjem. Zeleni poper prav tako pridobivajo iz nezrelih zelenih plodov, ki jih posušijo ali konzervirajo v kisu ali slanici, citrinski kislini, da plodovi ohranijo zeleno barvo (Nelson in Cannon-Eger, 2011). Beli poper pa pridobijo tako, da iz zrelih plodov črnega poprovca odstranijo eksokarp (meso) in jih posušijo. Črni, zeleni in beli poper nase veže vlago, zato je velika možnost za okužbe z glivičnimi boleznimi.



Za uspešno skladiščenje vlaga v plodovih ne sme presegati 10 do 11 %. Plodove pakirajo v vreče iz žaklovine, prevlečene s polietilensko oblogo (Hanif idr., 2020).



Slika 6: Črni poper (levo), beli poper (sredina) in zeleni poper (desno) (Kew Science, 2017)

Za pridelavo črnega popra se obiranje začne v decembru ali januarju, ko zelene jagode postajajo rumeno obarvane. Pred začetkom obdelave plodove očistijo s pomočjo blanširanja (potopijo jih za kratek čas v vrelo vodo za minuto in pol) (Hanif idr., 2020). To ima učinek površinskega razkuževanja, povzroči pa tudi začetek fermentacije (Nelson in Cannon-Eger 2011). Kasneje vlago (ta ne sme presegati 70 %) odstranijo s sušenjem oziroma razpihovanjem (Hanif idr., 2020). Zaradi vrele vode pride do oksidacije fenolnih spojin, kar vpliva na spremembo barve in okusa. Spremembo v barvi lupine povzročijo encimi (Hammouti idr., 2011). Po obdelavi plodove posušijo na soncu, dokler vlaga v plodovih ne pade na 12 %. Plodove nato pregledajo in izločijo tiste, ki so okuženi s plesnijo (Nelson in Cannon-Eger, 2011).

Beli poper pridobijo iz zrelih (rdečih) plodov, ko ti dosežejo 75 % rdečkasto oranžne barve. Zrele plodove dajo za 8 do 14 dni v tekočo vodo, da se jim zmehča eksokarp (zunanja lupina) in se plod lažje olupí. Olupke odstranijo z rokami ali pa teptanjem. Nato jih sušijo na soncu do belo-bež barve in vlage 12 %.

Črni, beli in zeleni poper se med seboj razlikujejo v več fizikalnih in kemijskih lastnostih. Črni poper mora imeti oster in prodoren vonj, okus pa mora biti oster. Črni poper ima med vsemi plodovi najmočnejši okus (International Food Standards, 2017). Sveže zmlatega se uporablja skoraj v vseh jedeh in je poleg soli najpogostejša začimba. Njegov okus se rahlo razlikuje po državah, iz katerih prihaja npr. indonezijski ima bolj »citrusni« priokus.

Bel poper je po okusu milejši od črnega, tudi vonj je blag, saj se z odstranitvijo lupine odstrani tudi material, ki vsebuje znaten delež piperina. Ima pa močno aromo.

Okus belega popra je lahek, zemeljski in preprost (Doctor NDTV, 2018). Beli poper večinoma uporabljajo za vizualno privlačnost pri jedeh. Zasledimo ga lahko v francoski, kitajski, švedski in vietnamski kuhinji. Pri uporabi belega popra v jedeh moramo biti bolj pozorni, saj ima bolj specifičen okus in aromo, saj je dalj časa zorel in fermentiral. Iz odpadne lupine pridobivajo poprovo olje (Nelson in Cannon-Eger, 2011; Hanif idr., 2020).

Zeleni poper ima prav tako bolj nežen okus kot črni poper. Ker je bil obran, preden je dozorel, ima bolj sadno aromo, svoj močnejši okus razvije šele kasneje, za razliko od črnega popra, ki ima že takoj po zaužitju svoj značilni intenzivni okus.

Črni in beli poper se razlikujeta tudi po velikosti in kemijski sestavi. Premer črnega popra je 2,5 do 7,0 mm, belega in zelenega pa od 2,0 do 6,0 mm. Črni poper je okrogle oblike in ima nagubano lupino. Beli poper je prav tako okrogle oblike, vendar ima gladko površino, rahlo sploščeno na enem polu in manjšo izboklino na drugem (International Food Standards, 2017). Črni poper je od rjavkaste do temno rjavkaste ali črne barve. Barva belega popra je lahko mat siva, rjava do blede slonokoščeno bele barve (International Food Standards, 2017).

## **2.6 Vsebnost snovi**

### **2.6.1 SPLOŠNO**

Sestavo plodov črnega poprovca lahko v splošnem razdelimo v dve skupini, in sicer iz spojnin, ki prispevajo k ostrini, ter iz spojnin, ki dajejo značilno aromo. K značilni aromi črnega popra prispevajo predvsem eterična olja v plodovih, medtem ko je ostrina posledica prisotnosti alkaloida piperina (Ravindran, 2006).

Plodovi vsebujejo veliko mineralov (magnezij, železo, kalij, fosfor) in vitaminov (K, A, folna kislina). V plodovih so tudi beljakovine, škrob, vlaknine in eterična olja (Hanif idr., 2020; Charles, 2013). Največ eteričnega olja vsebuje črni poper (2 %), sledi mu beli poper (1,5 %), najmanj pa ga vsebuje zeleni poper (1 %). Največ piperina vsebujeta beli poper in črni poper (3 - 8 %), najmanj pa ga vsebuje zeleni poper (Codex Alimentarius, 2017; Ahmad idr., 2015; Schultz idr., 2005).

Zeleni poper vsebuje največ antioksidantov, sledi mu črni poper, najmanj antioksidantov pa vsebuje beli poper (Superfoodly, 2018). Vsebnost vitamina C na 100 g zelenega popra je 60 mg, medtem ko ga enaka količina črnega popra vsebuje približno 3-krat manj (21 mg vitamina C/100g). Analiza hranilne vrednosti črnega popra kaže prisotnost številnih vitaminov, mineralov, elektrolitov in prehranskih vlaknin (Suliman, 2016). Hranilna vrednost na 100 g črnega popra je prikazana v Preglednici 2.

Preglednica 2: Hranilna vrednost na 100 g črnega popra (USDA, 2020)

<b>SNOV</b>	<b>HRANILNA VREDNOST</b>	<b>% PDV</b>
energija	255 kcal	13
beljakovine	10,6 g	19,5
maščobe	3,7 g	11
ogljikovi hidrati	64,8 g	49
vlaknine	26,5 g	69
vitamin A	299 IU	10
vitamin C	21 mg	35
vitamin E	4,6 mg	30
vitamin K	163,7 µg	136
folna kislina	10 µg	2,5
vitamin B6	0,3 mg	26
tiamin	0,1 mg	9
riboflavin	0,2 mg	18
niacin	1,1 mg	7
železo	28,9 mg	360
magnezij	194 mg	48,5
kalcij	437 mg	44
fosfor	173 mg	25
kalij	1259 mg	27
natrij	44 mg	3
cink	1,42 mg	13
baker	1,1 mg	122
mangan	5,6 mg	244,5
holin	11,3 mg	2
karoten-beta	156 µg	--
karoten-alfa	0 µg	--
beta kriptoksantin	48 µg	--
lutein+zeaksantin	205 µg	--
likopen	6 µg	--

% PDV – Priporočen dnevni vnos

## 2.6.2 SEKUNDARNI RASTLINSKI METABOLITI

Plodovi črnega poprovca vsebujejo tudi sekundarne metabolite. Med sekundarne metabolite štejemo fenolne spojine, terpenoide (pigmenti) in dušik vsebujoče snovi - alkaloide (najbolj zastopan je piperin). Te snovi niso neposredno vključene v metabolne procese, rastlina jih potrebuje kot zaščito pred škodljivci, za odvrčanje herbivorov, za privabljanje oprasovalcev ipd. Veliko teh snovi je zelo strupenih, na ta način pomagajo rastlinam in mikroorganizmom preživeti v okolju (Charles, 2013). Na vsebnost sekundarnih metabolitov v rastlini vplivajo predvsem okoljski dejavniki (Hammouti idr., 2019). V rastlinskem svetu so fenolne spojine najbolj razširjena skupina sekundarnih metabolitov. Seznam fenolnih spojin, določenih v plodovih črnega popra, je prikazan v Preglednici 3.

Preglednica 3: Posamezne fenolne skupine in spojine določene v plodovih črnega poprovca (Feng idr., 2020)

Fenolna skupina	Določene snovi
<b>1. Fenolne kisline</b>	
1.1. Hidroksicimetne kisline	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 3-sinapoilkininska kislina</li> <li>- derivati klorogenske kisline</li> <li>- p-kumaroil jabolčna kislina</li> <li>- 3,4-O-dimetilgalna kislina</li> <li>- derivati kavne kisline</li> <li>- p-kumaroil tirozin</li> <li>- p-kumaroil tartarna kislina</li> </ul>
1.2. Hidroksibenzojske kisline	<ul style="list-style-type: none"> <li>- protokatehulna kislina</li> <li>- 4-O-metilgalna kislina</li> <li>- p-hidroksibenzojska kislina</li> </ul>
<b>2. Flavonoidi</b>	
2.1. Flavonoli	<ul style="list-style-type: none"> <li>- kempferol 3-O-glukozil-ramnozid-galaktozid</li> <li>- kempferol-3-O-glukozid</li> <li>- miricetin-3-O-ramnozid</li> <li>- kempferol-3-O-(2''-ramnozid-galaktozid)-7-O-ramnozid</li> <li>- izoramnetin-3-O-glukozid-7-O-ramnozid</li> </ul>
2.2. Antocianini	<ul style="list-style-type: none"> <li>- delphinidin 3-O-glukozil-glucozid</li> <li>- cianidin 3,5-O-diglukozid</li> <li>- peonidin 3-O-sambubiozid-5-O-glukozid</li> <li>- cianidin 3-O-rutinozid</li> <li>- pelargonidin 3-O-sambubiozid</li> <li>- peonidin 3-O-rutinozid</li> </ul>

	- pelargonidin 3-O-rutinozid
2.3. Flavoni	- diosmin - derivati apigenina (apigenin 6-C-glukozid, apigenin 6,8-di-C-glukozid)
2.4. Flavanoni	- derivati naringenina (6-GeraniLnaringenin) - hesperidin
2.5. Flavanoli	- derivati epikatehina (3'-O-metil(-)-epikatehin7-O-glukuronid)
<b>3. Naftokinoni</b>	- Juglon
<b>4. Fenolni terpeni</b>	- Timol
<b>5. Lignani</b>	- arktigenin - šisandrin - šisanhenol - ciklolaricirezinol - matairezinol - dimetilmatairezinol - šisandrin B

---

## 2.7 Uporabna vrednost plodov

Črni poper je ena najbolj vsestranskih začimb, ki se zaradi izrazite arome in ostrine uporablja v vsaki kuhinji. Za stare Egipčane je služil kot sestavina v balzamirani mešanici, stari Ariji pa so ga uporabljali kot dragoceno drogo. Različni deli rastline se predvsem zaradi visoke vsebnosti sekundarnih metabolitov uporabljajo kot zdravila, konzervansi in kot naravna sredstva s širokim spektrom uporabe (Ahmad idr., 2015).

Piperin ima izrazito antioksidativno delovanje. Antioksidanti preprečujejo ali popravljajo škodo, ki jo povzročijo prosti radikali, in s tem pomagajo pri srčno-žilnih boleznih in sladkorni bolezni ter težavah z jetri. Izsledki različnih raziskav kažejo, da zaradi visoke vsebnosti sekundarnih metabolitov črni poper deluje ugodno na prebavila, saj povzroči, da se v želodcu sprosti več klorovodikove kisline, ki pomaga pri presnovi proteinov. Pozitivno vpliva in vzpodbuja delovanje trebušne slinavke, prebavnih encimov ter na kognitivne sposobnosti ljudi (Verma, 2019). Črni poper in njihove ekstrakte uporabljajo tudi za zdravljenje vročine, bolezni žrela, prehlada, nevritisa in bolečin v mišicah. Plodovi črnega poprovca imajo veliko zdravilno vrednost.

Izsledki različnih raziskav kažejo, da zaradi visoke vsebnosti sekundarnih metabolitov črni poper deluje antiapoptotično (Pathak in Khandlewal, 2007), antibakterijsko (Chaudhry in Tariq, 2003), antidepresivno (Li idr., 2007), antimikotično (Umit idr., 2009), protivnetno (Singh in Duggal, 2009), antispazmolitično (Kumar idr., 2007), antitumorno (Sunila in Kuttan, 2004), alelopatsko (Siddiqui, 2007), antioksidativno (Pathak in Khandlewal, 2007).

Črni poper ima tudi fungicidno ter insekticidno delovanje in se ga zato uporablja pri varstvu rastlin pred boleznimi in škodljivci (Scott idr., 2008). Na insekte vplivajo predvsem fenolne spojine in eterična olja, ki so sestavni del črnega popra (Ravindran, 2006), na glive pa fenolne spojine in piperin ter ostali alkaloidi.

### 3 ALKALOIDI

#### 3.1 Zgodovina alkaloidov

Rastline, ki vsebujejo alkaloidne, ljudje v terapevtske namene uporabljajo že od antičnih časov. Zdravilne rastline so bile v Mezopotamiji znane že okrog leta 2000 pr. n. št. Homer je že v svoji Odiseji opisal darilo, ki mu ga je podarila egipčanska kraljica, mamilo, ki prinaša pozabo. Podarjeno zdravilo je po vsej verjetnosti vsebovalo opij. V kitajski knjigi o domači uporabi rastlin, napisani med 1. in 3. stoletjem pr. n. št., je bila omenjena medicinska uporaba efedre (*Ephedra sinica*), ki je rastlinski vir alkaloida efedrina in opijskega maka (*Papaver somniferum* L.), ki je rastlinski izvor morfina. Južnoameriški Indijanci so že od nekdaj uporabljali liste koke (*Erythroxylum coca* L.) (Slika 7) za poživitev. Ekstrakti iz rastlin, ki vsebujejo strupene alkaloidne, kot sta akonitin in tubokurarin, so se uporabljali od antike za zastrupljanje puščic (Aniszewski, 2007; Hesse, 2002).



Slika 7: Koka (*Erythroxylum coca* L.) (Franz Eugen Köhler)

Pravo raziskovanje alkaloidov se je s sodobnejšimi tehnikami intenzivneje začelo v 19. stoletju. Leta 1804 je nemški farmacevt Friedrich Sertürner (1783-1841) (Slika 8) iz opija izoliral t. i. »soporifčno načelo« (lat. *principium somniferum*), ki ga je kasneje imenoval morfij<sup>1</sup>, ime se nanaša na Morfeja, grškega boga sanj (Hesse, 2002; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

---

<sup>1</sup> Morfij (tudi morfín) je glavni alkaloid v opiju in spada med opiate. V medicini velja za enega najmočnejših analgetikov med naravnimi snovmi. Gre za prvi alkaloid, ki so ga iz posušenega mlečka nezrelh glavic vrtnega maka izolirali v čisti obliki ter je predstavljal začetek nove znanstvene discipline - farmakologije.



Slika 8: Friedrich Sertürner (1783-1841) (Julius Giere)

Pomemben prispevek sta h kemiji alkaloidov v prvih letih razvoja te specifične veje kemije naravnih spojin prispevala francoska raziskovalca Pierre Joseph Pelletier (1788-1842) in Joseph Bienaimé Caventou (1795-1877), ki sta odkrila alkaloida kinin (1820) in strihnin (1818). V tem času so tudi drugi pomembni znanstveniki tega področja odkrili še več alkaloidov, med drugim ksentin (1817), atropin (1819), kofein (1820), konin (1827), nikotin (1828), kolhicin (1833), spartein (1851) in kokain (1860) (Hesse, 2002; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

Prvo popolno sintezo alkaloida konina je leta 1886 izvedel nemški kemik Albert Ladenburg (1842-1911). Alkaloid konin je sintetiziral z reakcijo 2-metilpiridina in acetaldehida. Razvoj kemije alkaloidov se je pospešil s pojavom spektroskopskih in kromatografskih metod v 20. stoletju, tako da je bilo do leta 2008 odkritih že več kot 12.000 različnih spojin alkaloidov (Hesse, 2002).

### 3.2 Izvor imena alkaloidi in njihovo poimenovanje

Ime »alkaloidi« (nem. Alkaloide) je leta 1819 uvedel nemški kemik Carl Friedrich Wilhelm Meißner (1792-1853), izhaja iz latinskega korena *alkali* (arab. *al-qalwī*, kar pomeni »pepel rastlin«) in končnice (*οειδης*, kar pomeni »podobno«). Izraz je v široko uporabo prišel šele po objavi preglednega članka v kemijskem slovarju Alberta Ladenburga (1842-1911) leta 1880 (Hesse, 2002).

Za poimenovanje alkaloidov ni natančnih in strogo predpisanih pravil. Veliko posameznih imen se oblikuje tako, da se vrsti ali imenu rodu rastline, iz katere je alkaloid mogoče izolirati, doda končnico »in«. Na primer atropin je izoliran iz rastline volčja češnja (lat. *Atropa belladonna* L.); strihnin se pridobiva iz semena strihninskega drevesa (lat. *Strychnos nux-vomica* L.).



Kadar se iz ene rastline pridobi več alkaloidov, se njihova imena pogosto razlikujejo po majhnih variacijah: "idin", "anin", "alin", "inin" ipd. (Wayback machine, 2012).

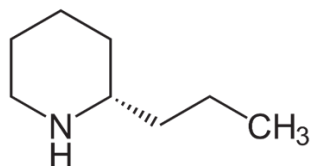
### 3.3 Delitev alkaloidov

Alkaloidi so velika in heterogena skupina organskih spojin. Obstaja več različnih delitev alkaloidov, od katerih je delitev na glavne skupine med pomembnejšimi. Med glavnimi skupinami omenjamo:

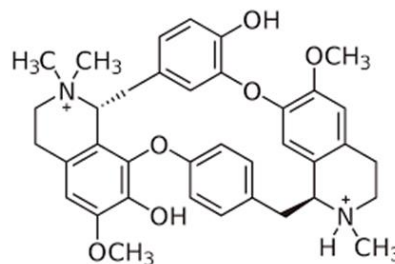
- (1) prave alkaloide,
- (2) protoalkaloide,
- (3) poliaminske alkaloide,
- (4) peptidne in ciklopeptidne alkaloide ter
- (5) psevdoalkaloide.

Pravi alkaloidi vsebujejo atom dušika v heterociklu in izvirajo iz aminokislin. Njihovi značilni predstavniki so atropin, nikotin, morfij ipd. V to skupino spadajo tudi nekateri alkaloidi, ki poleg dušikovega heterocikla vsebujejo terpen, (npr. evonin) ali fragmente peptidov (npr. ergotamin). Pravi alkaloidi so najboljšežnejša skupina alkaloidov. V Preglednici 4 sta dva predstavnika skupine pravih alkaloidov (Aniszewski, 2007; Hesse, 2002; Plemenkov, 2001; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

Preglednica 4: Pravi alkaloidi



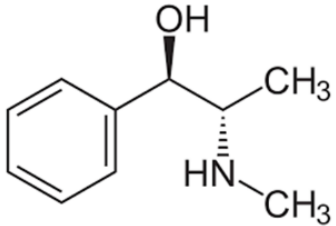
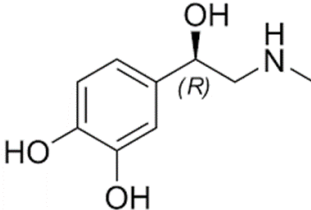
Slika 9: Skeletna formula molekule koniina  
(NEUROtiker, 2007)



Slika 10: Skeletna formula molekule tubokurarina  
(Calvero)

(2) Protoalkaloidi so alkaloidi, ki v svoji strukturi molekule sicer vsebujejo atom dušika, ne pa tudi dušikovega heterocikla. Tudi vsi protoalkaloidi izvirajo iz aminokislin. So enostavni amini, bazičnega značaja. Najbolj znani predstavniki protoalkaloidov so meskalin, adrenalin, efedrin ipd. (Plemenkov, 2001). V Preglednici 5 sta dva predstavnika skupine protoalkaloidov.

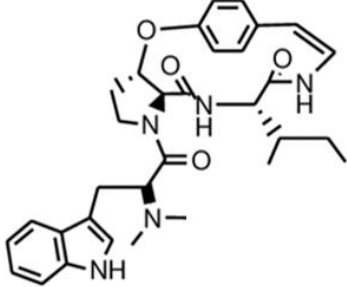
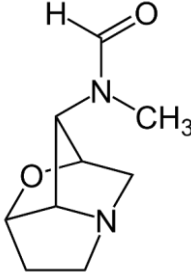
Preglednica 5: Protoalkaloidi

 <p>Slika 11: Skeletna formula molekule efedrina (NEUROtiker, 2008)</p>	 <p>Slika 12: Skeletna formula molekule adrenalina (Wikipedia, 2007)</p>
--	--

(3) Poliaminski alkaloidi so derivati putrescina, spermidina in spermina. Med njimi lahko omenjamo dva redka predstavnika: psevdokeratidin ter karakasanamid (Shoji, 2015).

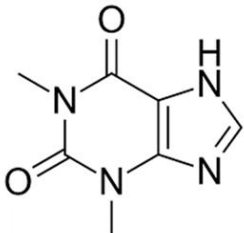
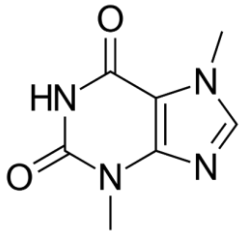
(4) Peptidni in ciklopeptidni alkaloidi. Peptidni alkaloidi so alkaloidi rastlinskega izvora, ki vsebujejo vsaj dve amidni skupini. Ciklopeptidni alkaloidi so makrociklične spojine, katerih obročni sistem je sestavljen iz hidrosistirikilaminskega dela aminokislina in  $\beta$ -hidroksi aminokislina. V Preglednici 6 sta dva predstavnika skupine peptidnih in ciklopeptidnih alkaloidov (Tuenter, 2016; Warnhoff, 1970).

Preglednica 6: Peptidni in ciklopeptidni alkaloidi

 <p>Slika 13: Skeletna formula molekule hemisina-A (ciklopeptidni alkaloid)</p>	 <p>Slika 14: Skeletna formula molekule lolina (peptidni alkaloid) (Yikrazuu)</p>
--	--

(5) Pseudoalkaloidi so alkaloidom podobne spojine, ki ne izvirajo iz aminokislina. V to skupino spadajo terpeni in steroidi podobni alkaloidi, pa tudi purini podobni alkaloidi, kot so kofein, teobromin, teakrin in teofilin. Nekateri avtorji med pseudoalkaloide uvrščajo tudi spojine, kot sta efedrin in katinon. Spojini namreč izvirata iz aminokislina fenilalanina, dušikovega atoma pa ne pridobita iz primarne aminokislina temveč s transaminacijo. V Preglednici 7 sta dva predstavnika skupine pseudoalkaloidov (Aniszewski, 2007; Plemenkov, 2001).

Preglednica 7: Psevdoalkaloidi

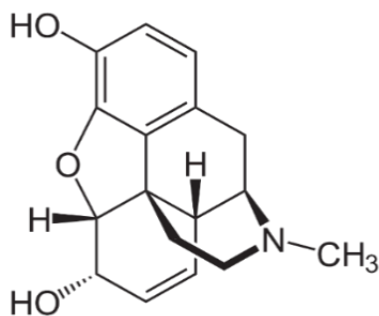
 <p>Slika 15: Skeletna formula molekule teofilina (Sunridin)</p>	 <p>Slika 16: Skeletna formula molekule teobromina (Harbin)</p>
---	--

### 3.4 Učinki in uporabne vrednosti alkaloidov

Alkaloide lahko opredelimo tudi kot dušikove organske spojine naravnega izvora, ki imajo raznolike fiziološke učinke na ljudi in ostale organizme. Nahajajo se predvsem v rastlinah in so še posebej pogosti v nekaterih družinah cvetočih rastlin. Približno ena četrtnina višjih rastlin naj bi vsebovala alkaloidne, od katerih je bilo ugotovljenih več tisoč različnih spojin alkaloidov. Na splošno določena vrsta vsebuje le nekaj vrst alkaloidov, čeprav tako opijev mak (*Papaver somniferum* L.) kot glivica rogoznica (*Claviceps*) vsebujeta približno 30 različnih spojin alkaloidov. Nekatero rastlinsko družino, na primer vse rastline iz družine maka (*Papaveraceae*), so z alkaloidi še posebej bogate.

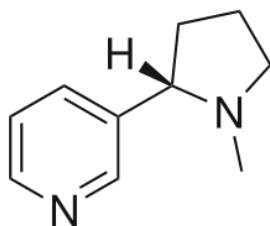
Druge družine rastlin, ki vsebujejo alkaloidne, so *Ranunculaceae* (zlatice), *Solanaceae* (razhudnikovke) in *Amaryllidaceae* (amarilisi). Alkaloide proizvajajo tudi nekatere živalske vrste, kot na primer bober (*Castor canadensis* L.) in žabe s strupenimi puščicami (*Phyllobates*). Alkaloide proizvaja gliva ergot in tudi nekaj drugih gliv (Encyclopaedia Britannica, 2020; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

Najbolj znana alkaloida sta morfin in nikotin. Morfin (Slika 17) je opiat, ki so ga izolirali iz vrtnega maka in je proizveden sintetično. Morfin se uporablja kot analgetik, saj se veže in aktivira specifične opiatne receptorje, izmed katerih vsak nadzira različne možganske funkcije. Uživanje tega opiata lahko hitro vodi v odvisnost (Encyclopaedia Britannica, 2020).



Slika 17: Skeletna formula molekule morfina (NEUROtiker, 2007)

Nikotin (Slika 18) je rastlinski alkaloid, ki se nahaja v tobaku. Nikotin je glavna sestavina cigaret, poleg tega pa je stimulant centralnega živčnega sistema, ki vodi v zasvojenost. Nikotin, pridobljen iz tobačne rastline (*Nicotiana tabacum* L.), je glavni alkaloid in glavni razlog za zasvojenost s tobakom, ki se ga kadi v cigareтах, cigarah in pipah (National Library of Medicine, 2020).



Slika 18: Skeletna formula molekule nikotina (Wikipedia, 2008)

Nekateri alkaloidi so prepovedana droga in strup. Sem spadata halucinogena zdravila meskalin (iz vrst *Lophophora*) in psilocibin (iz gobe gologlavke *Psilocybe mexicana* L.). Sintetični derivati alkaloidov morfija in lizergična kislina (iz škrlatnordeče glavnice *Claviceps purpurea* L.) tvorijo heroin, znan pod kratico LSD. Alkaloid koniin je aktivna sestavina strupene kuge (iz pikastega mišjaka *Conium maculatum* L.). Strihnin (iz vrst *Strychnos*) je še en močan strup, ki deluje na centralno živčevje (Encyclopaedia Britannica, 2020).

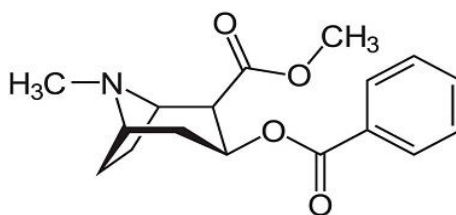
Zdravilne lastnosti alkaloidov so precej raznolike. Morfij je močan narkotik, ki se uporablja za lajšanje bolečin. Kodein, metil etrski derivat morfina, ki ga najdemo v opijevem maku (Slika 19), je odličen analgetik.



Slika 19: Opijski mak (*Papaver somniferum* L.) (Bodieko, 2012)

Nekateri alkaloidi delujejo kot spodbujevalci srca ali dihanja. Kinidin, ki ga dobimo iz rastlin iz rodu *Cinchona*, se uporablja za zdravljenje aritmij ali nepravilnih ritmov srčnega utripa. Številni alkaloidi vplivajo na dihanje, vendar na zapleten način, tako da po stimulaciji lahko sledi huda depresija dihanja. Zdravilo lobeline (iz indijanskega tobaka *Lobelia inflata* L.) je v tem pogledu varnejše in zato klinično koristno. Ergonovin (iz glive *Claviceps purpurea* L.) in efedrin (iz vrste *Ephedra sinica*) delujeta kot omejevalnik krvnih žil. Ergonovin se uporablja za zmanjšanje krvavitve v maternici po porodu, efedrin pa za lajšanje nelagodja pri prehladu, sinusitisu, senenem nahodu in bronhialni astmi (Encyclopaedia Britannica, 2020; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

Mnogi alkaloidi imajo lokalne anestetične lastnosti, čeprav se klinično redko uporabljajo v ta namen. Kokain (Slika 20) iz koke (*Erythroxylum coca* L.) je zelo močan lokalni anestetik.



Slika 20: Skeletna formula molekule kokaina (Wikipedia, 2007)

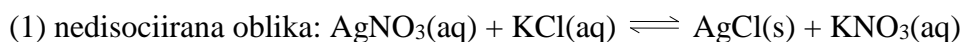
Kinin (iz vrst *Cinchona*) je močno antimalarično sredstvo, ki je bilo prej zdravilo za zdravljenje te bolezni, čeprav so ga v veliki meri nadomestila manj strupena in učinkovitejša sintetična zdravila. Alkaloid tubokurarin je aktivna sestavina južnoameriškega strupa za puščice, curare (pridobljen iz *Chondrodendron tomentosum* L.) in se uporablja kot mišični relaksant pri operaciji.

Dva alkaloida, vinkristin in vinblastin (iz rožnatega zimzelena *Catharanthus roseus* L., prej *Vinca rosea* L.) se pogosto uporabljata kot kemoterapevtska sredstva za zdravljenje številnih vrst raka (Encyclopaedia Britannica, 2020).

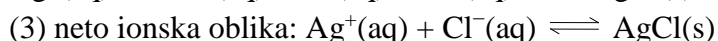
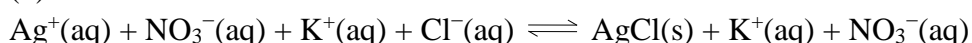
Za izolacijo komercialno uporabnih alkaloidov so bile razvite posebne metode. V večini se rastlinska tkiva obdela tako, da se pridobi vodne raztopine alkaloidov. Alkaloidi se nato iz raztopine pridobijo z ekstrakcijo, ki vključuje raztapljanje nekaterih komponent mešanice z reagenti. Iz pridobljene zmesi je v nadaljevanju potrebno ločiti in očistiti različne alkaloidne. Za učinkovito kvantitativno analizo alkaloidov se lahko uporabijo visoko zmogljive tankoslojne kromatografije (HPTLC) in sorodne tehnike. Alkaloidne lahko v kristalni obliki dobimo z uporabo določenih nepolarnih topil (Encyclopaedia Britannica, 2020; Slapničar in Boh Podgornik, 2021).

### 3.5 Dokazne obarjalne reakcije za alkaloidne

Obarjanje ali precipitacija je proces nastanka oborine (trdnine ali precipitata) iz raztopine. Primer obarjalne reakcije je na primer reakcija med vodno raztopino srebrovega nitrata(V) in vodno raztopino kalijevega klorida. Pri reakciji med navedenima snovema ionske zgradbe nastane oborina – slabo topna sol težke kovine, srebrov klorid, AgCl, ki je značilne bele barve. Opisano obarjalno reakcijo lahko na simbolni ravni predstavimo z različnimi zapisi enačb kemijskih reakcij:



(2) ionska oblika:

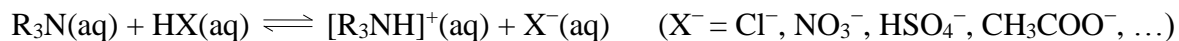


Za splošno kvalitativno dokazovanje prisotnosti alkaloidov v izoliranem rastlinskem vzorcu obstaja več različnih dokaznih obarjalnih reakcij, izpostavljene so štiri najpogostejše: (1) Dragendorffov test, (2) Mayerjev test, (3) Wagnerjev test in (4) Hagerjev test. Za lažje razumevanje navedenih obarjalnih reakcij je v nadaljevanju za dokazovanje prisotnosti alkaloidov v vzorcu bolj natančno predstavljen Dragendorffov test. Vse pomembnejše informacije ostalih testov, pomembnih za razumevanje in izvedbo laboratorijske vaje, prikazuje *Preglednica 8* (Slapničar in Boh Podgornik, 2021, 164).

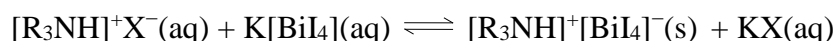
#### Dragendorffov test

Test izvajamo z Dragendorffovim reagentom (odkritelj nemški farmacevt Johan Georg Dragendorff (1836–1898)), ki je rdeče-rjava kisl raztopina bizmutovega nitrata(V) in kalijevega jodida. Dokaz za prisotnost alkaloidov v vzorcu je nastanek značilne oranžno-rdeče oborine.

Veliko alkaloidov ima v svoji heterociklični strukturi kovalentno vezan terciaren dušikov atom, ki reagira bazično in s kislino tvori ustrezno, v vodi dobro topno, amonijevo sol:



Med nastalo, v vodi dobro topno amonijevo soljo in kalijevim jodobizmutatom(III) poteče obarjalna kemijska reakcija, pri kateri med raztopino amonijeve soli in raztopino jodobizmutatnih anionov nastane oborina oranžno-rdeče barve:



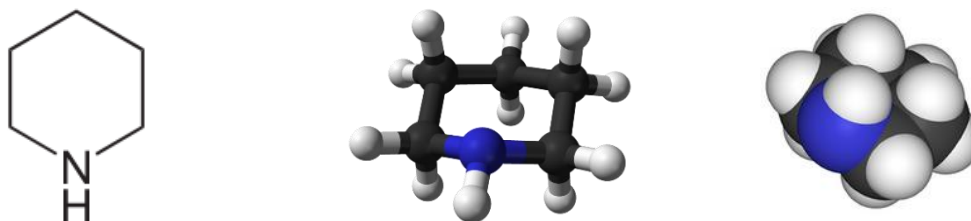
Odenki barve oborine so odvisni od vrste alkaloida, ki ga dokazujemo. Na podoben način lahko razložimo tudi dokazne reakcije za ostale teste, Preglednica 8 (Slapničar in Boh Podgornik, 2021, 164).

Preglednica 8: Značilnosti testov dokaznih reakcij za prisotnost alkaloidov v vzorcu (Slapničar in Boh Podgornik, 2021, 164)

Ime testa	Kemijska sestava reagenta	Dokaz prisotnosti alkaloidov
Dragendorffov test	Kisla raztopina bizmutovega nitrata(V) in kalijevega jodida.	oranžno-rdeča oborina
Mayerjev test	Vodna raztopina živosrebrovega diklorida in kalijevega jodida.	belo-kremasta oborina
Wagnerjev test	Vodna raztopina kalijevega trijodida.	rdeče-rjava oborina
Hagerjev test	Vodna raztopina pikrinske kisline (2,4,6-trinitrofenol).	rumena oborina

## 4 PIPERIN

Piperin je alkaloid, ki se pojavlja v rastlinah iz družine poprovk (lat. *Piperaceae*). Glede na kemijsko zgradbo ga uvrščamo v alkaloidno skupino piperidinov. Piperidin (tudi heksahidropiridin, azacikloheksan, pentametenamin ali azinan) (Slika 21) je šestčlenski heterociklični sekundarni amin z molekulsko formulo  $(CH_2)_5NH$  (Chopra idr., 2016).



Slika 21: Skeletna formula, slika krogičnega in kalotnega modela molekule piperidina (NEUROtiker, 2008)

Heterociklični obroč piperidina najdemo v številnih naravnih alkaloidih, kot na primer v:

- (1) piperinu, ki daje črnemu popru značilen vonj ter začinjen in oster okus,
- (2) strupu solenopsinu, ki ga izločajo ognjene mravlje rodu *Solenopsis*,
- (3) anabasinu, ki velja za nikotinovo imitacijo divjega tobaka (*Nicotiana glauca* L.),
- (4) lobelinu iz indijskega tobaka (*Nicotiana tabacum* L.),
- (5) koniinu, ki je strupen alkaloid iz strupenega pikastega mišjaka (*Conium maculatum* L.), s katerim so zastrepili Sokrata ipd.

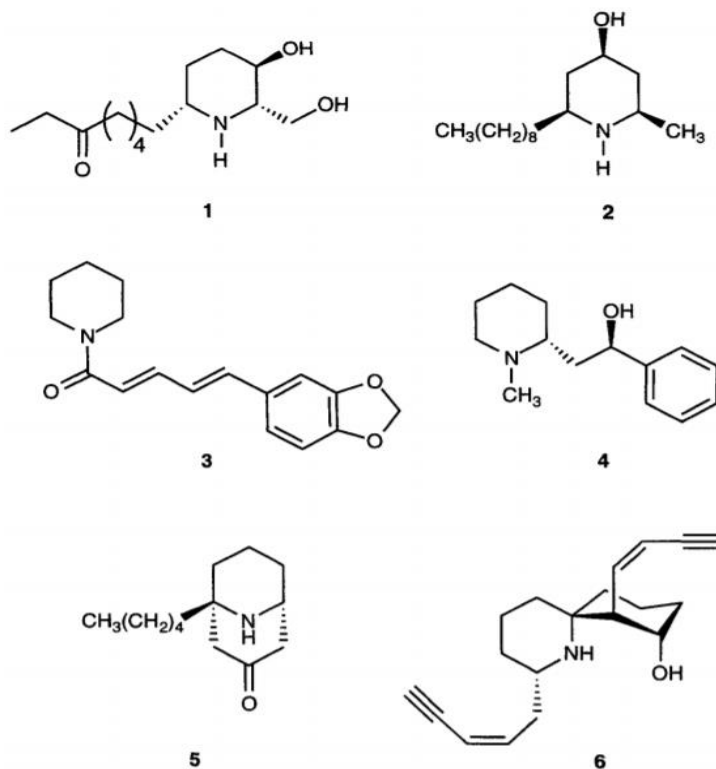
V Preglednici 8 so prikazane fizikalne lastnosti piperidina.

Preglednica 9: Fizikalne lastnosti piperidina

Fizikalna lastnost snovi	
Agregatno stanje pri standardnih pogojih	hlapljiva tekočina
Barva	brezbarvno
Vonj	oster vonj zmesi popra in amonijaka
Molska masa [g/mol]	85,15
Gostota [g/mL]	0,862
Temperatura tališča [°C]	- 7
Temperatura vrelišča [°C]	106

Piperidin in njegovi derivati se kot izhodne spojine snovi z bazičnimi lastnostmi in lastnostmi nepolarne organskega topila pogosto pojavljajo v različnih organskih sintezah, med drugim tudi v sintezi farmacevtskih izdelkov (analeptiki, vazodilatatorji, nevroleptiki in opioidi). Slika 22 prikazuje nekaj primerov piperidinskih alkaloidov.





Slika 22: Piperidinski alkaloidi (Ojima in Iula, 1999)

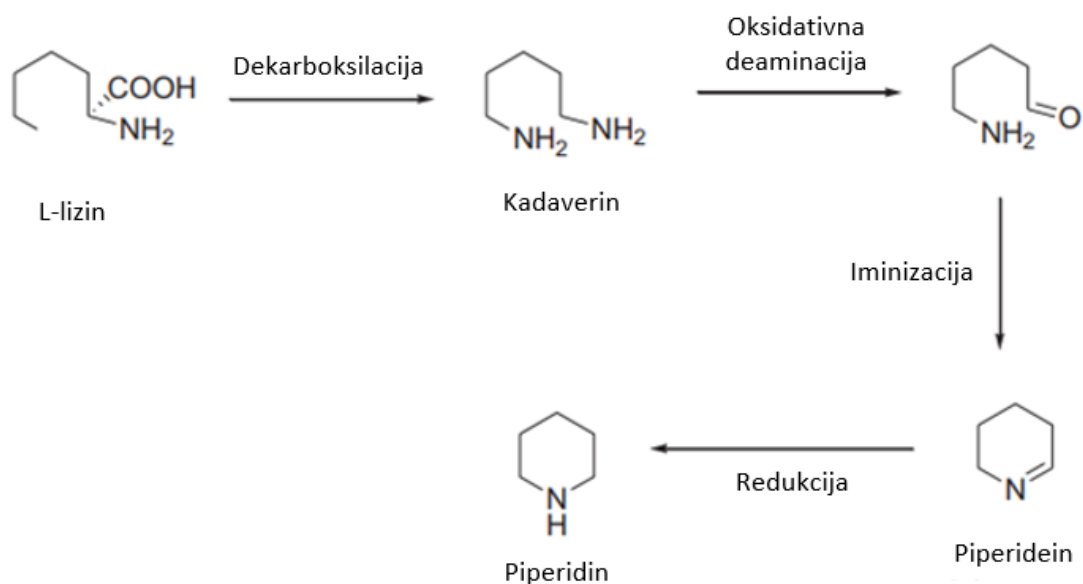
Glavni predstavnik v skupini piperidinskih alkaloidov je piperin (3) (Slika 22), poleg njega pa se v listih, deblu in koreninah drevesa ene izmed vrst afriškega meskita (*Prosopis africana* Taub L.) pojavlja tudi prosopinin (1) z molekulsko formulo  $C_{16}H_{33}NO_3$  (Slika 22), ki se lahko uporablja kot lokalni anestetik. V skupino piperidinskih alkaloidov sodijo tudi:

- piperidin 241D (2) z molekulsko formulo  $C_{15}H_{31}NO$ , ki so ga izolirali iz strupenih žab (*Dendrobates speciosus* L). Tipična lastnost piperidina 241D je zaviranje delovanja živčnega prenašalca acetilholina.
- Sedamin (4) z molekulsko formulo  $C_{14}H_{21}NO$ , ki so ga izolirali iz zelnote trajnice ostre homulice (*Sedum acre* L.). Sedamin kompetitivno inhibira oksidazo diamina pri grahu.
- Adalin (5) z molekulsko formulo  $C_{13}H_{23}NO$ , ki so ga pridobili iz evropske dvopikčaste pikapolonice (*Adalia bipunctata* L.) in v živalskem svetu velja za enega izmed vrst obrambnih alkaloidov.
- Histrionikotoksin (6) z molekulsko formulo  $C_{19}H_{25}NO$ , ki je sestavni del strupenega izločka kože *Dendrobates* žab. Histrionikotoksin blokira vezavo acetilholina na nikotinski živčni receptor pri sesalcih in plazilcih, prav tako pa inhibira mesta vezave, povezana z natrijevimi, kalijevimi in kalcijevimi kanali v možganskih membranah.

Glavni predstavnik te skupine alkaloidov, piperin, je sestavljen iz aromatskega (5-(3,4-metilendioksifenil) ter aminskega dela (piperidin), oba dela pa povezuje aciklična alifatska veriga (Ojima in Iula, 1999).

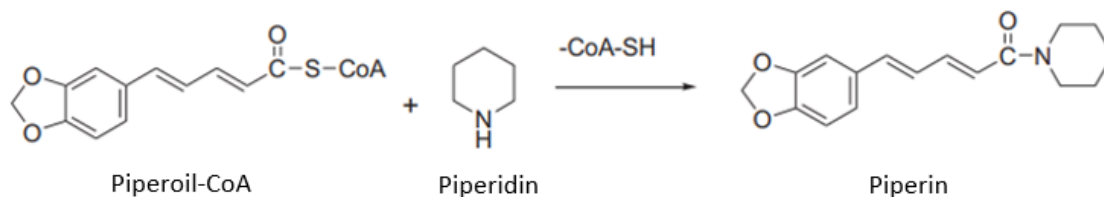
#### 4.1 Biosinteza piperina

Slika 23 prikazuje reakcijsko shemo biosinteze piperidina iz aminokislina L-lizina. V prisotnosti piridoksal 5'-fosfata poteče dekarboksilacija L-lizina do nastanka smrdljivega diamina kadaverina (pentan-1,5-diamin). Sledi reakcija neposredne oksidativne deaminacije kadaverina z encimom diamin oksidaze do nastanka amino aldehida, ki se nato v reakciji iminizacije ciklizira v piperidein. V zadnji stopnji biosinteze poteče redukcija piperideina v piperidin (Chopra idr., 2016).



Slika 23: Reakcijska shema biosinteze piperidina iz L-lizina (Chopra idr., 2016)

Sintetiziran piperidin pri encimsko katalizirani reakciji s piperidin piperoiltransferazo v črnem poprovcu s tioestrom piperoil-CoA reagira v piperin (Slika 24) (Chopra idr., 2016).



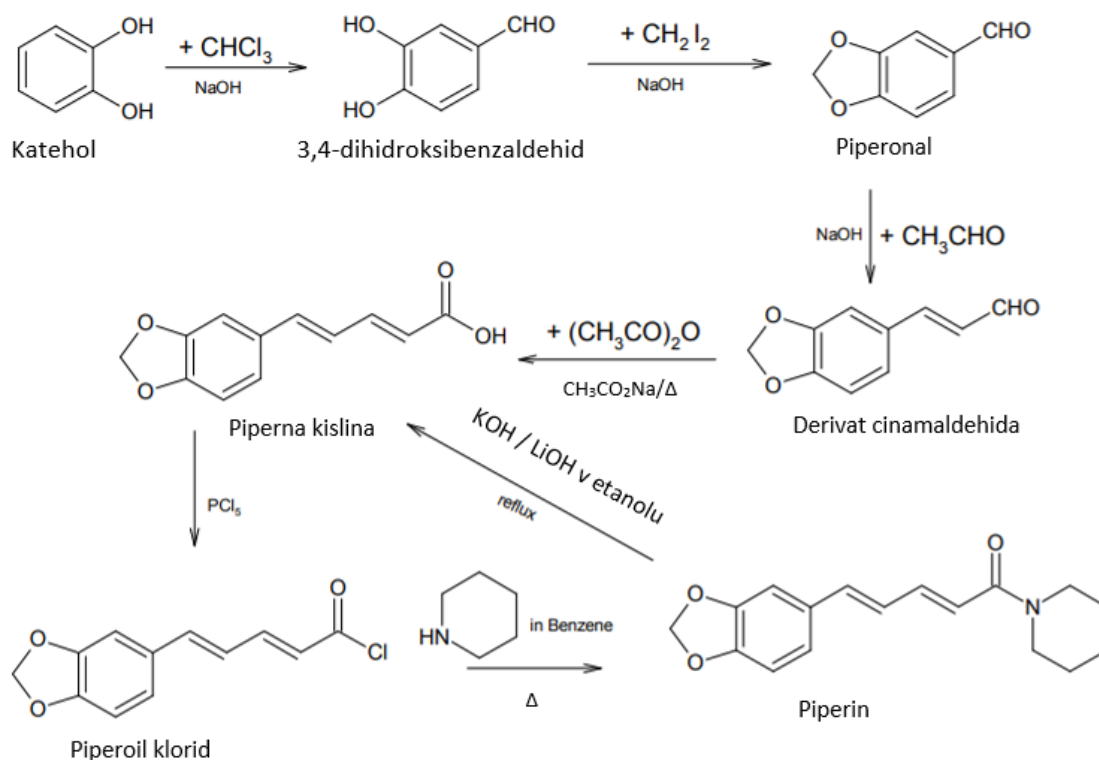
Slika 24: Reakcijska shema reakcije sinteze piperina (Chopra idr., 2016)

## 4.2 Laboratorijska sinteza

Piperin umetno sintetiziramo v več stopnjah, vsaka od njih predstavlja svoj mehanizem ustrezne reakcije. Prva stopnja sinteze, ki se odvija po mehanizmu Reimer-Tiemannove reakcije, je reakcija sinteze 3,4-dihidroksibenzaldehida iz katehola (1,2-dihidroksibenzena). Gre za reakcijo aktiviranih aromatskih spojin (npr. fenolov) – ortoformiliranje fenolov, pri kateri lahko predpostavimo reakcijo diklorokarbena, ki nastane iz kloroforma (triklorometana) v alkalnem kot elektrofila in fenolatnega iona kot aromatske spojine v elektrofilni aromatski substituciji (Slika 25).

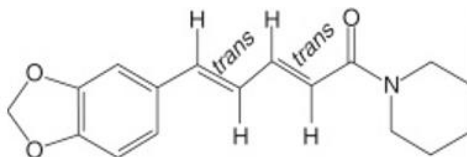
V nadaljnji stopnji sinteze piperonala oziroma heliotropina (1,3-benzodioksol-5-karbaldehid) ob prisotnosti acetaldehida v bazičnem mediju poteče aldolna kondenzacija piperonala v derivat cinamaldehida (cinamaldehyd ali (2E)-3-fenilprop-2-enal) (Claisen-Schmidtova reakcija) (Slika 25).

Nastali produkt nato v raztopini acetanhidrida in natrijevega acetata katalizirano kondenzira do nastanka piperne kisline (Perkinova reakcija), ki se ob dodatku fosforjevega pentaklorida pretvori v kislinski klorid piperoil klorid (Slika 25). S segrevanjem piperoil klorida v zmesi piperidina in benzena pridobimo piperin. Iz piperina lahko piperino kislino pridobimo z reflusno alkalno hidrolizo v etanolu (Okwute idr., 2013).



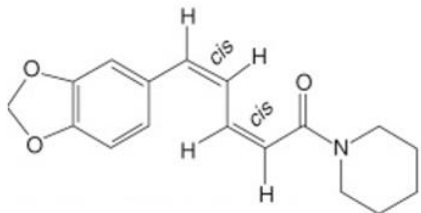
Slika 25: Reakcijska shema laboratorijske sinteze piperina (Okwute idr., 2013, str. 110)

Piperin (E,E-(trans-trans)-piperin) (Slika 26) je spojina z molekulsko formulo  $C_{17}H_{19}NO_3$  ( $M_r = 285,34$ ). IUPAC-ovo ime spojine je 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-il)-1-okso-2,4-pentadienil]piperidin. V naravi kar 98 % piperina najdemo v črnem poprovcu (*Piper nigrum* L.), v popolnoma čisti obliki pa ga lahko pridobimo le v laboratoriju.

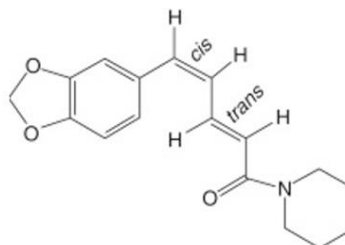


Slika 26: Skeletna formula molekule piperina (Gorgani idr., 2017, str. 124-125)

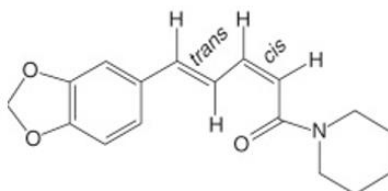
Piperin je kristalinična spojina rumene barve, ki je pri sobni temperaturi v trdnem agregatnem stanju. Tališče ima pri temperaturi med 128 in 130 °C, njegovo vrelišče pa je temperatura, pri kateri spojina razpade. Je šibka baza, ki je v vodi slabo topna (40 mg/L), kar pa je poleg tega, da lahko deluje toksično na centralni živčni in reprodukcijski sistem, vzrok, da je uporaba piperina v farmacevtski industriji omejena. V nasprotju z vodo je piperin dobro topen v alkoholu, etru in v klorofomu. Raztopina piperina z alkoholom ima poprast okus. Piperin lahko z močnimi kislinami tvori soli. Piperin ima tri geometrijske izomere: kavicin, izokavicin in izopiperin (Slika 27).



Skeletna formula molekule kavicina  
Z,Z-(cis-cis)-piperin



Skeletna formula molekule izokavicina  
E,Z-(trans-cis)-piperin



Skeletna formula molekule izopiperina  
Z,E-(cis-trans)-piperin

Slika 27: Geometrijski izomeri molekule piperina (Gorgani idr., 2017, str. 124-125)

Pri preučevanju presnovne poti piperina je mogoče ugotoviti več različnih metabolitov in njihovih konjugatov. Med pomembnejšimi lahko izpostavimo piperno in piperonilno kislino, piperonilni alkohol, piperonal in vanilinsko kislino (Tiwari idr., 2020). Čeprav se črni poper že dolgo uporablja, je o biološki aktivnosti piperina in surovega ekstrakta iz rastlin na voljo malo podatkov. Piperinski ekstrakt ima stimulativen učinek na dihanje in povzroča mišične krče pri miših in psih. Piperin zavira implantacijo, povzroča splav in zakasnen porod pri miših. Za miši, podgane in tudi hrčke je piperin akutno toksičen, če ga v telo dodamo intravenozno. Njegova toksičnost se zmanjša, če ga v telo vnesemo intragastrinalno, subkutano in intramuskularno. Poleg načina vbizgavanja na toksičnost piperina v živalih vpliva tudi starost, spol in vrsta živali, pa tudi koncentracija piperina. Višja koncentracija piperina običajno tvori koloid v vodnem mediju, kar posledično vodi v njegovo manjšo adsorpcijo. Takojšnje odzive na dražljaje in krče so opazili pri vseh živalskih vrstah, ki so bile zdravljene s piperinom na različne načine (Piyachaturawat idr., 1983; Singh idr., 2014).

Za piperin so značilne raznolike biološke aktivnosti. Piperin deluje protivnetno, protirakavo, antivirusno, proti larvicidno, pesticidno, antidepresivno, antialergijsko, protiastmatično, antireumatoidno, antimikrobno, antioksidativno, analgetično, antimutageno, antipiretično, antiapoptozno, antiepiletično, antiartritično, hepatoprotektivno in anticitotoksično. Piperin se lahko uporablja za upočasnjevanje napredka Alzheimerjeve bolezni, deluje tudi proti driski. Poznan je kot ojačevalec biološke uporabnosti. Za izboljšanje biološke uporabnosti so uporabljene tudi različne kombinacije piperina z razpoložljivimi tržnimi zdravili (Damanhour in Ahmad, 2014; Singh idr., 2014; Tiwari idr., 2020; Vasavirama in Upender, 2014).

### **4.3 Piperin kot »bioojačevalec«**

Bioojačevalci so snovi, ki povečajo biološko uporabnost in učinkovitost zdravilne učinkovine, s katero so le-ti v kombinaciji. Ključna lastnost bioojačevalca na uporabljenem odmerku delovanja zdravilne učinkovine je ta, da bioojačevalec nima svoje farmakološke aktivnosti. Rezultati raziskav kažejo, da je piperin zaradi sposobnosti zaviranja določenega glikoproteina in encima, ki imata ključno vlogo pri presnovi ksenofobičnih sredstev, v kombinaciji s temi sredstvi tudi potencialni bioojačevalec (Tiwari idr., 2020).

Obstajajo različne prednosti uporabe bioojačevalca s kombiniranim zdravljenjem, kot na primer:

- (1) Zaradi povečanja biološke dostopnosti se povečuje učinkovitost zdravila.
- (2) Kombinacija bioojačevalca z zdravilom zmanjšuje njegovo odmerjanje.
- (3) Nevarnost na odpornost zdravila je v kombinaciji z bioojačevalcem lahko minimalizirana.

- (4) Neugoden učinek zdravila in njegova toksičnost se minimalizirata z zmanjšanjem odmerjanja. To posebej velja za zdravila proti raku, kot je na primer Taxol.
- (5) Ekološke prednosti oziroma koristi.
- (6) Bioojačevalci lahko zmanjšajo tako notranjo kot zunanjo spremenljivost, če povečajo dostopnost zdravil.

Eden od razlogov za efekt bioojačevalca piperina je pripisan vplivu piperina na encime, ki sodelujejo pri presnovi zdravil, kot so mešane oksidazne funkcije, ki jih najdemo v jetrih in črevesnih celicah. Piperin lahko zavira interakcijo s procesom oksidativne fosforilacije ali s postopkom aktiviranja oziroma deaktiviranja nekaterih presnovnih poti. Na ta način upočasni presnovo in biorazgradnjo zdravil (Wadhwa idr., 2014).

#### **4.4 Antioksidativna aktivnost piperina**

Piperin zavira delovanje prostih radikalov in reaktivnih delcev kisika, zato je poznan po tem, da ima zaščitne učinke pred oksidativnimi poškodbami. Za črni poprovec (*Piper nigrum* L.), v katerem najdemo piperin, so ugotovili, da preprečuje oksidativen stres z inhibicijo peroksidacije lipidov. Testi na podganah so pokazali, da so odmerki alkoholnega ekstrakta črnega poprovca znatno izboljšali učinkovitost spomina in dokazali antioksidativen potencial. Znano je, da ima ekstrakt črnega popra antioksidativno vlogo proti aterogeni dieti, ki inducira oksidativni stres (Damanhoury in Ahmad, 2014).

#### **4.5 Protirakava aktivnost piperina**

Alkoholni ekstrakt piperina ima učinkovite imunomodulatorne in antitumorne aktivnosti. Piperin zmanjšuje možnosti pljučnega raka s spremembo peroksidacije lipidov in zaščitnih antioksidativnih encimov. Piperin ima poleg protirakave aktivnosti tudi različne farmakološke aktivnosti. Znano je, da piperin zavira razmnoževanje človeških endotelijskih celic v žilah popkavnine in angiogenezo (proces rasti novih krvnih žil iz že obstoječih), ki jo povzročita kolagen in rak na dojkah v zarodku. Zavira tudi fosforilacijo določenih proteinov, ki so potrebni za angiogenezo in za funkcije endotelijskih celic. Prav zato bi bil piperin kot inhibitor angiogeneze lahko uporaben za zdravljenje raka, saj angiogeneza igra ključno vlogo pri napredovanju tumorjev. Znano je, da so mehanizmi protirakaste aktivnosti piperina ugodno delujejo proti celicam raka prostate, katerih delovanje je odvisno od odmerka piperina. Ugotovljeno je bilo, da je zdravljenje s piperinom uporabno za zmanjševanje apoptoze (programirana celična smrt, za katero so značilni krčenje vsebine celice, razpad jedra in citoplazme v telesca, odstranitev iz tkiva in razgradnja brez sproščanja za organizem škodljivih snovi) (Damanhoury in Ahmad, 2014).

#### **4.6 Antidepresivne aktivnosti piperina**

Antidepresivom podoben učinek piperina so preverjali pri naravnem hormonu kortikosteronu, ki povzroča depresijo pri miših. Po treh tednih injekcij kortikosterona se je pri miših razvilo čudno vedenje, podobno depresiji. Kortikosteron je povzročil vedenjske in biokemične spremembe. Rezultati poskusa zdravljenja s piperinom so pokazali, da ima piperin na povečano koncentracijo kortikosterona antidepresiven učinek (Damanhoury in Ahmad, 2014).

## 5 RASTLINSKE BOLEZNI

### 5.1 Zgodovina rastlinskih bolezni

Rastlinske bolezni obstajajo že zelo dolgo. Fosile rastlin, okužene z boleznimi, so odkrili že pred 250 milijoni let. Prvi zapis o rastlinskih boleznih se nahajajo tudi v Bibliji, kjer omenjajo rjo, sneti (bolezni žit) in plesni, ki so povzročale lakote. V 19. in 20. stoletju se je na Irskem pojavila krompirjeva plesen. To povzroča gliva *Phytophthora infestans*, zaradi katere je propadel ves pridelek krompirja, kar je bil razlog za veliko Irsko lakoto v obdobju med 1845 in 1852, v kateri je tudi veliko ljudi umrlo in zapustilo državo. Kmalu po tem, leta 1851 in 1878, je Francijo prizadela peronospora vinske trte (*Plasmopara viticola*). Na Šrilanki pa se je na kavi pojavila kavovčeva rja (*Hemileia vastatrix*). V začetku 20. stoletja je fuzarijsko uvelost bombaža in lana povzročila gliva iz rodu *Fusarium*. V ZDA se je pojavila pšenična progasta rja (*Puccinia graminis*) in južna pegavost koruze (*Bipolaris maydis*), v srednji Ameriki se je pojavila panamska bolezen banan (Leadbeater, 2014). V Indiji je prišlo do okužbe riža z glivo *Cochliobolus miyabeanus* (Strange in Scott, 2005).

### 5.2 Pomen rastlinskih bolezni v sadjarstvu

V sadjarstvu se pojavlja veliko rastlinskih bolezni, ki povzročajo škodo na rastlinah. Posledice so lahko zelo hude, saj lahko ena sama gliva povzroči propad drevesa in posledično okužbo sosednjih rastlin (Bautista-Baños, 2014). Poznamo različne vrste rastlinskih bolezni, ki se pojavljajo v sadovnjakih. Problem bolezni pri sadjarstvu je, da nekateri patogeni ne napadajo samo listov, temveč tudi korenine, koreninski vrat in debla. Večinoma teh bolezni ne prepoznajo, saj jih pripisujejo abiotičnim dejavnikom, kot je na primer pozeba, zaostajanje vode v tleh ali pomanjkanje hranil v zemlji. Pri okrnjeni funkciji korenin se pojavi omejen pretok vode in hranil po drevesu, kar je eden od primarnih simptomov na drevesu, ki pa jih velikokrat ne prepisujejo okužbam z glivami. Poznamo tudi glive, ki hkrati okužijo korenine, koreninski vrat in deblo (*Phytophthora cactorum*, *Athelia rolfsii* in glive štorovke) (Caf, 2015).

### 5.3 Pogoji za razvoj bolezni

Do razvoja bolezni pride, če so izpolnjeni določeni pogoji. Prvi pogoje je interakcija med povzročiteljem (patogenom) in rastlino (Francel, 2001). Za razvoj bolezni so ključni tudi okoljski dejavniki, predvsem vlaga in temperatura (Urankar, 2010).



#### **5.4 Povzročitelji rastlinskih bolezní**

Glavni povzročitelji rastlinskih bolezní (patogeni) so virusi, bakterije, nematode in glive. Ti lahko napadejo rastlino med samo rastjo ali pa med žetvijo. Vsi patogeni ogrožajo preskrbo rastline s hrano. Na leto naj bi izgubili okoli 10 % hrane zaradi bolezní rastlin (Jakoš, 2018). Rastlinske patogene je zelo težko nadzorovati. Njihove populacije so namreč spremenljive v času in prostoru. Patogeni se sproti razvijajo in prilagajajo sami rastlini in tako premagujejo njihovo odpornost (Strange in Scott, 2005). Ločimo primarne in sekundarne okužbe. Okužbam, ki jih povzročijo patogeni, ki so prezimili, spomladi, rečemo primarne. Sekundarne okužbe pa predstavlja širjenje bolezní iz ene rastline na drugo (Urankar, 2010).

#### **5.5 Glive kot povzročiteljice bolezní**

Bolezni, ki jih povzročajo glive, imenujemo mikoze. V naravi so glive zelo razširjene, saj poznamo več kot 200.000 vrst patogenih gliv. Za uspevanje gliv v naravi sta ključni temperatura in vlaga (Urankar, 2010). Glive so razlog hudih rastlinskih bolezní in lahko privedejo tudi do propada organizma. Dobro namreč spirulirajo, te spore pa predstavljajo obilen inokulum za okužbo rastlin. Spore se nato prenašajo s površinskimi vodami, dežjem ali vetrom in tako se lahko širi okužba na dolge razdalje. Zelo pomembni prenašalci bolezní so tudi insekti, ki z opráševanjem prenašajo spore iz ene rastline na drugo (Jakoš, 2018). Prednost patogenih gliv je, da lahko vzdržijo neugodne vremenske razmere, kot so nizka temperatura (Urankar, 2010).

#### **5.6 Fitoformacevtska sredstva**

Skozi leta se je kmetijska pridelava močno povečala. Za zmanjševanje rastlinskih okužb uporabljajo pesticide. To so snovi, ki preprečujejo, uničujejo ali nadzorujejo škodljive organizme. Poznamo več vrst pesticidov (herbicidi, fungicidi, insekticidi, rodenticidi in drugi) (Akkatar in sod., 2009). Njihova uporaba se je sunkovito povečala, kjer pride do problema, saj veliko pesticida nikoli ne doseže tarčnega organizma, temveč se razprši po vodi, zraku in zemlji (Jakoš, 2018).

### 5.6.1 FUNGICIDI

Fungicidi so kemične snovi za zatiranje povzročiteljev glivičnih bolezni. Uporabljamo jih za zatiranje glivičnih bolezni na nadzemnih delih gojene rastline, razkuževanje semen in rastlinskih delov, ki so namenjeni vegetativnemu razmnoževanju, razkuževanje tal pred talnimi parazitskimi glivami. Prvo kemično sredstvo proti rastlinskim boleznim je odkril Bénédict Prévost leta 1807. Uporabil je bakrov sulfat za razkuževanje pšeničnega semena, saj je rja že stoletja omejevala pridelavo žit.

Fungicidi so lahko v različnih oblikah (prah, granule, tekočina ali plin). V fungicidnem pripravku so poleg aktivnih sestavin tudi pomožne inertne sestavine, ki izboljšajo učinkovitost pripravka. Fungicidi delujejo na glive tako, da onemogočijo delovanje encimov, ki sodelujejo v ključnih procesih v celici, kot so dihanje, celična delitev ter sinteza aminokislin, proteinov in lipidov. Temu pa sledi propad glive.

Fungicide večinoma naneseemo na liste rastlin, saj je večina bolezni na listih. Fungicide nanesejo tudi v zemljo in v semena, kar pa je odvisno od načina širjenja bolezni na druge rastline (Jakoš, 2018).

Glede na način prodiranja v organe tretirane rastline ločimo: a) sistemične fungicide, b) kontaktne ali dotikalne fungicide in c) fungicide z globinskim (polsistemičnim ali lokosistemičnim) delovanjem. Glede na to, na kateri stopnji razvoja glivične bolezni v gojeni rastlini fungicid lahko zadrži njen nadaljnji razvoj, jih delimo na: a) preventivne, b) kurativne in c) eradikativne.

### 5.6.2 NADZOR IN UPORABA FUNGICIDOV

Velika uporaba fitofarmaceutskih sredstev je povzročila, da so njihovi ostanki zašli v podtalnico, s tem pa tudi v tla in posledično v hrano, ki jo zaužijemo. Fitofarmaceutska sredstva imajo številne škodljive učinke na zdravje ljudi. Ob izpostavljenosti lahko povzročijo levkemijo, možganskega, kostnega ter druge oblike malignih tumorjev. Fitofarmaceutska sredstva lahko v naše telo pridejo z vdihavanjem, z absorpcijo preko kože ali z zaužitjem. V podtalnico pesticidi pridejo zaradi njihovega izpiranja in nepravilne uporabe. Nadzor nad uporabo sredstev je ključnega pomena. V bolj razvitih državah imajo sistem nadzora bolj ali manj uspešno vpeljan, medtem ko je v manj razvitih državah nadzorov premalo (Jakoš, 2018). Skozi leta uporabe sintetičnih fungicidnih sredstev so patogene glive postale na njih odporne. Bolj je zaželena uporaba biopesticidov (biotično varstvo rastlin), med katere uvrščamo naravne produkte, ki so pridobljeni iz mikroorganizmov, rastlin, živali (Chopping in Menn, 2000).

## 5.7 Uporaba rastlinskih ekstraktov

Med alternativami fungicidom je tudi uporaba rastlinskih ekstraktov. Ti so v uporabi od leta 1940, vendar so bili skozi leta nadomeščeni s sintetičnimi pesticidi. V zadnjem času se je povečalo število raziskav na temo rastlinskih ekstraktov, saj so ljudje ozaveščeni o škodljivi uporabi pesticidov (Choi in sod., 2004). Ugotovili so, da so v nekaterih višjih rastlinah prisotne protiglivne snovi, ki so zaradi biorazgradljivosti in selektivne toksičnosti zelo dragocene, vendar so dražje od sintetičnih spojin in manj dosegljive. Naravni proizvodi so tudi manj strupeni v primerjavi s samimi fungicidi.

Za pridobivanje izvlečkov iz rastlin se v EU komercialno in tudi v lastni režiji na kmetijah uporablja vsaj 150 vrst rastlin. Postopki ekstrakcije aktivnih učinkovin so zelo različni in nekateri pridelovalci si te pripravke pripravljajo sami po tradicionalnih postopkih (vodne, alkoholne, kislinske, mikrobne in druge ekstrakcije). Pogosti rodovi uporabljenih rastlin so: *Urtica*, *Equisetum*, *Calendula*, *Echinachea*, *Artemisia*, *Rheum*, *Mentha*, *Thymus*, *Rosmarinus*, *Alium*, *Fallopia*, *Jucca*, *Potentilla*, *Chamomilla*, *Capsicum*, *Cannabis*, *Inula*, *Achillea*, *Salvia*, *Malva*, *Saponaria*, *Glycyrrhiza*, *Sabadilla*, *Anisum*, *Hedera*, *Paeonia*, *Ocimum*, *Pteridium*, *Abies*, *Pinus*, *Salix*, *Sophora*, *Sambucus*, *Thuya* in številni drugi (Iljaš idr., 2017). Na tržišču obstajajo ekstrakti različnih rastlin. Med njimi je pripravek s komercialnim imenom »Milsana«. Gre za ekstrakt listov sahalinskega dresnika, ki deluje proti pepelasti plesni. (Konstantinidou-Doltsinis idr., 2006). Nekaj drugih sredstev na osnovi rastlinskih ekstraktov, ki delujejo protiglavno: »Plantonic« (iz kopriv in vrbe), »Equisetum Plus« (preslica), »Bio Plantella Natur F« (preslica), »Biobizz Acti vera« (iz Aloe vere), »Biocin« (taro), »Bio Plantella Thymi« (timijan in brin), »Cirkon« (ameriški slamnik), »Grevit« in »Biosept« (lupine in peške agrumov), »HF-Pilzvorsorge« (komarček). Iz cimeta so izolirali cinamaldehyd, ki ima protiglavno delovanje. Poznamo tudi fugicide, ki so izolirani iz gliv. Med njim je gliva *Strobilurus tenacellus*. Večina rastlin še vedno ni bila analizirana na prisotnost fitoaktivnih snovi. Ena izmed idej pa je, da bi uporabili plevel iz invazivnih vrst rastlin. S tem bi hkrati obvladovali nezaželene rastline in bolezni rastlin (Tapwalli in idr., 2011; Jakoš, 2018).

## 5.8 Izbrane rastlinske bolezni

### 5.8.1 CVETNA MONILIJA (*Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhl.) Honey)

Cvetna monilija okužuje vse vrste rastlin iz družine Rosaceae. Pojav bolezni je pogostejši pri koščičarjih, podvrsta *Monilinia laxa* f. sp. mali pa okužuje tudi pečkarje, predvsem jabolane. Gliva največkrat okuži odprte cvetove, zato je pojav bolezni pogostejši v hladnejših in deževnih pomladih, ko je obdobje cvetenja daljše (Žigon, 2019).

Preglednica 10: Taksonomska klasifikacija cvetne monilije (EPPO, 2020)

Sistemska kategorija	Znanstveno ime
Kraljestvo	Fungi (glive)
Deblo	Ascomycota (zaprtotrosnice)
Razred	Leotiomycetes
Red	Helotiales (pecljarji)
Družina	Sclerotiniaceae
Rod	<i>Monilinia</i>
Vrsta	<i>Monilinia laxa</i>

Značilna znamenja bolezní se kažejo v obliki sušenja cvetov, cvetnih šopov in mlajših poganjkov. Po začetku cvetenja napadeni cvetovi porjavijo in se pričnejo sušiti, sušijo se tudi poganjki, iz katerih izraščajo prizadeti cvetovi. Na ovelih cvetovih se lahko ob ustreznih vremenskih razmerah oblikujejo sivkaste bradavice – trosišča poletnih trosov. Prek cvetnega peclja micelij glive prodre do poganjkov. Okužen les potemni in propada, poganjki dobijo ožgan videz. Gliva lahko neposredno okužuje tudi prek poškodb v skorji, ki nato potemni in se ulekne, na površini pa se pojavijo temno sive bradavice, podobno kot pri okužbi z jablanovim rakom (*Neonectria galligena*) (Žigon, 2019).

Bolezenska znamenja so podobna tudi pri okužbah s karantensko boleznijo hrušev ožig, pri katerih se okuženi poganjki značilno upognejo v obliki pastirske palice, pojavi se tudi bakterijski izcedek. Pri okužbi z bakterijsko boleznijo so napadeni poganjki bolj togi, usnjati, medtem ko se pri okužbi s cvetno monilijo zlahka zdrobijo (Žigon, 2019).



Slika 28: Cvetna monilija na plodu slive (levo; Pitorac, 2018), poganjkih češnje (sredina; Mitja Neem'O'holich, 2016) in plodu marelice (desno; Pitorac, 2017)

Gliva prezimi v posušenih cvetovih, poganjkih ali mumijah plodov. Vodne kapljice, veter in žuželke razširjajo trose (konidije) na cvetne organe, kjer v vlažnem vremenu kalijo. Gliva lahko okuži cvetove že zelo zgodaj, ko so ti še zaprti, pogosteje pa kasneje v času cvetenja.

Preko cvetnega peclja se micelij glive širi po poganjku navzgor in navzdol ter na ta način prizadene več poganjkov in cvetnih šopov. V juniju se ob ugodnih vremenskih razmerah (dalj časa trajajoče deževno vreme) na površini propadlih tkiv oblikujejo trosišča z nespolnimi trosi, ki vršijo nove okužbe. Kasneje lahko gliva okuži tudi poškodovane plodove. Na njih se oblikujejo nova trosišča, plodovi pa se sčasoma posušijo in kot mumije ostanejo na drevesih ter tako predstavljajo vir okužb v prihodnjem letu (Žigon, 2019).

V Sloveniji monilija predstavlja eno izmed gospodarsko pomembnih boleznih češenj in drugih koščičarjev. Pomembno vpliva na samo količino pridelka, povzroči lahko propad samih dreves in s tem zmanjšanje pridelka (Celar, 1999).

Pri varstvu pred cvetno monilijo je bistveno izvajanje preventivnih sanitetnih ukrepov za preprečevanje ohranjanja in širjenje okužb v naslednjem letu. V času rezi je potrebno pozornost nameniti odstranjevanju sadnih mumij in okuženih poganjkov. Tekom rastne dobe je priporočljivo čimprej po odkritju bolezenskih znamenj vsa okužena tkiva odstraniti in odnesti iz nasada ter sežgati. Okužene poganjke je potrebno odrezati na zdravem delu vsaj 20 cm pod mestom sušenja. Sorte jablan, ki dalj časa cvetijo in pocvitajo, so bolj občutljive za pojav bolezni. Za kemično varstvo zatiranja cvetne monilije na jablani ni na voljo registriranih fungicidov. Okužbe posredno preprečujejo dotikalni in sistemični fungicidi, ki jih uporabljamo za varstvo pred jablanovim škrlupom. Za učinkovito preventivno varstvo je priporočljivo opraviti škropljenje s sistemskimi fungicidi tik pred cvetenjem jablan (Žigon, 2019).

#### 5.8.2 GRENKA SADNA GNILOBA, ČRNA PEGAVOST (*Colletotrichum* spp.)

Glive iz rodu *Colletotrichum* sodijo med gospodarsko najpomembnejše škodljive organizme na kmetijskih rastlinah, pa tudi na okrasnem drevju ter grmičevju. Glive iz rodu *Colletotrichum* so razširjene v zmernem, tropskem in subtropskem pasu, kjer prizadenejo številne sadne vrste, vrtnine in žita. Bolezen se izraža kot vdrti okrogle, temno rjave do črne, uleknjene, bolj ali manj okrogle pege, na katerih se razvijejo trosišča (acervuli) in oranžni skupki trosov premera okrog 1 cm na listnih pecljih, steblih, živicah in plodovih. Gliva povzroča tudi listno pegavost (Dean idr., 2012; Munda in Gerič Stare, 2011).

Najpomembnejše povzročiteljice črne pegavosti jagod so glive iz kompleksa *Colletotrichum acutatum*, ki gospodarsko pomembno škodo povzročajo predvsem v vlažnih in toplejših letih. Na pojav bolezni so posebej občutljive določene sorte jagod, pogosteje pa se pojavlja pri gojenju jagod na plastični foliji. Bolezen je bila pri nas prvič ugotovljena leta 1998, od takrat pa se je razširila na vsa pridelovalna območja po Sloveniji (Žigon, 2016).

Preglednica 11: Taksonomska klasifikacija grenke sadne gnilobe (*Colletotrichum acutatum*) (EPPO, 2020)

Sistemska kategorija	Znanstveno ime
Kraljestvo	Fungi (glive)
Deblo	Ascomycota (zaprtotrosnice)
Razred	Sordariomycetes
Red	Glomerellales
Družina	Glomerellaceae
Rod	<i>Colletotrichum</i>
Vrsta	<i>Colletotrichum acutatum</i>

Glive iz rodu *Colletotrichum* povzročijo značilna bolezenska znamenja, imenovana antraknoze. Zmožnost, da povzročijo latentno okužbo, te glive uvršča tudi med pomembne povzročiteljice skladiščnih bolezni (Munda in Gerič Stare, 2011). Okužijo vse nadzemne dele rastlin, do okužbe pa lahko pride skozi vso rastno dobo. Prizadenejo predvsem nadzemne rastlinske dele, vendar pa so lahko okuženi tudi podzemni organi (Freeman in sod., 1998).



Slika 29: Bolezen antraknoza povzročena z glivo *Colletotrichum acutatum* na plodovih ameriških borovnic (levo) in jablane (desno) (Peres idr., 2005)

Do nedavnega je veljala za najpomembnejšo povzročiteljico antraknoze na sadnem drevju in jagodičevju gliva *C. acutatum*. Prvič je bila najdena v Avstraliji leta 1965. Kasneje so jo zasledili tako rekoč po vsem svetu in na več kot štiridesetih gostiteljih. Povzroča različne bolezni: črno pegavost jagod pri jagodnjaku, sušenje poganjkov in sadno gnilobo pri ameriški borovnici, sušenje poganjkov, defoliacijo in propadanje plodov pri mandlju, gnitje plodov pri jablani, oljki, češnji in citrusih ter druge bolezni. Zaradi velikega gospodarskega pomena so jo v Evropski zvezi uvrstili med karantenske škodljive organizme, pred nekaj leti pa umaknili s seznama zaradi njene vsesplošne razširjenosti v naravnem okolju.

V številnih raziskavah ugotavljajo, da je vrsta *C. acutatum* zelo heterogena in je najverjetneje kompleks več različnih vrst (Munda in Gerič Stare, 2011).

Glavni vir prenosa bolezni predstavljajo okužene sadike, sicer pa glive, ki bolezen povzročajo, prezimijo v obliki micelija v tleh ali na okuženih rastlinskih ostankih. Nespolni trosi (konidiji), ki rastejo na okuženih plodovih, se s kapljicami raznesejo po nasadu na nezrele plodove, kjer kalijo in okužijo nove plodove. Pozimi se pri večini sadnih vrst gliva ohrani na odmrlih okuženih poganjkih ter v spečih brstih v obliki micelija in apresorijev. Optimalna temperatura za rast *C. acutatum* je okoli 25 °C. Spomladi se na teh delih razvijejo trosišča s trosi (Peres idr., 2005; Žigon, 2016).

Najpomembnejši preventivni ukrep za preprečevanje vnosa in širjenja bolezni je sajenje zdravega rastlinskega materiala. Pri izbiri dajemo prednost odpornejšim sortam, izogibati pa se je potrebno sajenju na zemljišča, na katerih se je v preteklosti bolezen že pojavila, in upoštevati kolobar. Rastline so za nastanek bolezni najbolj občutljive v času cvetenja in zorenja plodov, zato je takrat priporočljivo zastiranje grebenov s slamo, ki vpija dežne kapljice in tako zmanjšuje možnost prenosa konidijev na neokužene plodove (Žigon, 2016).

### 5.8.3 SIVA PLESEN (*Botrytis cinerea* Pers.)

Siva plesen (*Botrytis cinerea*) je ena izmed gospodarsko najpomembnejših bolezni sadnega drevja, predvsem jagod in grozdja, ki se v različnem obsegu pojavlja v praktično vseh nasadih. Nasploh je siva plesen pogosta bolezen v kmetijski pridelavi, saj se pojavlja na širokem naboru sadnih vrst in poljščin (jagoda, malina, ribez, vinska trta ipd.). Gliva povzroča gnitje plodov, redkeje prizadene druge dele rastline. Plodovi se okužijo že ob cvetenju, do gnitja pa pride v času zorenja plodov. Ob ustreznih razmerah za razvoj bolezni lahko zgnije tudi 80 % ali več plodov (Novljan, 2016).

Preglednica 12: Taksonomska klasifikacija sive plesni (*Botrytis cinerea*) (EPPO, 2020)

Sistemska kategorija	Znanstveno ime
Kraljestvo	Fungi (glive)
Deblo	Ascomycota (zaprtotrosnice)
Razred	Leotiomycetes
Red	Helotiales
Družina	Sclerotiniaceae
Rod	<i>Botrytis</i>
Vrsta	<i>Botrytis cinerea</i>



Največ okužb povzročijo nespolni trosi (konidiji), ki se razvijejo na odmrlih listih in posušenih jagodah - mumijah. Primarne okužbe običajno povzročijo trosi, ki jih v nasad iz okolice zanese veter, saj je gliva splošno razširjena.

Siva plesen na listih sicer ne povzroča večje škode, lahko pa na okuženih listih sporulira (tvori trosi) in se tako širi ter okužuje novo tkivo. Največ trosov nastaja ob visoki relativni zračni vlagi in temperaturah zraka med 15 in 22 °C; pri temperaturah nižjih od 10 °C in višjih od 25 °C pa je tvorba trosov močno zmanjšana. Trosi se širijo po nasadih predvsem s pomočjo vetra ter vode, bodisi z dežjem ali zalivanjem. Da siva plesen okuži rastline, potrebuje visoko relativno zračno vlago ali omočenost rastlin. Okužbe na rastlinah običajno niso vidne, vse dokler se okužena tkiva ne postarajo ali pričnejo zoreti. Do okužbe največkrat pride že v času cvetenja, saj so cvetovi zelo občutljivi. Micelij glive se iz okuženih cvetov razširi v novo nastale sadeže, vendar jih povsem preraste šele v času zorenja, ko se pokažejo tudi bolezenska zamenja, micelij glive pa se lahko razširi še na sosednje zdrave plodove (Novljan, 2016).

Preventivni ukrepi za varstvo pred glivo so predvsem uporaba kapljičnega namakanja in uporaba zastirke, ki zmanjšujejo omočenost rastlin in tako število okužb. Pomembna je uporaba certificiranih in zdravih sadik, ustrezna sadilna razdalja, ki omogoča dobro zračnost med sadikami, ustrezno gnojenje z dušičnimi gnojili – izogibamo se gnojenju med rastjo in zorenjem sadežev ipd. Kemično varstvo izvajamo z botriticidi ob ustreznem času. Ker vemo, da je največ okužb med cvetenjem, je uporaba fungicidov najbolj smotrna v tem času. Siva plesen hitro razvije odpornost na fungicide, zato obvezno izmenično uporabljamo pripravke z različno aktivno snovjo (Novljan, 2016).



Slika 30: Siva plesen na grozdju (levo; Burgess, 2020), plodovih jagode (sredina; Kitemann, 2019) in jablane (desno; CL Xiao, USDA-ARS, 2020)



#### 5.5.4 PLODOVA MONILIJA (*Monilinia fructicola* (Wint.) Honey)

Plodova monilija (*Monilinia fructicola*) je tujerodna vrsta, ki je bila v Evropo vnesena leta 2001. V Sloveniji je bila potrjena leta 2009 (Munda in Viršček-Marn, 2010). Od leta 2013 se iz Goriškega vse bolj širi in pri tem izpodriva druge sorodne povzročiteljice bolezní. Tako je v letu 2016 kar 97 % vzorcev obolelih plodov breskev in nektarin s tega območja okužila *M. fructicola* (Munda, 2016) in le neznamenit delež drugi dve vrsti (*M. laxa* in *M. fructigena*).

Preglednica 13: Taksonomska klasifikacija plodove monilije (*Monilinia fructicola*) (EPPO, 2020)

Sistemska kategorija	Znanstveno ime
Kraljestvo	Fungi (glive)
Deblo	Ascomycota (zaprtotrosnice)
Razred	Leotiomycetes
Red	Helotiales
Družina	Sclerotiniaceae
Rod	<i>Monilinia</i>
Vrsta	<i>Monilinia fructicola</i>



Slika 31: Plodova monilija na češnjah (levo; Tom Creswell, 2018) in na plodu breskve (sredina; Jonas Janner Hamann, 2018)

Plodova monilija povzroča sušenje cvetov in vejic, razjede na lubju ter gnitje plodov. Pri okužbi spomladi cvetovi (prašniki, pestiči, venčni lističi in ostali cvetni deli) in listi porjavijo in ne odpadejo takoj, na okuženih poganjkih se pojavijo rjave nekroze in razjede, iz katerih se pri koščičarjih izloča smolika, kamor se zalepijo suhi cvetovi. V vlažnem vremenu se kasneje na njih pojavijo svetlo rjave do sivkaste prašnate glivne gmote s trosi (sporodohiji). Vrhovi poganjkov se sušijo, propadejo lahko tudi večje veje. Včasih se okoli razjed naredi kalus, ki prepreči širjenje in hitro odmrtnje vejic. V takih razjedah lahko gliva sporulira še več let. Gnili plodovi se posušijo in zgubajo, nastanejo mumije. Bolezen lahko povzroči zelo veliko gospodarsko škodo zaradi gnitja plodov v nasadu pred obiranjem ter kasneje v

skladišču. Brez laboratorijske analize plodove monilije ne moremo ločiti od sadne gnilobe ali cvetne monilije. Najpogostejša je na breskvah in nektarinah, a napada vse koščičarje. Spada med karantenske škodljive organizme (Urbančič Zemljič, 2020).

Povzročiteljske glive preživijo zimo v okuženih in posušeni socvetjih in poganjkih, v pecljih, propadlih in mumificiranih plodovih ali v razjedah na rastlinah. Na mumificiranih plodovih, ki ostanejo v nasadih, se oblikujejo spolna plodišča (apoteciji) z askosporami. Med dežjem se askospore sprostijo in se s kapljicami in vetrom raznašajo naokoli ter povzročajo okužbe. Cvetovi se lahko okužijo takoj, ko pokukajo iz popka, pa vse do odpadanja venčnih listov, vendar so najbolj občutljivi popolnoma odprti cvetovi. Zeleni plodovi so manj podvrženi okužbam, razen če so poškodovani (mehanske poškodbe, poškodbe zaradi žuželk ipd.). Za uspešne okužbe je potrebna vlaga, zato so za izbruh bolezni nevarna predvsem leta s pogostim dežjem. Nevarna so obdobja toplega in vlažnega vremena nekaj tednom pred obiranjem plodov (Urbančič Zemljič, 2020).

Preventivni ukrepi za varstvo pred glivo so predvsem izbor lokacije nasada (prevetrene lege, da se drevje hitro suši), potrebno je odpadle in mumificirane plodove odstraniti iz nasadov, enako velja za okužene veje po rezi, izvajamo zmerno gnojenje z dušikom. Za kemično zatiranje se poslužujemo fungicidov med cvetenjem drevja. Škropljenje je treba opraviti pred napovedanim dežjem. Priporoča se škropljenje drevja že v stadiju balona. V primeru daljšega trajanja cvetenja zaradi nizkih temperatur je treba škropljenje ponoviti še v polnem cvetenju. Če sorte ne cvetijo istočasno, se škropi vsako sorto posebej (Urbančič Zemljič, 2020).

## 6 RASTLINE KOT BIOTIČNO SREDSTVO ZA VARSTVO PRED GLIVIČNIMI BOLEZNIMI

Glivične bolezni predstavljajo velik problem v sadjarstvu. Za zatiranje povzročiteljev bolezni se večinoma uporablja sintetične pripravke, ki pa so škodljivi za okolje in ljudi. Zaradi škodljivosti in večje ozaveščenosti ljudi je uporaba snovi, izoliranih iz rastlin, vse pogostejša. Naravni, biotični pesticidi na rastlinski osnovi so cenejši, bolj dosegljivi ter manj strupeni in škodljivi za okolje od sintetičnih pripravkov.

Številni fungicidi so strupeni in imajo neželene učinke na organizme, ki so prisotni v okolju. Nekateri sintetični pripravki so nerazgradljivi in se lahko zato akumulirajo v tleh, vodi, rastlinah ter tako vplivajo na ljudi. Velik problem je tudi pojav odpornosti patogenih gliv na sintetične fungicide. Zato je čedalje bolj zaželena uporaba ekoloških pripravkov za obvladovanje rastlinskih bolezni. Na splošno med biopesticide uvrščamo naravne produkte, pridobljene iz mikroorganizmov, rastlin, živali in same mikroorganizme (viruse, bakterije, glive, nematode in praživali) (Copping in Menn, 2000).

Mnogo rastlinskih vrst vsebuje snovi, ki imajo antimikotične lastnosti. Te snovi so biorazgradljive in selektivno toksične. Pred letom 1940 so bili že v uporabi rastlinski ekstrakti, vendar so jih kasneje zaradi slabše in počasnejše učinkovitosti nadomestili s sintetičnimi pesticidi. Zmanjšalo pa se je tudi raziskovanje na tem področju, vendar se zaradi osveščenosti ljudi o škodljivosti sintetičnih pesticidov število raziskav povečuje (Choi idr., 2004). Med letoma 1960 in 1981 so pregledali 30 000 rastlin na vsebnost antimikotičnih snovi (Ahmad idr., 2010).

Naravne proizvode bi lahko uspešno uporabljali namesto sintetičnih pripravkov, zato številni raziskovalci iščejo učinkovite naravne snovi. Fitofarmaceutska sredstva na rastlinski osnovi so cenejša, bolj dosegljiva in manj strupena. V uporabi so tudi fungicidi, imenovani strubilurini, ki so izolirani iz glive *Strobilurus tenacellus*. Na trgu obstaja ekstrakt rastline *Reynoutria sachalinensis*, poznan pod imenom Milsana. Ta inducira odpornost kumar in paradižnika na pepelasto plesen (Konstantinidou-Doltsinis idr., 2006). Kljub obsežnim raziskavam je še vedno veliko rastlin, ki niso bile analizirane na prisotnost snovi z antimikotičnimi lastnostmi. Raziskovalci so dobili idejo, da bi lahko plevele in invazivne rastline uporabili kot biopesticide. S tem bi hkrati obvladovali rastlinske bolezni in ekonomsko izkoristili nezaželene rastline (Tapwall idr., 2011).

V raziskavi, ki so jo izvedli Tapwall idr. (2011), so ugotovili antimikotičen učinek pri listnih ekstraktih *Polystichum squarrosum*, *Adiantum venustum*, ameriškem ščetinastem vratiču (*Parthenium hysterophorus*), veliki koprivi (*Urtica dioica*) in navadni konoplji (*Cannabis sativa*). Največji protiglivični učinek so ugotovili pri ekstraktu navadne konoplje, temu je sledil ekstrakt rastline *Parthenium hysterophorus* in velike koprive (Tapwall idr., 2011).

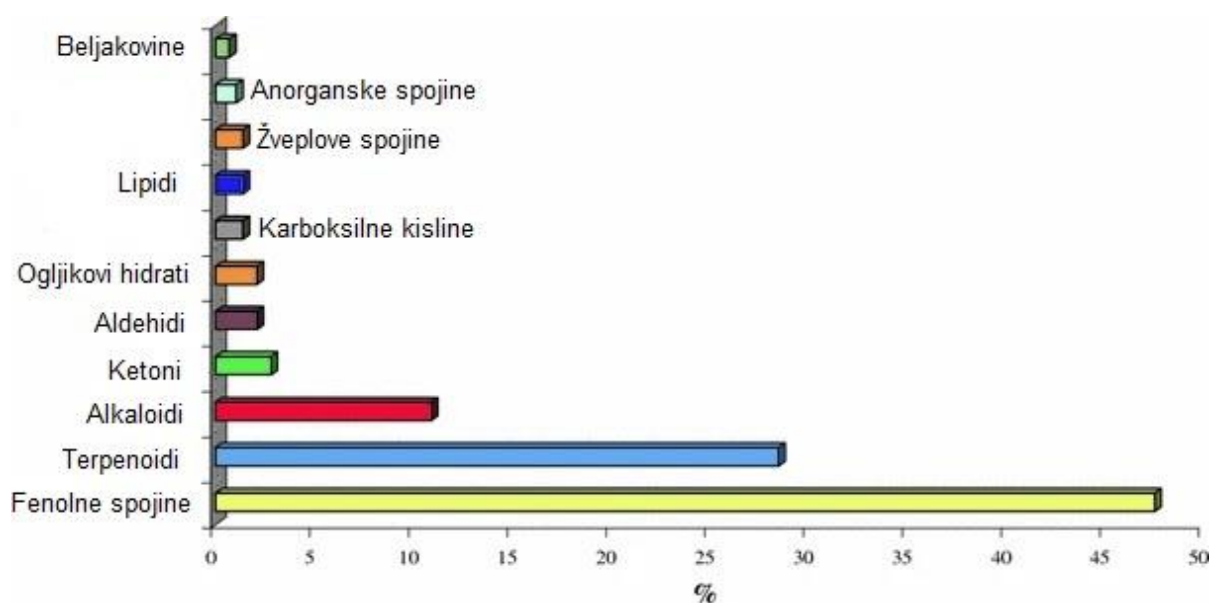
Dellavalle idr. (2011) so ugotovili, da kislinski ekstrakti rožmarina, žajblja in muškatne kadulje vsebujejo učinkovite bioaktivne snovi. Naj bi šlo za proteine, ki pri nizkih koncentracijah zavirajo rast gliv. Shahat idr. (2017) so 16 rastlinam, ki jih v Saudski Arabiji uporabljajo v medicini, preverili antimikotične lastnosti. Metanolni ekstrakt iz rastline *Echium arabicum* je najbolj zaviral rast glive *Fusarium moniliforme*, izmerili so namreč največjo cono inhibicije (Shahat idr., 2017). Ekstrakti rastlin *Cuscuta pedicellata* in *Tribulus terrestris* so v drugi raziskavi pokazali zaviranje rasti gliv *Aspergillus flavus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus fumigatus* (Naz idr., 2017). Izmed 57 preučevanih rastlin so metanolni ekstrakti *Paulownia coreana*, *Rumex acetosella* in *Chloranthus japonicus* pokazali dobro inhibicijo na rast gliv *Corticium sasaki*, *Phytophthora infestans*, *Blumeria graminis*, *Botrytis cinerea*, *Magnaporthe grisea*, *Puccinia recondita* (Choi idr., 2004).

Biopesticidi so snovi naravnega izvora, ki delujejo proti različnim patogenom. Snovi z antimikotičnim delovanjem lahko razdelimo v naslednje skupine: terpenoidi, fenolne spojine, flavoni, flavonoidi in flavonoli, saponini, alkaloidi, kumarini, proteini idr.

Terpenoidi so pokazali antimikotično delovanje proti različnim glivam, kot so *Botrytis cinerea* (povzročiteljica sive plesni), *Phytophthora infestans* (povzročiteljica krompirjeve plesni), *Cladosporium cucumerinum* (povzročiteljica krastavosti kumar), *Magnaporthe grisea* (povzročiteljica sive riževe pegavosti) in *Septoria tritici* (povzročiteljica listne pegavosti pšenice) (Ahmad idr., 2010).

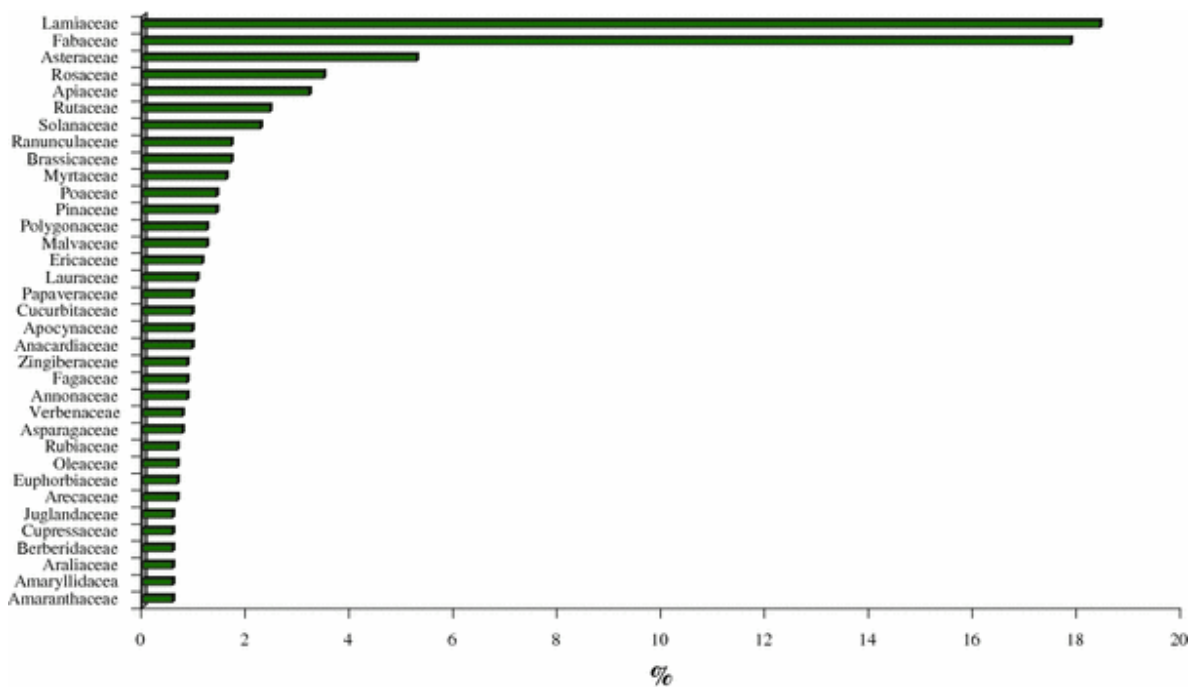
Alkaloidi so naravno prisotne kemične spojine, ki vsebujejo bazični dušikov atom. Ugotovljeno je bilo, da alkaloidi delujejo na različne glive kot so *C. albicans*, *T. mentagrophytes*, *M. canis*, *T. rubrum*, *E. floccosum*, *M. gypseum*, *C. tropicalis*, *A. fumigatus*, *A. flavus* in *A. niger* (Ahmad idr., 2010).

Boulogne idr. (2012) so izvedli raziskavo družin rastlin, ki so bile v literaturi največkrat omenjene z antimikotičnim delovanjem, ter vrste snovi, ki so bile v literaturi največkrat povezane z antimikotičnim delovanjem. Iz pregledanih virov so ugotovili, da ima 284 spojin, razdeljenih v 11 skupin antimikotične lastnosti. Od teh skupin spojin so bile tri najpogosteje citirane, in sicer fenolne spojine (47 % navedenih spojin), terpenoidi (29 % navedenih spojin) in alkaloidi (11 % navedenih spojin) (Slika 32).



Slika 32: Pogostost (%) v literaturi omenjenih skupin spojin v rastlinah z antimikotičnim delovanjem (podatki iz 1965 virov). Največkrat so bile z antimikotičnim delovanjem navedene spojine iz skupine fenolnih spojin (47 %), terpenoidov (29 %) in alkaloidov (11 %) (povzeto po Boulogne idr., 2012)

V raziskavi so Boulogne idr. (2012) ugotovili, da ima 1064 rastlinskih vrst po vsem svetu, razdeljenih v 150 družin, antimikotične lastnosti. Družini rastlin, ki sta najpogosteje citirani z antimikotičnimi lastnostmi, sta *Lamiaceae* in *Fabaceae* in predstavljata 19 % oziroma 18 % vseh preučevanih rastlinskih družin z antimikotičnim delovanjem (Slika 33).



Slika 32: Pogostost (%) v literaturi omenjenih družin rastlin z antimikotičnimi lastnostmi (predstavljene družine rastlin imajo pogostnost omembe v literaturi več kot 1 %) (povzeto po Boulogne idr., 2012)

## 6.1 Antimikotična aktivnost rastlin rodu *Piper*

V podpoglavju so predstavljene dosedanje raziskave na temo antimikotičnih lastnosti različnih rastlinskih delov rastlin rodu *Piper*, s poudarkom na črnem poprovcu (*Piper nigrum*) in plodovih.

Iz raziskave, ki sta jo opravila Mohib in Siddiqui (2007), izvemo, da rezultati poskusov vrst iz rodu *Piper*, kot je *P. cubeba*, *P. chaba*, *P. longum* in *P. nigrum* kažejo, da so izvlečki teh vrst iz rodu *Piper* kazali močne antimikotične aktivnosti (Ounchokdee idr., 2016).

Xu in Li (2011) sta v raziskavi ovrednotila 68 snovi iz 22 vrst rodu *Piper* s potencialnim antimikotičnim delovanjem ter jih razdelila v naslednje skupine: amidi, flavonoidi, derivati benzojskih kislin, lignani in fenilpropanoidi (Xi, Li, 2011).

Jain in Jain (1972) sta ugotovila antimikotično delovanje eteričnih olj iz listov *Piper nigrum* proti glivi *Candida albicans*. Eterična olja so pomembne snovi iz skupine terpenoidov v plodovih črnega popra in imajo antiseptične, antibakterijske in antimikotične lastnosti. Rao in Nigam (1976) pa poročata o podobnem učinku olja iz poprovih listov na rast glive *Aspergillus flavus* (Sparks, 2010). Podobno sta tudi Tantaoui in Beraoud (1994) dokazala inhibitorni učinek eteričnih olj iz poprovih listov pri koncentraciji 0,2–1,0 % na rast micelija glive *Aspergillus parasiticus*. Li idr. (2019) so v raziskavi preučevali vpliv različnih koncentracij eteričnih olj, ekstrahiranih iz belih in črnih plodov *Piper nigrum* na rast gliv *Candida albicans*, *Aspergillus niger* in *Aspergillus flavus*. Določali so minimalno koncentracijo, ki je inhibirala rast gliv (MIC).

Ugotovili so, da imajo vsi ekstrakti negativen učinek na rast gliv. Izvlečki črnih in belih plodov *P. nigrum* so pokazali različne antimikotične aktivnosti. Močno antimikotično delovanje ekstraktov *P. nigrum* lahko pripišemo prisotnosti visokih vsebnosti terpenoidnih spojin, predvsem monoterpenov.

V plodovih rastlin rodu *Piper* so odkrili še druge snovi z antimikotičnimi učinki. V rastlini *Piper betle* L. je antimikotične učinke imela spojina eugenol, v rastlini *Piper nigrum* L. pa so poleg eugenola odkrili še kariofilni oksid ter miristicin (Boulogne idr., 2012).

Akhtar idr. (2014) so preučevali vpliv listnih izvlečkov *Piper nigrum*, ekstrahiranih z vodo, etanolom, metanolom in petroletrom, na inhibicijo rasti glive *Candida albicans* in *Aspergillus* spp. Vsi preizkušeni ekstrakti listov (vodni, etanolni, metanolni in petroleter) so pokazali antimikotično delovanje proti testiranim sevom gliv. V vodnem izvlečku listov so opazili minimalno antimikotično aktivnost. Največja antimikotična aktivnost pa je bila ugotovljena v izvlečkih listov metanola, sledi etanolni izvleček in izvleček listov s petroletrom. Vodni, etanolni, metanolni in petroletrni izvlečki listov *P. nigrum* so pokazali 8,33, 10,00, 12,67, 9,67 mm cono inhibicije na rast glive *Candida albicans*, medtem ko je

11,33, 17,33, 19,67, 15,33 mm območje inhibicije na rast glive *Aspergillus* spp. Ketokonazol, uporabljen kot pozitivna kontrola za ugotavljanje inhibicije rasti gliv, je pokazal 17,33 oziroma 24,67 mm območja inhibicije, medtem ko DMSO, uporabljen kot negativna kontrola za ugotavljanje inhibicije rasti gliv, ni pokazal inhibicije na rast obeh vrst gliv.

Aldaly (2010) je preučeval vpliv piperina, ekstrahiranega iz plodov popra, na rast glive *Candida albicans*. Večja občutljivost glive *Candida albicans* na piperin izhaja iz dejstva, da piperin zavira kopičenje lipidov v kvasovkah.

Bultimea idr. (2012) so preučevali vpliv etanolnega izvlečka plodov črnega popra ter uporabe standarda piperina na rast glive *Aspergillus parasiticus*. Ugotovili so, da je največja koncentracija (200 µg/ml) izvlečka ali standarda povzročila največjo inhibicijo rasti glive. Prav tako so ugotovili, da je minimalna koncentracija, ki je inhibirala 50 % rasti gliv (MIC50), pri izvlečku 68 µg/ml in pri standardu piperina 67 µg/ml. Rezultati so pokazali pomembno antimikotično aktivnost ekstraktov in standarda, kar kaže na to, da bi jih lahko uporabili kot naravne antimikotične učinkovine proti glivam. Izvleček *P. nigrum* je imel najvišjo aktivno vlogo (inhibiral je 78 % rasti gliv) pri koncentraciji 200 µg/ml. Vrednosti MIC50 so pokazale, da je pri uporabi piperina potrebna nižja koncentracija za inhibicijo 50 % rasti glive *A. parasiticus* v primerjavi z izvlečki plodov.

Dheeb (2015) je v svoji raziskavi ugotavljal vpliv ekstrahiranih alkaloidov in fenolnih spojin iz plodov črnega popra na aktivnost nekaterih patogenih gliv. Ugotovili so, da se je odstotek inhibicije rasti gliv razlikoval glede na vrsto glive in vrsto ekstrahiranih spojin (alkaloidi, fenoli). Koncentracija 0,4 mg/ml za alkaloidne je povzročila popolno inhibicijo rasti proučevanih gliv. Minimalna koncentracija, ki je inhibirala rast gliv, je bila 0,002 mg/ml za vse preučevane glive.

Karthikeyan idr. (2019) so v raziskavi preučevali vpliv različnih koncentracij etanolnih ekstraktov (5 mg/ml, 10 mg/ml in 20 mg/ml) plodov črnega popra na rast gliv *Candida albicans*. Ugotovili so, da so vse preučevane koncentracije zavirale rast gliv. Ekstrakt je pokazal dobro antimikotično delovanje pri različnih koncentracijah, ampak z največjo cono inhibicije pri koncentraciji 20 mg/ml. Pri najnižji koncentraciji (5 mg/ml) so tako ugotovili najmanjšo inhibicijo rasti glive *Candida albicans*.

Khan in Siddiqui (2007) sta v raziskavi ugotavljala vpliv plodov *Piper nigrum* na rast gliv *Aspergillus niger*. Za ekstrakcijsko raztopino so uporabili ogljikov tetraklorid, benzen, kloroform, etil acetat, aceton, etanol in destilirano vodo. Rezultati so pokazali, da vsi ekstrakti razen destilirane vode inhibirajo rast gliv (cona inhibicije 5-9 mm), največja cona inhibicije (10-14 mm) pa se je pokazala pri ekstraktu z benzenom.

Ounchokdee idr. (2016) so ugotavljali vpliv različnih koncentracij (100 000 ppm, 10 000 ppm, 1000 ppm in 100 ppm) etanolnih izvlečkov plodov črnega popra na rast patogenih gliv *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides* in *Fusarium oxysporum*. Pri 100 000 ppm je ekstrakt pokazal inhibicijo rasti v območju od 0,7 do 1,0 cm pri vseh preučevanih glivah. Rezultati tega eksperimenta so nakazali, da lahko etanolni ekstrakt črnega popra vsebuje antimikotične aktivne spojine. Poleg tega so preverili še vpliv ekstrahiranih plodov z drugimi topili (petroleter, kloroform, dietileter, etilacetat, aceton in metanol) na rast gliv. Ugotovili so, da so antimikotično delovali samo ekstrakti z dietiletrom in etilacetatom. Dodatno so preverili še vpliv ekstrahiranih plodov s kombinacijami topil v različnih razmerjih in ugotovili, da ima antimikotične učinke samo ekstrakt kombinacije petroleter:kloroform in dietileter:etilacetat.

Pundir in Jain (2010) sta ugotavljala vpliv vodnega, etanolnega in metanolnega ekstrakta listov *Piper nigrum* na rast gliv *Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus luchuensis*, *Aspergillus Flavus*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium oxalicum*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor* sp. in *Scopulariopsis* sp. Ugotovili so, da noben ekstrakt ni pokazal inhibicije rasti preučevanih vrst gliv.

Shanmugapriya idr. (2012) so preučevali vpliv različnih ekstraktov (etilacetat, aceton in voda) listov *Piper nigrum* na rast gliv *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* in *Candida albicans*. Antimikotično aktivnost sta pokazala dva ekstrakta na rast glive *Candida albicans* in *Aspergillus flavus*. Metanolni izvleček je pokazal znatno antimikotično aktivnost, medtem ko so pri izvlečku etilacetata dosegli šibko antimikotično aktivnost tudi pri višjih koncentracijah. Ekstrakti acetona in etilacetata so pokazali zmerno inhibicijo rasti gliv *C. albicans*, *A. niger* in *P. chrysogenum*. V vodnem izvlečku niso opazili inhibicije rasti gliv. Vsi ekstrakti so pokazali dobro aktivnost proti rasti gliv s conami zaviranja v območju od 8 do 18 mm.



## 7 SKLEPI

Črni poprovec (*Piper nigrum* L.) je poznan kot rastlina z mnogimi učinki na ljudi, živali in rastline. Glede na različne načine obdelave plodov ločimo črni, zeleni in beli poper. Sestavo plodov črnega poprovca lahko v splošnem razdelimo v dve skupini. Prva skupina je skupina spojin, ki prispevajo k ostrini, druga pa iz spojin, ki dajejo značilno aromo. K značilni aromi črnega popra prispevajo predvsem eterična olja v plodovih, medtem ko je ostrina posledica prisotnosti alkaloida piperina. Od vseh vrst popra največ eteričnega olja vsebuje črni poper (2 %), sledi mu beli poper (1,5 %), najmanj ga vsebuje zeleni poper (1 %). Od tega največ piperina vsebujeta beli poper in črni poper (3–8 %), najmanj pa ga vsebuje zeleni poper. Piperin je alkaloid, ki ga glede na kemijsko zgradbo uvrščamo v alkaloidno skupino piperidinov. Za piperin so značilne raznolike biološke aktivnosti. Deluje protivnetno, protirakavo, antivirusno, pesticidno, antimikrobno, antidepresivno, antialergijsko ipd. Črni poper ima zaradi prisotnosti nekaterih sekundarnih metabolitov tudi fungicidne ter insekticidne lastnosti in bi se ga zato lahko potencialno uporabljalo pri kontroli rastlinskih bolezni. Največ potenciala na različne biološke dejavnosti imajo alkaloidi iz skupine sekundarnih metabolitov črnega popra, in sicer piperin, pipen, piperamin in piperamidi.

Število raziskav na področju rastlinskih ekstraktov se zaradi osveščenosti ljudi o škodljivosti sintetičnih pesticidov povečuje. Dobro alternativo sintetičnim pesticidom naj bi glede na raziskave predstavljali tudi plodovi črnega popra in njegovi izvlečki.

Poseben problem v sadovnjakih predstavljajo glive in bolezni, ki jih povzročajo. S sintetičnimi pesticidi se da zatreti glivo, vendar lahko ima učinek pogoste in nepravilne uporabe pesticida posledice na biotsko pestrost v sadovnjaku in širši okolici. Zato je čedalje bolj zaželena uporaba ekoloških pripravkov za obvladovanje rastlinskih bolezni. S t. i. biopesticidi, pridobljenimi iz izvlečkov rastlinskih vrst, bi lahko zmanjšali uporabo sintetičnih pripravkov. Iz pregleda literature na temo črnega poprovca in njegovih antimikotičnih lastnosti smo ugotovili, da ima rastlina potencial pri kontroli različnih vrst gliv. Uporaba različnih ekstraktov črnega poprovca bi lahko predstavljala možnost ekološkega pristopa h kontroli patogenih gliv, povzročiteljic bolezni v sadovnjakih, poleg tega pa bi varovali naravo in biološko pestrost v sadovnjakih.

## 8 PREDLOGI NADALJNJEGA DELA

Da bi ugotovili oziroma potrdili učinkovitost posameznih ekstraktov plodov črnega poprovca pri kontroli različnih patogenih gliv, povzročiteljic pomembnejših bolezni v sadjarstvu, bi bilo potrebno na to temo opraviti dodatne raziskave v laboratoriju. V nadaljevanju je na kratko povzeto nadaljnje laboratorijsko delo, s katerim bi lahko preverili zastavljene hipoteze.

Za raziskavo bi uporabili črni, zeleni ter beli poper. Učinkovitost nastalih izvlečkov iz popra bi preizkusili na izbranih patogenih glivah, povzročiteljicah pomembnejših bolezni v sadjarstvu. Postopek bi pričeli z zbiranjem različnih plodov črnega poprovca, glede na obdelavo (črni, beli, zeleni), ki bi jih v mlinčku zmleli v prah. Pred samim poskusom bi bilo potrebno preveriti, da rastlinski material ni okužen, saj to lahko vpliva na raziskavo. Posledično se lahko gliva v laboratoriju okuži, kar bi pokazalo napačne rezultate, zato bi morali biti pogoji dela v laboratoriju sterilni. Poskus bi obravnavali v več ponovitvah, da bi dobili zanesljivejše rezultate. S tem bi se predvsem izognili okuženim vzorcem ali vzorcem, ki kakorkoli nenavadno odstopajo.

Sledila bi izolacija piperina in drugih vrst alkaloidov z uporabo različnih topil in metod, s katerimi bi ugotovili najboljšo kombinacijo ter učinkovitost ekstraktov. Za ekstrakcijo piperidinskih alkaloidov iz plodov črnega poprovca bi uporabili naslednje metode: povratna destilacija, nučiranje in večkratno spiranje matičnice, uporaba rotavaporja, kristalizacija in prekristalizacija. Za preverjanje, da smo z izbranimi ekstrakcijskimi metodami res dobili zelene spojine, lahko ob primerjavi s standardnimi alkaloidi uporabimo TLC kromatografijo. Kemijsko zgradbo piperidinskih alkaloidov bi še dodatno potrdili z različnimi obarjalnimi reakcijami: Dragendorffov test, Mayerjev test, Wagnerjev test in Hagerjev test, ki temeljijo na kolorimetrični detekciji. Ko bi v raztopino reagentov omenjenih testov dodali izoliran ekstrakt določene vrste popra, bi naj nastala oborina značilne barve. Če bi bila oborina pri Dragendorffovem testu oranžna, pri Mayerjevem kremno-bela, pri Wagnerjevem rdeč-rjava in pri Hagerjevem testu rumena, bi dokazali prisotnost piperidinskih alkaloidov (piperin, piperetin, piperanin in piperid). Pri poskusu bi v nadaljevanju pripravili različne koncentracije vodnih izvlečkov alkaloidov. Te bi med seboj primerjali v uspešnosti zatiranja gliv.

Izolate izbranih patogenih gliv bi nacepili na umetna gojišča v petrijevkah. Na gojišča bi nato aplicirali različno pridobljene izvlečke različnih koncentracij različnih plodov popra. Učinkovitost bi preverjali z merjenjem cone inhibicije (merjenje premera rasti glivnega micelija) ali z merjenjem površine razrasti glivnega micelija ter z merjenjem vsebnosti stresnih metabolitov v glivnih micelijih. Ocenili bi tudi stopnjo lipidne peroksidacije preko spektrofotometrične določitve vsebnosti malondialdehida v glivnih micelijih.

Končne rezultate poskusov na posameznih vrstah gliv bi med seboj primerjali. Z njimi bi ugotovili, katera koncentracija izvlečkov najbolj vpliva na rast gliv.

Rezultate naše raziskave bi lahko uporabili v praksi v sadovnjakih. Če bi se rezultati poskusov izkazali kot pozitivni in bi ugotovili, da posamezni ekstrakti vplivajo na rast gliv, bi lahko takšne izvlečke uporabili pri varstvu rastlin v sadjarstvu. Tako bi prispevali k zmanjšanju uporabe sintetičnih pesticidov v sadjarstvu, ki so škodljivi za okolje. V kolikor bi se poskus izkazal kot uspešen, bi v nadaljevanju lahko poskus razširili tudi na več vrst gliv.

Problem, ki bi se lahko pojavil pri raziskavi, je lahko drugačna odzivnost gliv na izvlečke popra v laboratoriju in naravi, saj so v laboratoriju glive pod drugačnimi pogoji, kot so v naravi. Zato bi morali raziskavo razširiti. Preveriti bi bilo tudi potrebno, ali imajo izvlečki kakšen vpliv na rastlino, na katero bi aplicirali izvlečke.

## 9 LITERATURA

- AHMAD, N., FAZAL, H., ABBASI, B. H., FAROOQ, S., ALI, M. in KHAN, M. A. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): a review. V *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (2012). str. 1945-1953.
- AHMAD, I., SHAHID, M., OWAIS, M. in AQIL, F. Combating Fungal Infections: Problems and Remedy. Berlin: Springer Heidelberg Dordrecht London New York, 2010. str. 454-469. ISBN 978-3-642-12172-2.
- AKKTAR, M. W., SENGUPTA, D. in CHOWDHURY, A.: *Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards*. V *Interdisciplinary Toxicology*, (2009), 2, str. 1-12.
- AKTHAR, M. S., BIRHANU, G. in DEMISSE, S. 2014. *Antimicrobial activity of Piper nigrum L. and Cassia didymobotyra L. leaf extract on selected food borne pathogens*. V *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, str. 911-919.
- ALDALY, Z. T. (2010). *Antimicrobial activity of piperine purified from Piper nigrum*. V *Journal of Basrah Research*, 36, str. 54-61.
- ANANDARAJ, M. in SARMA, Y. R.: *Diseases of black pepper (Piper nigrum L) and their Management*. *Journal of Spices & Aromatic Crops*, , 4 (1995), 1, str. 17-23.
- ANISZEWSKI, T. *Alkaloids – secrets of life*. Amsterdam: Elsevier, 2007 (1. izdaja), str. 11-182. ISBN: 978-0-444-52736-3.
- ARSLAN, U., ILHAN, K. in VARDAR, C. *Evaluation of antifungal activity of food additives against soilborne phytopathogenic fungi* V *World J Microbiol Biotechnol*, 2009, 25, str. 537-543.
- BAUTISTA-BAÑOS, S., BOSQUEZ-MOLINA, E. in BARRERA-NECHA, L. L.: *Postharvest decay Control Strategies*. United States of America: Elsevier inc., 2014, str. 239-246. ISBN: 978-0-12-411552-1.
- BOULOGNE, I., PETIT, P., OZIER-LAFONTAINE, H., DESFONTAINES, L. in LORANGER-MERCIRIS, G.: *Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review*. V *Environmental chemistry letters*, 10 (2012), 4, str. 325-347.

- CELAR, A. F.: *Cvetna monilija-Monilinia laxa* (Aderhold &Ruhland.) Honey (FITO-INFO). Dostopno na naslovu: [http://www.fito-info.si/index1.asp?ID=OrgCirs%5COpisiSkod/vsi/mon\\_laxa.htm](http://www.fito-info.si/index1.asp?ID=OrgCirs%5COpisiSkod/vsi/mon_laxa.htm) (10. 12. 2020).
- CELAR, A. F. in CAF, A.: *Gospodarsko pomembne bolezni češenj in drugih koščičarjev*. Spletna stran (Strokovno sadjarsko društvo Slovenije). Dostopno na naslovu: <http://sadjar.si/wp-content/uploads/2016/03/GOSPODARSKO-POMEMBNE-BOLEZNI-%C4%8CE%C5%A0ENJ.pdf> (10. 12. 2020).
- CHARLES, J. D.: *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. New York: Springer, Science+Business Media, 2013, str. 440-460. ISBN 978-1-4614-4310-0 (eBook).
- CHAUDHRY, N. M. A. in TARIQ, P.: *Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates*. V *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19 (2003), 3, str. 214-218.
- CHOI, G. J., JANG, K. S., KIM, J. S, LEE, S.W., CHO, J.Y., CHO, K. Y. in KIM, J. C.: *In vivo antifungal activities of 57 plant extracts against six plant pathogenic fungi*. V *The Plant Pathology Journal*, 3 (2004), str. 184-191.
- CHOPRA, B., DHINGRA, A. K., PRASAD, D. N. in KAPOOR, R. P.: *Piperine and Its Various Physicochemical and Biological Aspects: A Review*. V *Open Chemistry Journal*, 3 (2016), 3, str. 75-87.
- COPPING, L. G. in MENN, J. J.: *Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy*. V *Pest Management Science*, 56, (2000), str. 651-676.
- DAMANHOUR, Z. A. in AHMAD, A.: *A Review on Therapeutic Potential of Piper nigrum L. (Black Pepper): The King of Spices*. V *Medical & Aromatic Plants*, 3 (2014), 161 str.
- DEAN R, JAL, V. K., PRETORIUS Z. A., HAMMOND-KOSACK K.E. in DI PIETRO A.: *The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology*. V *Mol Plant Pathol*, 13 (2012) str. 414-430.
- DELLAVALLE P.D., CABRERA A., ALEM D., LARRAÑAGA P., FERREIRA F. in RIZZA M.D.: *Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungus Alternaria SPP*. V *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71 (2011), str. 231-239.

DHEEB, B. I.: *Antifungal Activity of Alkaloids and Phenols Compounds extracted from black pepper Piper nigrum against some pathogenic fungi*. V *Journal of Biotechnology Research Center*, 9 (2015), str. 46-53.

DOCTOR NDTV: *Black Pepper vs White Pepper: Which One Is Better For You?*. (online) (NTDV) Dostopno na: <https://www.ndtv.com/health/black-pepper-vs-white-pepper-which-one-is-better-1917734> (19. 12. 2020).

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA: 2020. *Alkaloid*. Dostopno na naslovu: <https://www.britannica.com/science/alkaloid> (6. 1. 2021)

EPPO. 2020. EPPO global database. *Monilinia laxa* (Monila). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/MONILA> (6. 1. 2021).

EPPO. 2020. EPPO global database. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/> (10. 1. 2021)

FAO. 2020. Food and Agriculture Organization. Dostopno na naslovu: <http://www.fao.org> (18. 12. 2020).

FENG, Y., DUNSHEA, R. F. in SULERIA, H. *Characterization of bioactive compounds from black spices and their potential antioxidant activities*. V *Journal of Food Science and Technology*, 57 (2020), 1, str. 1-18.

FRANCL, L. J.: *The disease triangle: A plant pathological paradigm revisited*. *Plant Health Instructor* (The American Phytopathological Society), 2001. Dostopno na naslovu: <https://www.apsnet.org/edcenter/instcomm/TeachingArticles/Pages/DiseaseTriangle.aspx> (22. 12. 2020).

FREEMAN, S., KATAN, T. in SHABI, E. *Characterization of Colletotrichum Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits*. V *Plant disease*, 82 (1998), 6, str. 596-605.

HANIF ASIF, M., NAWAZ, H., KHAN MUMTAZ, M. in BYRNE, H. J.: *Medical plan of South Asia*. USA. Elsevier Ltd., 2020, str. 75-84. ISBN: 978-0-08-102659-5.

HESSE, M.: *Alkaloids: Nature's Curse or Blessing?*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002 (1. izdaja), str. 1-350. ISBN: 978-3-906390-24-6.

HAMMOUTI, B., DAHMANI, M., YAHYI, A., ETTOUHAMI, A., MESSALI, M., ASEHRAOU, A., BOUYANZER, A., WARAD, I. in TOUZANI, R.: *Black Pepper, the "King of Spices": Chemical composition to applications*. V *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*, 6 (2019), 1, str. 12-56.

INTERNATIONAL FOOD STANDARDS: *Standard for black, white and green peppers*. V *Codex Alimentarius* (2017), str. 2-6 Dostopno na naslovu: [www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org) (18. 12. 2020).

JAKOŠ, N.: *Vpliv ekstratov navadne konoplje na rast izbranih patogenih gliv*. Diplomsko delo. Biotehniška fakulteta. Oddelek za biotehnologijo, Ljubljana (2018), str. 112

JAIN, S. R. in JAIN, M. R.: *Effect of some common essential oils on pathogenic fungi* V *Planta Med*, 24 (1973), 2, str. 127-132.

KARTHIKEYAN, G., GEETHA, R. V. in THANGAVELU, L.: *Antimitotic activity of Piper nigrum on clinical isolates of candida*. V *International journal of research in pharmaceutical sciences*. 10 (2018), 2, str.1167-1171.

KHAN, M. in SIDDIQUI, M.: *Antimicrobial activity of Piper fruits*. V *Natural Product Radiance*. 6 (2007), 2, str. 111-113.

KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S., MARKELLOU, E., KASSELAKI, A.M., FANUOURAKI, M. N., KOURNAKI, C. M., SCHMITT, A., LIOPA-TSAKALIDIS, A. in MALATHRAKIS, N. E.: *Efficacy of Milsana®<sup>®</sup>, a formulated plant extract from Reynoutria sachalinensis, against powdery mildew of tomato (Leveillula taurica)*. V *BioControl*, (2006), 51, str. 375-392.

KUMAR, S., SINGHAL, V., ROSHAN, R., SHARMA, A., REMBHOTKAR, G. W. in GHOSH, B.: *Piperine inhibits TNF- $\alpha$  induced adhesion of neutrophils to endothelial monolayer through suppression of NF- $\kappa$  and I $\kappa$ B kinase activation*. V *European Journal of Pharmacology*, 575 (2007), 1-3, str. 177-186.

LEADBEATER, A. J.: *Plant health management: Fungicides and Antibiotics*. V *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. Van Alfen N.K. (ur.). London. (2014) Elsevier: str. 408-424.

LI, S., WANG, C., WANG, M., LI, W. in MATSUMOTO, K.: *Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms*, V *Life Science*, 2007, 80, str. 1373-1381.

LI, Y. X., ZHANG, C., PAN, S., CHEN, L., LIU, M., YANG, K., ZENG, X. in TIAN, J. (2020). *Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (Piper nigrum L.) in five provinces of southern China*. str. 9.

MUNDA, A. in GERIČ STARE, B. Glive iz rodu *Colletotrichum*, povzročiteljice antraknoze na sadnem drevju in jagodičevju v Sloveniji. V Zbornik predavanj in referatov 10. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, (2013). str. 57-61.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE: *Piperine*. (online). (NIH). 2020. Dostopno na naslovu: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Piperine> (30. 10. 2020).

NAZ R., AYUB H., NAWAZ S., ISLAM Z.U.I., YASMIN T., BANO A., WAKEEL A, ZIA S. in ROBERTS T.H.: Antimicrobial activity, toxicity and antiinflammatory potential of methanolic extracts of four ethnomedicinal plant species from Punjab, V *Complementary and Alternative Medicine*, 17 (2017), str. 1-13.

NELSON, S. C. in CANNON-EGGER, K. T.: *Farm and Forestry Production and Marketing profile for Black pepper (Piper nigrum)*.(online).Hawai'i. V *Specialty Crops for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources*. 2011. Dostopno na naslovu: <http://agroforestry.net/scps> (10. 11. 2020).

NOVLJAN, M. Siva plesen jagod (*Botrytis cinerea* Pers.). V Kmetijski inštitut Slovenije, (2016). str 3.

OJIMA, I. in IULA, D. M. *New Approaches to the Syntheses of Piperidine, Izidine, and Quinazoline Alkaloids by Means of Transition Metal Catalyzed Carbonylations. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Edited by SW Pelletier. Elsevier Science Ltd, UK, 1999. str. 371-410.

OKWUTE, S. K. in EGHAREVBA, H. O. (2013). *Piperine-type amides: Review of the chemical and biological characteristics*. V *International Journal of Chemistry*, 5(3), str 99.

OUNCHOKDEE, U., RUEANGRIT, S. in DETHOUP, T.: *Antifungal activity profile of Piper longum fruit extract against plant pathogenic fungi*. V *Journal of Biopesticides*, 9 (2016), str. 97.

PATHAK, N. in KHANDLEWAL, S.: *Role of oxidative stress and apoptosis in cadmium induced thymic atropy and splenomegaly in mice*. V *Toxicology Letters*, 169 (2007), 2, str. 95-108.



PERES, N. A., TIMMER, L. W., ADASKAVEG, J. E. in CORRELL, J. C. Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. V *Plant disease*, 89(8), (2005). str. 784-796.

PIYACHATURAWAT, P., GLINSUKON, T. in TOSKULKAO, C. : Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters. *Toxicology letters*, 16 (1983), str. 351-359.

PLEMENKOV, V. V. : *Introduction to the chemistry of natural compounds*. Kazan, 2001, str. 224-255.

PUNDIR, R. K. in JAIN, P.: *Comparative studies on the antimicrobial activity of black pepper (*Piper nigrum*) and turmeric (*Curcuma longa*) extracts*. V *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 1(2010), 2, str. 492-500.

RAVINDRAN, P. N. *Black pepper: Piper nigrum. Medicinal and Aromatic Plants—Industrial Profiles*. Amsterdam: Taylor & Francis e-Library, 2000, str. 38 in 400-460. ISBN: 90-5702-453-5.

SALEHI, B., ZAKARIA, Z. A., GYAWALI, R., IBRAHIM, S. A., RAJKOVIC, J., SHINWARI, Z. K., KHAN, T., SHARIFI-RAD, J., OZLEYEN, A., TURKDONMEZ, E., VALUSSI, M., BOYUNEGMEZ TUMER, T., MONZOTE, F. L., MARTORELL, M. in SETZER, W. N.: *Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications*. V *Molecules*, 24 (2019), 1364, str. 1-118.

SATYAGOPAL, K., SUSHIL, S.N., JEYAKUMAR, P., SHANKAR, G., SHARMA, O. P., SAIN, S. K., BOINA, D. R., CHATTOPADHYAY, D., SUNANDA, B.S., ASRE, R., MURALI, R., KAPOOR, K.S., ARYA, S., KUMAR, S., PATNI, C. S., NARAYANASWAMY, H., KALLESHWARASWAMY, C. M., SRIVASTAVA, P., SINGH, K. P., PATEL, B. R., KHALKO, S., LASKAR, N., ROY, A. in HATH, T.K.: *Black pepper. AESA based IPM package*, (2014), str. 52.

SCHULTZ, H., BARANSKA, M., QUILITZSCH, R., SCHÜTZE, W. in LÖSING, G.: *Characterization of Peppercorn, Pepper Oil, and Pepper Oleoresin by Vibrational Spectroscopy Methods*. V *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2005), 9, str. 3358-3363.

SCOTT, I. M., JENSEN, H. R., PHILOGÈNE, B. J. in ARNASON, J. T.: *A review of Piper spp. (Piperaceae). Phytochemistry, insecticidal activity and mode of action*. V *Phytochemistry Reviews*, 7 (2008), 1, str. 65-75.

- SHAHAT A. A., MAHMOUD E. A., AL-MISHARI A. A. in ALSAID M. S.: Antimicrobial activities of some Saudi Arabian herbal plants. V *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14 (2017), str. 161-165.
- SHOJI T. in HASHIMOTO T. (2015) *Polyamine-Derived Alkaloids in Plants: Molecular Elucidation of Biosynthesis*. Tokio: Springer, 2015 (1. izdaja), str. 189-200. ISBN: 978-4-431-55211-6.
- SINGH, A. in DUGGAL, S.: *Piperine - Review of Advances in Pharmacology*. V *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 2 (2009), 3, str. 615-620.
- SINGH, V. K., SINGH, P., MISHRA, A., PATEL, A. in YADAV, K. KM.: *Piperine: Delightful surprise to the biological world, made by plant "pepper" and a great bioavailability enhancer for our drugs and supplements*. V *World Journal of pharmaceutical research*, 3 (2014), 6, str. 1-15.
- SLAPNIČAR, M. in BOH PODGORNİK, B. *Naravne spojine v živih sistemih –teoretična izhodišča z navodili za laboratorijske vaje*, 1. izdaja, 1. natis, Ljubljana, Pedagoška fakulteta, 2021, ISBN 978-961-253-246-8.
- SPARKS, D. L., *Advances in agronomy*, prva izdaja, New York ELSEVIER Inc., 2004, 82, ISBN: 0 12 000780 0.
- STRANGE, R. N. in SCOTT, P. R. *Plant disease: A Threat to global food security*. V *Annual Review of Phytopathology*, (2005), 3, str. 83-116.
- SUNILA, E. S. in KUTTAN, G.: *Immunomodulatory and Antitumor activity of Piper longum Linn. and Piperine*. V *Journal of Ethnopharmacology*, 90 (2004), 2-3, str. 339-346.
- SUPERFOODLY .2018. *What's a Green Peppercorn? Perhaps Healthier Than Black Pepper*. Dostopno na naslovu: <https://www.superfoodly.com/green-peppercorn/> (20. 12. 2020).
- TAPWALLI, A., NISHA GARG, S., GAUTAM, N. in KUMAR, R.: *In vitro antifungal potency of plant extracts against five phytopathogens*. V *Brazilian Archives of Biology and Technolog*, (2011), 54: str. 1093-1098.
- TIWARI ANSHULY, R., MAHADIK KAKASAHEB, Y. in GABHE, S.: *Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification, and biological properties*. V *Medicine in Drug Discovery*, (2020), 7, str. 1-20.

- TUENTER, E., EXARCHOU, V. in APERS, S. *Cyclopeptide alkaloids*. V *Phytochem Rev*, 16 (2017), str. 623–637.
- URANKAR, M.: *Specialno varstvo rastlin (SVR)*. Biotehniški center Naklo, Strahinj (2010). 121 str.
- URBANČIČ ZEMLJIČ, M. Monilija na mandljih (*Monilinia laxa*, *M. fructicola*, *M. fructigena*). V Kmetijski inštitut Slovenije, (2020). 3 str.
- USDA: *Classification for Kingdom Plantae Down to Species Piper nigrum L.* Dostopno na naslovu: <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PIN13> (10. 12. 2020).
- VASAVIRAMA, K. in UPENDER, M.: *Piperine: A valuable alkaloid from piper species*. V *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (2014), 4, str. 1-6.
- VERMA, M. V.: *Black Pepper: Health Benefits, In Vitro Multiplication, and Commercial Cultivation*. V *Medical Plants: From Farm to Pharmacy*. JOSHEE, N., DHEKNEY A.S., PARAJULI, P. (ur.). Switzerland, Springer Nature Switzerland AG, 2019, str. 111-129. ISBN: 978-3-030-31268-8.
- WADHWA, S., SINGHAL, S. in RAWAT, S.: *Bioavailability Enhancement by Piperine: A Review*. V *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(2014) str. 1-8.
- WARNHOFF, E. W. *Peptide Alkaloids*. Dunaj: Springer, 1970 (1. izdaja), str. 162-203. ISBN: 978-3-7091-7123-3.
- WAYBACK MACHINE. 2012. *Development of systematic names for the simple alkanes*. Dostopno na naslovu: <https://webpace.yale.edu/chem125/125/history99/5Valence/Nomenclature/alkanenames.html> (6. 1. 2021).
- XU, W. H. in LI, X. C. 2011. *Antifungal compounds from Piper species. Current bioactive compounds*, 7(4), str. 262-267.
- ŽIGON, P.: *Cvetna monilija (Monilinia laxa (Aderh. & Ruhland) Honey)*. Kmetijski inštitut Slovenije, (2019). 2 str.
- ŽIGON, P.: *Črna pegavost jagod (Colletotrichum spp.)*. V Kmetijski inštitut Slovenije, (2016). 3 str.

## VIRI SLIK

AGRIPLEX. 2019. Black Pepper. Dostopno na naslovu:

<https://www.agriplexindia.com/index.php/chemical/pesticides/spices/black-pepper.html>  
(9. 12. 2020)

BODIEKO.SI.2010. Opijski mak. Dostopno na: <https://www.bodieko.si/mak> (9. 12. 2020).

BOULOGNE, I., PETIT, P., OZIER-LAFONTAINE, H., DESFONTAINES, L. in LORANGER-MERCIRIS, G.: *Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review*. V *Environmental chemistry letters*, 10 (2012), 4, str. 325-347.

CALVERO. 2007. Chemical structure of tubocurarine (cation part). (Wikipedia). Dostopno na: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tubocurarine.svg> (8. 12. 2020).

CHOPRA, B., DHINGRA, A. K., PRASAD, D. N. in KAPOOR, R. P.: *Piperine and Its Various Physicochemical and Biological Aspects: A Review*. V *Open Chemistry Journal*, 3 (2016), 3, str. 76.

DUFF, D.: *Plant of the Month: Black Pepper*. (West Hawaii Today). Dostopno na naslovu: <https://www.westhawaii.com/2016/02/08/features/plant-of-the-month-black-pepper/> (10. 12. 2020).

EUGEN KÖHLER, F.: *Koka* (online). (Wikipedia). Dostopno na: [Wikipediahttps://sl.wikipedia.org/wiki/Koka](https://sl.wikipedia.org/wiki/Koka) (8. 12. 2020).

GIERE, J.: *Friedrich Wilhelm Adam Sertürner* (online). (Wikipedia). Dostopno na: [https://sl.wikipedia.org/wiki/Friedrich\\_Wilhelm\\_Adam\\_Sert%C3%BCrner](https://sl.wikipedia.org/wiki/Friedrich_Wilhelm_Adam_Sert%C3%BCrner) (8. 12. 2020).

GORGANI, L., MOHAMMADI, M., NAJAFPOUR, G. D. in NIKZAD, M. *Piperine—The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations*. V *Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety*, (2017), 16, str. 124-125.

HARBIN: *2D structure of theobromine* (online). (Wikipedia). Dostopno na: <https://en.wikipedia.org/wiki/Theobromine> (Dostopno na: 8. 12. 2020).

KEW SCIENCE. 2017. *Piper nigrum* l Dostopno na naslovu:

<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:682369-1> (11. 12. 2020)

- NATIONAL PARKS BOARD. 2013. *Piper nigrum*. NParks Flora & Fauna Web. National Parks Board, Singapore. Dostopno na naslovu: <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/6/8/6862>. (10. 12. 2020).
- NEEM'O'HOLICH, M.: *Cvetna Monilija*. (onlne). (ekopridelava.si). Dostopno na: <https://www.ekopridelava.si/post/cvetna-monilija> (12. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2007. Coniin (Wikipedia). Dostopno na: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coniin\\_-\\_Coniine.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coniin_-_Coniine.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2007. Structure of morphine. (Wikipedia). Dostopno na naslovu: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Morphin\\_-\\_Morphine.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Morphin_-_Morphine.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2008. Efedrin (Wikipedia). Dostopno na naslovu: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:\(-\)-Ephedrin.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:(-)-Ephedrin.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2008. Piperidin. *Wikipedia* [online]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Piperidin> (7. 1. 2021).
- OJIMA, I. in LULA, D. M.: *New Approaches to the Syntheses of Piperidine, Izidine, and Quinazoline Alkaloids by Means of Transition Metal Catalyzed Carbonylations. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. UK. Elsevier Science Ltd, 1999, str. 374 ISBN: 9780080427973.
- OKWUTE, S. K. in OMOREGIE EGHAREVBA, H. Piperine-Type Amides: Review of the Chemical and Biological Characteristics. V *International Journal of Chemistry*, 5 (2013), 3, str. 109-110.
- PERES, N. A., TIMMER, L. W., ADASKAVEG, J. E. in CORRELL, J. C. Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. V *Plant disease*, 89 (2005), 8, str. 784-796
- PITORAC, D.: *Monilia laxa*. (EPPO Global Database). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/MONILA/photos> (18. 12. 2020).
- SATYAGOPAL, K., SUSHIL, S. N., JEYAKUMAR, P., SHANKAR, G., SHARMA, O. P., SAIN, S. K., BOINA, D. R., CHATTOPADHYAY, D., SUNANDA, B. S., ASRE, R., MURALI, R., KAPOOR, K.S., ARYA, S., KUMAR, S., PATNI, C.S., NARAYANASWAMY, H., KALLESHWARASWAMY, C. M., SRIVASTAVA, P., SINGH, K. P., PATEL, B. R., KHALKO, S., LASKAR, N., ROY, A. in HATH, T. K.: *AESA based IPM package for Black Pepper*. National Institute of Plant Health Management, Rajendranagar (2014), 38 str.

SUNRIDIN: *Theophylline* (online). (Wikipedia). Dostopno na naslovu:

<https://en.wikipedia.org/wiki/Theophylline> (8. 12. 2020).

THOMAS, L. M. in GANGADHATA NAIK, B.: *Survey for the Incidence of Foot Rot of Black Pepper Caused by Phytophthora capsici Leonian in Shivamogga and Chickmagalur Districts of Karnataka State. V International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 5 (2017), 1, str. 296.

TNAU AGRITECH PORTAL.2015. *Crop protection*. Dostopno na naslovu:

[https://agritech.tnau.ac.in/crop\\_protection/pepper\\_diseases\\_3.html](https://agritech.tnau.ac.in/crop_protection/pepper_diseases_3.html) (11. 12. 2020).

WIKIPEDIA.2007. Chemical structure of epinephrine (adrenaline). Dostopno na

naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Adrenalin> (8. 12. 2020).

WIKIPEDIA.2007. Cocaine-2D-skeletal. Dostopno na:

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cocaine-2D-skeletal.svg> (10. 12. 2020).

WIKIPEDIA.2008. Nicotine. Dostopno na naslovu:

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nicotine-2D-skeletal.png> (8. 12. 2020).

YIKRAZUU, L.: *Loline core structure* (online). (Wikipedia). Dostopno na:

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Loline\\_core\\_structure.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Loline_core_structure.svg) (9. 12. 2020).

## VIRI PREGLEDNIC

- EPPO. 2020. EPPO global database. *Monilinia laxa* (Monila). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/MONILA> (6. 1. 2021).
- EPPO. 2020. EPPO global database. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/> (10. 1. 2021).
- EPPO. 2020. EPPO global database. (*Colletotrichum acutatum*). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/COLLAC> (6. 1. 2021).
- EPPO. 2020. EPPO global database. (*Botrytis cinerea*). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/BOTRCI> (6. 1. 2021).
- EPPO. 2020. EPPO global database. (*Monilinia fructicola*). Dostopno na naslovu: <https://gd.eppo.int/taxon/MONIFC> (6. 1. 2021).
- FENG, Y., DUNSHEA, R. F. in SULERIA, H. *Characterization of bioactive compounds from black spices and their potential antioxidant activities*. V *Journal of Food Science and Technology*, 57(2020), 1, str.1-18.
- OJIMA, I. in LULA, D. M.: *New Approaches to the Syntheses of Piperidine, Izidine, and Quinazoline Alkaloids by Means of Transition Metal Catalyzed Carbonylations. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. UK. Elsevier Science Ltd, 1999, str. 374 ISBN: 9780080427973.
- NEUROTIKER. 2007. Coniin (Wikipedia). Dostopno na: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coniin\\_-\\_Coniine.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coniin_-_Coniine.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2007. Structure of morphine. (Wikipedia). Dostopno na naslovu: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Morphin\\_-\\_Morphine.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Morphin_-_Morphine.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2008. Efedrin (Wikipedia). Dostopno na naslovu: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:\(-\)-Ephedrin.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:(-)-Ephedrin.svg) (8. 12. 2020).
- NEUROTIKER. 2008. Piperidin. *Wikipedia* [online]. Dostopno na spletnem naslovu: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Piperidin> (7. 1. 2021).
- USDA: *Classification for Kingdom Plantae Down to Species Piper nigrum L.* Dostopno na naslovu: <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PIN13> (10. 12. 2020).
- YIKRAZUU, L.: *Loline core structure* (online). (Wikipedia). Dostopno na: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Loline\\_core\\_structure.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Loline_core_structure.svg) (9. 12. 2020).

## ZAHVALA

K tej projektni nalogi sva pristopili predvsem zaradi zanimanja za področje biotehnologije in kemije.

Zahvaljujemo se svoji šolski mentorici Darji Rizmal, prof. kem., biol., ki naju je vzpodbujala pri delu in pomagala, če se je kaj zapletlo.

Prav tako se zahvaljujemo zunanjsima mentorjema:

- (1) asist. Mihi Slapničarju, prof. kem., biol. (UL PEF) in
- (2) asist. Mateju Vošnjaku, mag. inž. hort. (UL BF), ki sta naju sprejela pod svoje okrilje, za vso pomoč pri usmerjanju in popravljanju projektne naloge ter svetovanju.

Zahvaljujemo se tudi Gimnaziji in veterinarski šoli BIC Ljubljana, ker je omogočila sodelovanje s Pedagoško in Biotehniško fakulteto Univerze v Ljubljani. Sprva načrtovana raziskava z eksperimentom se je zaradi neugodnih okoliščin epidemije COVID-19 preoblikovala v kvalitetno teoretično-raziskovalno nalogo. Iz zbranih teoretičnih izhodišč je v nadaljevanju mogoče zasnovati tudi eksperimentalni del, katerega izvirni rezultati bi nedvomno pripomogli k novim spoznanjem na področju kemije naravnih spojin in biotehnologije.

Teoretična raziskovalna naloga je bila opravljena v sklopu ERASMUS+ projekta z naslovom *Diversity in Science towards Social Inclusion – Non-formal Education in Science for Students` Diversity (DiSSI)*, ki poteka v sodelovanju s Centrom KemikUm Pedagoške fakultete Univerze v Ljubljani.