

<https://doi.org/10.18778/8220-012-6.13>

ROZDZIAŁ XIII. **ALLELOPATIA**
WPŁYW METABOLITÓW WTÓRNYCH
NA KIEŁKOWANIE NASION
I WZROST SIEWEK

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Rośliny wyższe konkurują w ekosystemie między sobą o wodę, światło i składniki pokarmowe. Zjawisko chemicznej rywalizacji między roślinami nosi nazwę **allelopatii**. Związki chemiczne uczestniczące w oddziaływaniu pomiędzy roślinami nazywane są związkami allelopatycznymi. **Związki allelopatyczne** to niskocząsteczkowe metabolity wtórne lub ich pochodne. Wydzielane przez **rośliny-donory** wpływają na **rośliny-akceptory**, modyfikując ich wzrost i rozwój. Przedostają się do środowiska na drodze:

- 1) przechodzenia do gleby związków powstających w procesie rozkładu tkanek roślinnych, np. kwasy kofeinowy i ferulowy, pochodzące z obumierających pędów orlicy pospolitej, izotiocyjaniany i nityle – produkty hydrolizy glukozynolanów;
- 2) ługowania z naziemnych części roślin przez deszcz i rosę, np. prekursor juglonu z liści orzecha włoskiego; związki fenolowe, takie jak hydrochinon, umbeliferon; kwasy hydroksycynamonowe, np. ferulowy, kumarowy; kwasy hydroksybenzoesowe, np. waniliowy, syringowy; kumaryny, garbniki i alkaloidy, np. absyntyna, charakterystyczna dla bylicy piołunu;
- 3) eksudacji przez system korzeniowy, np. produkty hydrolizy glukozynolanów, prekursor juglonu – kwas (*E*)-cynamonowy, wydzielany przez meksykański krzew gumodajny;
- 4) uwalniania w formie lotnej do atmosfery i przedostające się z niej na powierzchnię roślin i gleby, głównie lotne terpeny, np. 1,8-cyneol (eukaliptol), kamfora, α - i β -pinen, α -tujon, izotujon. Terpenoidy emitowane są szczególnie w okresie utrzymywania się wysokiej temperatury powietrza, następnie kondensują na powierzchni gleby, hamując wzrost roślin i kiełkowanie nasion w odległości nawet do 2 m od wydzielających je roślin.

Allelopatia ma duże znaczenie w formowaniu zbiorowisk roślinnych o określonym składzie florystycznym i tłumaczy inwazyjność niektórych gatunków roślin obcego pochodzenia. Związki allelopatyczne oraz tkanki roślin zawierające ich prekursory mają znaczenie w hodowli roślin. Szczególne zainteresowanie budzą w tzw. rolnictwie ekologicznym jako **bioherbicydy**. Oddziaływania allelopatyczne mogą również przybierać formę autotoksyczności, dotyczącej roślin tego samego gatunku wielopokoleniowo zasiedlających określony obszar lub też uprawianych bez płodozmianu.

Oddziaływanie związków allelopatycznych na rośliny ma charakter wielomiejscowy (por. tabela 13.1). Podstawowym wskaźnikiem działania związków allelopatycznych jest **zahamowanie kiełkowania nasion i wzrostu siewek**.

Tabela 13.1.

Wpływ związków allelopatycznych na rośliny

Efekty działania związków allelopatycznych	
Poziom molekularny i biochemiczny	<ul style="list-style-type: none"> – spadek syntezy DNA, RNA oraz białek strukturalnych, – spadek aktywności enzymów, – wzrost syntezy białek związanych z reakcją na stres, – akumulacja osmoprotektorów, np. proliny
Poziom strukturalny	<ul style="list-style-type: none"> – zmiany ultrastruktury komórkowej, – zahamowanie mitozy
Poziom fizjologiczny	<ul style="list-style-type: none"> – zaburzenia fotosyntezy i oddychania mitochondrialnego, – zaburzenia procesu pobierania jonów, – zaburzenia procesu wzrostu i rozwoju rośliny

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

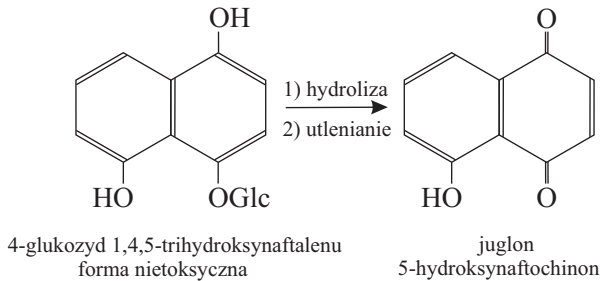
Cel ćwiczenia

Określenie wrażliwości wybranych gatunków roślin na związki allelopatyczne obecne w:

- a) wyciągach z liści orzecha włoskiego i słonecznika oraz pędów rzeżuchy,
- b) eksudatach z pęczniejących nasion pomidora, słonecznika, kozieradki i owsa,
- c) olejkach eterycznych naowocni pomarańczy słodkiej i szyszkojagód jałowca pospolitego.

Reakcja na związki allelopatyczne będzie oceniana na podstawie ich wpływu na kiełkowanie nasion i wzrost siewek roślin-akceptorów. Korzenie i liście orzecha włoskiego wydzielają

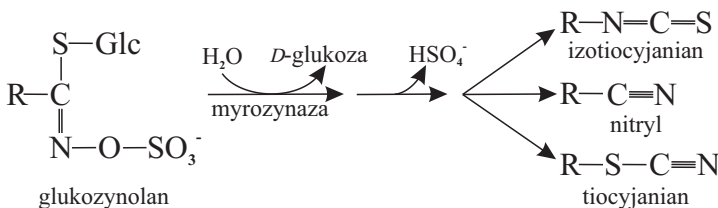
4-glukozyd 1,4,5-trihydroksynaftalenu, który na drodze hydrolizy i utlenienia przekształcany jest w glebie do wykazującego właściwości allelopatyczne 5-hydroksynaftochinonu (juglon) (por. rysunek 13.1).



Rysunek 13.1.
Powstawanie fitotoksycznego juglonu z nieaktywnego prekursora

Tkanki słonecznika zwyczajnego są źródłem kilkunastu związków o aktywności allelopatycznej, które należą do: laktonów seskwiterpenowych, bisnorseskwiterpenów i flawonoidów.

Rzeżucha należy do grupy roślin syntetyzujących **glukozy-nolany**. W tkankach produkujących je roślin glukozy-nolany zawsze współwystępują (w oddzielnych kompartmentach) z enzymem myrozynazą (tioglukozydo glukohydrolaza, EC 3.2.3.1), tworząc wielofunkcyjny **system obronny glukozy-nolan-myrozynaza**, uruchamiany w momencie uszkodzenia struktury komórkowej. Efektem działania tego systemu jest hydroliza glukozy-nolanów i powstanie bioaktywnych produktów, głównie izotiocyjanianów (por. rysunek 13.2).



Rysunek 13.2.
Schemat hydrolizy glukozy-nolanów i formowanie bioaktywnych pochodnych w uszkodzonych i rozkładających się tkankach roślin zawierających system glukozy-nolan-myrozynaza

Okrywy nasienne i owocowo-nasienne ziarniaków zbóż są bogate w związki fenolowe i alkaloidy o właściwościach allelopatycznych, uaktywniające się podczas pęcznienia i kiełkowania. W eksudatach pęczniących nasion pojawiają

się kwasy organiczne, u niektórych gatunków roślin również śluzu i saponiny.

Naowocnia pomarańczy słodkiej zawiera 1–2,5% olejku lotnego, w którego skład wchodzi **terpeny cykliczne**, w tym limonen o zapachu pomarańczowym (90%), cytral i β -pinen.

Szyszkogody jałowca zawierają 0,5–2% olejku lotnego, którego głównym składnikiem są terpeny, w tym β -pinen, kamfenen i kadinen, oraz seskwiterpeny, wśród nich kamfora jałowcowa i juneol. Składnikami bioaktywnymi szyszkogodów są także diterpeny, garbniki i flawonoidy.

Zasada metody

Allelopatyczny efekt działania związków obecnych w wyciągach roślinnych, eksudatach kielkujących nasion i olejkach eterycznych na kiełkowanie nasion i wzrost siewek oceniany jest za pomocą biotestu (testu biologicznego z udziałem organizmów żywych) wykonanego w warunkach laboratoryjnych.

Doświadczenie I

Badanie allelopatycznego wpływu wyciągów z liści orzecha włoskiego i słonecznika oraz pędów rzeżuchy na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Materiał

liście orzecha włoskiego, liście słonecznika, dwutygodniowe rośliny rzeżuchy siewnej, nasiona ogórka i rzodkiewki, ziarniaki pszenicy

Odczynniki

1,5% roztwór agaru (150 cm³), woda destylowana

Sprzęt laboratoryjny

12 szalek o średnicy 9 cm, 3 mieszadła magnetyczne, waga elektroniczna, nożyczki, 6 zlewek 250 cm³, cylinder miarowy 250 cm³, 4 cylindry miarowe 50 cm³, 3 sitka, 4 kolby Erlenmeyera wąskoszyjne 250 cm³, pęsety stomatologiczne, pęsety krótkie, łopatki, parafilm, tace, linijki 30 cm, cienkie rękawiczki gumowe, markery

Wykonanie doświadczenia

1. Przygotowanie wyciągów

Liście orzecha włoskiego i słonecznika oraz pędy rzeżuchy pociąć nożyczkami na bardzo drobne kawałki (założyć rękawiczki), z każdego materiału odważyć po 10 g, przenieść do opisanych zlewek na 250 cm³, zalać 150 cm³ wody destylowanej, zlewki umieścić na mieszadle magnetycznym na 24–48 godzin. Następnie tkanki roślinne odsączyć na sitku i odrzucić, a wodne wyciągi wykorzystać do przeprowadzenia biotestu.

2. Przeprowadzenie biotestu

a) Przygotować 12 szalek o średnicy 9 cm i opisać poszczególne warianty jako:

kontrola → ogórek; kontrola → rzodkiewka; kontrola → pszenica

orzech → ogórek; orzech → rzodkiewka; orzech → pszenica

słonecznik → ogórek; słonecznik → rzodkiewka; słonecznik → pszenica

rzeżucha → ogórek; rzeżucha → rzodkiewka; rzeżucha → pszenica

b) W kolbie Erlenmeyera na 250 cm³ zmieszać 35 cm³ wody destylowanej z 35 cm³ 1,5% agaru (~50°C). Otrzymany agarowy roztwór rozlać po 20 cm³ do 3 szalek opisanych jako „kontrola”.

W kolbie Erlenmeyera na 250 cm³ zmieszać 35 cm³ wyciągu z liści orzecha włoskiego z 35 cm³ 1,5% agaru (~50°C), otrzymany agarowy roztwór rozlać po 20 cm³ do 3 szalek opisanych jako „orzech”. Analogicznie przygotować szalki z wyciągiem z liści słonecznika („słonecznik”) i pędów rzeżuchy („rzeżucha”).

c) Odstawić szalki do zestalenia agaru.

d) Posługując się pęsetą, wysiać po 10 nasion ogórka i rzodkiewki oraz 10 ziarniaków pszenicy do szalek kontrolnych i zawierających badane wyciągi (zgodnie z opisem w pkt. 2a), szalki zakryć, zalepić parafilmem, odstawić do ciemnego pomieszczenia hodowlanego na 7 dni.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach policzyć % skielkowanych nasion, zmierzyć i uśrednić długość korzeni i pędów siewek, opisać wygląd siewek, wyniki pomiarów przedstawić w tabelach 13.2a, 13.2b, 13.2c.

Tabela 13.2a. Wpływ wyciągu z liści orzecha na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności wyciągu z liści orzecha		
	Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Tabela 13.2b. Wpływ wyciągu z liści słonecznika na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności wyciągu z liści słonecznika		
	Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Tabela 13.2c. Wpływ wyciągu z nasion gorczyca na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności wyciągu z pędów rzeżuchy		
	Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Doświadczenie II

Badanie allelopatycznego wpływu eksudatów z pęczniejących nasion pomidora, słonecznika i kozieradki oraz ziarniaków owsa na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Materiał

nasiona ogórka, rzodkiewki, pomidorów, kozieradki, słonecznika, ziarniaki pszenicy i owsa

Odczynniki

1,5% roztwór agaru (200 cm³)

Sprzęt laboratoryjny

15 szalek o średnicy 9 cm, waga elektroniczna, 8 zlewek 100 cm³, 4 cylindry miarowe 50 cm³, 4 sitka, 5 kolb Erlenmeyera wąskoszyjnych 250 cm³, pęsety stomatologiczne, pęsety krótkie, łopatkę, parafilm, taca, linijki 30 cm, markery

Wykonanie doświadczenia

1. Przygotowanie eksudatów

Odważyć po 15 g nasion pomidora, słonecznika, kozieradki i ziarniaków owsa oraz pszenicy, przenieść do opisanych zlewek na 100 cm³, zalać 45 cm³ wody destylowanej, zlewki umieścić w ciemności na 24–48 godzin. Następnie nasiona i ziarniaki odsączyć na sitku i odrzucić, a wodne eksudaty wykorzystać do przeprowadzenia biotestu.

2. Wykonanie biotestu

- a)** Przygotować 15 szalek o średnicy 9 cm i odpowiednio opisać poszczególne warianty jako:
- kontrola → ogórek; kontrola → rzodkiewka; kontrola → pszenica
 - pomidor → ogórek; pomidor → rzodkiewka; pomidor → pszenica
 - słonecznik → ogórek; słonecznik → rzodkiewka; słonecznik → pszenica
 - kozieradka → ogórek; kozieradka → rzodkiewka; kozieradka → pszenica
 - owies → ogórek; owies → rzodkiewka; owies → pszenica

b) W kolbie Erlenmeyera na 250 cm³ zmieszać 35 cm³ wody destylowanej z 35 cm³ 1,5% agaru (~50°C), otrzymany agarowy roztwór rozlać po 20 cm³ do 3 szalek opisanych jako „kontrola”.

W kolbie Erlenmeyera na 250 cm³ zmieszać 35 cm³ eksudatu z nasion pomidora z 35 cm³ 1,5% agaru (~50°C), otrzymany agarowy roztwór rozlać po 20 cm³ do 3 szalek opisanych jako „pomidor”. Analogicznie przygotować szalki z eksudatem z nasion słonecznika („słonecznik”), kozieradki („kozieradka”) i ziarniaków owsa („owies”).

c) Odstawić szalki do zestalenia agaru.

d) Posługując się pęsetą, wysiać po 10 nasion ogórka, pszenicy i rzodkiewki do szalek kontrolnych i zawierających badane eksudaty (zgodnie z opisem w pkt. 2a), szalki zakryć, zalepić parafilmem, odstawić do ciemnego pomieszczenia hodowlanego na 7 dni.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach policzyć % skielkowanych nasion, zmierzyć i uśrednić długość korzeni i pędów siewek, opisać wygląd siewek, wyniki pomiarów przedstawić w tabelach 13.3a, 13.3b, 13.3c, 13.3d.

Tabela 13.3a. Wpływ eksudatu z nasion pomidora na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności eksudatu z nasion pomidora		
	Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skielkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Tabela 13.3b. Wpływ eksudatu z nasion słonecznika na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności eksudatu z nasion słonecznika		
	Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Tabela 13.3c. Wpływ eksudatu z nasion kozieradki na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności eksudatu z nasion kozieradki		
	Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Tabela 13.3d. Wpływ eksudatu z ziarniaków owsa na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Gatunek	Kontrola			Nasiona kiełkujące w obecności eksudatu z ziarniaków owsa		
	Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]		Skiełkowane nasiona [% wysianych]	Wielkość siewek [cm]	
		Korzeń	Pęd		Korzeń	Pęd
Ogórek						
Pszenica						
Rzodkiewka						

Doświadczenie III

Badanie allelopacyjnego wpływu olejków eterycznych naowocni pomarańczy i szyszkojagód jałowca na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz wzrost korzeni siewek ogórka, rzodkiewki i pszenicy

Materiał

olejek eteryczny pomarańczowy i jałowcowy, nasiona ogórka i rzodkiewki, ziarniaki pszenicy

Sprzęt laboratoryjny

9 słoików o średnicy 9 cm, wełna mineralna (9 sześciątów o krawędzi 3 cm, wyciętych nożem z bloku wełny mineralnej), zlewka 1000 cm³, 9 krążków bibuły filtracyjnej o średnicy 7 cm, pęsety stomatologiczne, bandaż szerokości 10 cm, taca głęboka, linijki 30 cm, markery

Wykonanie doświadczenia

1. Sześciąny z wełny mineralnej włożyć do zlewki, zalać wodą destylowaną do momentu dokładnego nasączenia.
2. Przygotować 9 słoików o średnicy 9 cm, opisać poszczególne warianty jako:
kontrola → ogórek; kontrola → rzodkiewka; kontrola → pszenica
pomarańcza → ogórek; pomarańcza → rzodkiewka; pomarańcza → pszenica
jałowiec → ogórek; jałowiec → rzodkiewka; jałowiec → pszenica
3. Na spodniej stronie wieczka wszystkich słoików położyć sześciąt z wełny mineralnej dokładnie nasączony wodą destylowaną. Przygotować 9 kawałków bandaża z gazy o rozmiarze 10 × 30 cm.
4. Za pomocą pęsety stomatologicznej w położone na wieczkach sześciąny wełny mineralnej (zgodnie z opisem słoików w pkt. 1b) wbijać kolejno po 10 nasion ogórka, 10 nasion rzodkiewki i 10 ziarniaków pszenicy.
5. Na dnie każdego słoika położyć krążek bibuły filtracyjnej (zgodnie z opisem słoików w pkt. 1b), na każdy z krążków nanieść odpowiednio po 5 kropli olejku eterycznego

pomarańczowego lub jałowcowego, w wariacie kontrolnym nie nakrapiać.

6. Sześciany wełny mineralnej przykryć kawałkiem bandaża, unieść wieczko i zwisające końce bandaża naprężyć w taki sposób, aby bandaż docisnął sześcian wełny z nasionami do wieczka, następnie odwrócić i zakręcić wieczko.
7. Tak przygotowane słoiki umieścić na głębokiej tacy napełnionej wodą destylowaną, zwisające wzdłuż brzegów słoików końce bandaża zanurzyć w wodzie. Tacę ze słoikami odstawić na 7 dni do oświetlonego pokoju hodowlanego, codziennie kontrolować poziom wody na tacy. Nie dopuścić do wysuszenia bandaża.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach policzyć % skielkowanych nasion, zmierzyć długość korzeni siewek, opisać wygląd siewek, wyniki pomiarów przedstawić w tabeli 13.4.

Wariant	Parametr	Ogórek	Pszenica	Rzodkiewka
Kontrola	Skielkowane nasiona [% wysianych]			
	Długość korzeni siewek [cm]			
Olejki eteryczne szyszkogagód jałowca	Skielkowane nasiona [% wysianych]			
	Długość korzeni siewek [cm]			
Olejki eteryczne naowocni pomarańczy	Skielkowane nasiona [% wysianych]			
	Długość korzeni siewek [cm]			

Zinterpretować wyniki przeprowadzonych doświadczeń.

Wyciągnąć wnioski dotyczące zróżnicowanego wpływu:

- a) ekstraktów z liści orzecha włoskiego i słonecznika zwyczajnego oraz pędów rzeżuchy,
- b) eksudatów z pęczniejących nasion pomidora, słonecznika, kozieradki i ziarniaków owsa,

Tabela 13.4. Wpływ olejków eterycznych szyszkogagód jałowca i naowocni pomarańczy na kiełkowanie nasion

- c) olejków eterycznych z naowocni pomarańczy i szyszko-
jagód jałowca na kiełkowanie nasion i ziarniaków oraz
wzrost siewek ogórka, pszenicy i rzodkiewki.

Zwrócić uwagę na różnice wrażliwości badanych gatunków
oraz organów (korzenie i pędy) na działanie analizowanych
związków allelopatycznych.

Literatura

Kopcewicz J., Lewak S. (red.), *Fizjologia roślin*, Wydawnictwo
Naukowe PWN, Warszawa 2019.

Kozłowska M. (red.), *Fizjologia roślin. Od teorii do nauk sto-
sowanych*, PWRiL, Warszawa 2007.

Lewak S., Kopcewicz J., Jaworski K., *Fizjologia roślin. Wpro-
wadzenie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa
2019.