



# Biotechnologia szansą dla zastosowania allelopatii jako alternatywnej metody zwalczania chwastów

Agnieszka Gniazdowska

Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Rolnictwa i Biologii,  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

## Biotechnology – a chance for using allelopathy as alternative weed management strategy

### Summary

Plants (crops and weeds) affect each other through allelochemicals, which may be released from living and dead organisms. Due to an increase in the number of herbicide –resistant weeds and herbicides' negative effect on the environment, there is an effort being made to design alternative weed management strategies. Allelopathic studies offer a challenge for a discovery of new compounds with new target side that may be able to control weeds. Crops producing allelochemicals can interfere with competing weeds sufficiently enough to allow significant reductions in the use of other weed management options, including synthetic herbicides. Some attempts enhancing the allelopathic potential of crops (rice, sorghum, barley and wheat) to control weeds are presented.

### Adres do korespondencji

Agnieszka Gniazdowska,  
Katedra Fizjologii Roślin,  
Wydział Rolnictwa  
i Biologii,  
Szkoła Główna  
Gospodarstwa Wiejskiego,  
ul. Nowoursynowska 159,  
02-776 Warszawa;  
e-mail:  
agnieszka\_gniazdowska@  
sggw.pl

### Key words:

allelopathy, allelochemicals, herbicide, weed management.

## 1. Wstęp – Czym jest allelopatia?

Wzajemne oddziaływania pomiędzy roślinami są znane i obserwowane od wieków, jednak dopiero Hans Molish w 1937 r. zdefiniował to zjawisko, wprowadzając pojęcie allelopatii. Określiła ono interakcje występujące w układach: rośliny-rośliny, rośliny-mikroorganizmy oraz mikroorganizmy-mikroorganizmy. Są to

oddziaływania biochemiczne o charakterze zarówno szkodliwym jak i korzystnym (1). Na pierwszym światowym kongresie allelopatii w 1996 r. rozszerzono tę definicję i uznano, że allelopatia to zjawisko, w którym zaangażowane są wtórne metabolity, wytwarzane przez rośliny, mikroorganizmy i grzyby, wpływające na wzrost i rozwój systemów biologicznych i rolniczych. Związki allelopatyczne (allelopatyny) są to produkty metabolizmu wtórnego rośliny-donora, które po dostaniu się do środowiska oddziałują na znajdujące się w sąsiedztwie rośliny-akceptory. Działanie allelopatin ujawnia się na wszystkich poziomach organizacji żywego organizmu: od fizjologicznego przez komórkowy, po molekularny, a pod względem chemicznym obejmują one różnorodne związki organiczne. Są wśród nich występujące w formie gazowej terpeny:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, kamfen, cyneol obecne np. w tkankach bylic (rośliny z rodzaju *Artemisia*) (2), jak też skomplikowane, wielopierścieniowe seskwiterpenoidy-heliannany np. heliannuole, laktony seskwiterpenów np. annuolid F ze słonecznika (*Helianthus annuus*) (3). Główne klasy związków allelopatycznych zostały szczegółowo omówione w pracach przeglądowych Vyvyan (4) oraz Singh i wsp. (5). Wydzielanie związków allelopatycznych do środowiska może odbywać się na różnej drodze: uwalniania lotnych substancji (ewaporacja); wymywania (ługowanie) przez wodę z opadów atmosferycznych, wodę irygacyjną lub rosę; wydzielania przez system korzeniowy (eksudacja); rozkładu obumarłych części roślin. Poszczególne drogi dostawiania się związków allelopatycznych do środowiska zostały omówione w pracach w języku polskim, m.in. przez Wójcik-Wojtkowiak i wsp. (6) oraz Gniazdowską i wsp. (7). Nagromadzone w glebie związki allelopatyczne pochodzą zarówno od roślin uprawnych, roślin dziko rosnących, chwastów, jak też mogą być metabolitami mikroorganizmów glebowych.

## 2. Allelopatia chwastów

Od drugiej połowy XX w. wzrosło zainteresowanie oddziaływaniami allelopatycznymi między chwastami i roślinami uprawnymi. Dostarczano coraz więcej dowodów, że rośliny uprawne i chwasty wprowadzają do środowiska związki chemiczne, które mogą być toksyczne zarówno dla nich samych, jak również dla innych gatunków (6). Pojawiło się szereg doniesień wskazujących, że niekorzystny wpływ zachwaszczenia na uprawy jest związany nie tylko z konkurencją o światło, wodę i związki mineralne, ale także może być wynikiem produkowania przez chwasty allelopatin działających jako inhibitory wzrostu i rozwoju roślin uprawnych. Rośliny należące do rodzaju *Artemisia* to chwasty, występujące powszechnie w Azji, Europie i Ameryce Północnej. Bylica pospolita (*A. vulgaris*) stanowi jeden z największych problemów w szkółkach we wschodnich Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej (8). Posiada zdolność do wytwarzania silnego systemu korzeniowego i jest odporna na herbicydy, a także toleruje powtarzające się koszenie. Z kolei *A. campestris*, *A. annua*, *A. herba alba* i *A. princeps* var. *orientalis* tworzą gęste monokultury (9,10). Przyczyną

tego zjawiska może być zdolność tych roślin do syntezy dużych ilości olejków eterycznych w specjalnych gruczołach zlokalizowanych na powierzchni liści. Wykazano w nich obecność kamfory, kamfenu, cyneolu, a także artemizyniny. Zarówno liście jak i wodne ekstrakty *Artemisia* silnie hamują wzrost roślin uprawnych. Także gleba pobrana z miejsc zajmowanych przez bylice hamuje wzrost i rozwój wielu gatunków roślin oraz grzybów mikorytycznych. Nie poznano, jak dotąd, molekularnego podłoża oddziaływań tych substancji, jednakże wydaje się, że charakteryzują się mechanizmami działania, różnymi od mechanizmów działania typowych dla komercyjnych herbicydów (11).

Wulpia mysi ogon (*Vulpia myuros*) pochodząca z krajów śródziemnomorskich stała się inwazyjnym chwastem Australii. Powoduje dotkliwe straty w plonach i jakości zbóż, a walka z nią jest utrudniona z uwagi na niewrażliwość na większość syntetycznych herbicydów, ponadto pozostałości tej rośliny wykazują znaczną toksyczność (12). W wodnych ekstraktach z resztek *V. myuros*, zidentyfikowano 20 aktywnych związków, m.in. katechol, pirogallol, alkohol koniferylowy, kwasy benzoesowy, bursztynowy, hydrocynamonowy, salicylowy, protokatechusowy, wanilinowy, syringowy, *p*-hydroksybenzoesowy, dihydroferulowy, *p*-kumarowy, dihydrokawowy, ferulowy. Allelopatyny obecne w dużej ilości, np kwasy: syringowy, wanilinowy, bursztynowy wykazują niską aktywność allelopatyczną, podczas gdy te obecne w małych ilościach: kwas hydrocynamonowy, katechol wykazują wysoką aktywność inhibitorową. Na podstawie wyników z przeprowadzonych eksperymentów wskazuje się, że w oddziaływaniu allelopatycznym u wulpi o wiele większe znaczenie ma mieszanina związków allelopatycznych i powstające efekty addytywne lub/i synergistyczne niż pojedyncze, bardzo aktywne allelopatyny (13).

Okazuje się, że agresywność perzu właściwego (*Agropyron regens*) wynika nie tylko z konkurencji, ale ma również podłoże chemiczne. W wydzielinach korzeniowych tej rośliny zidentyfikowano szereg allelopatin, m.in. kwasy: wanilinowy, 4-hydrocynamonowy, ferulowy, protokatechusowy, syringowy, a także kwasy hydroksamowe np. DIBOA (2,4-dihydroksy-1,4(2H)benzoksazyn-3-on), dla których obserwowano najwyższą aktywność allelopatyczną (14).

Euroazjatyckie gatunki z rodzaju *Centaurea* zachwaszczają zarówno pastwiska jak i pola uprawne Ameryki Północnej i Południowej. Chaber plamisty (*C. maculosa*) inwazyjny chwast w zachodniej Ameryce Północnej wytwarza mieszaninę stereoisomerów (+)-katechinę i (-)-epikatechinę, gromadzące się w glebie wokół korzeni. Katechina hamuje rozwój i wzrost rodzimych gatunków traw Ameryki Północnej, a rośliny na nią wrażliwe reagują śmiercią komórek, postępującą od wierzchołka korzenia (15).

Badania nad rolą allelopatii w inwazyjnym sukcesie niektórych chwastów mogą pozwolić na skonstruowanie w przyszłości genetycznie zmodyfikowanych roślin uprawnych, które będą odporne na allelopatyny wydzielane przez chwasty. Teoretycznie, możliwe jest wprowadzenie do genomu roślin uprawnych takich genów, których produkty będą brały udział w procesie enzymatycznej detoksykacji allelopatin, na które gatunki uprawne są obecnie wrażliwe.

### 3. Allelopatyny w walce z chwastami

Walka z zachwaszczeniem upraw w 2 połowie XX w. w dużej mierze opierała się na stosowaniu syntetycznych herbicydów. Wzmożone użycie syntetycznych herbicydów w rolnictwie spowodowało jednak wzrost liczby roślin odpornych na stosowane środki ochrony i zagrożenie środowiska wynikające z nagromadzenia się chemikaliów w glebie i wodach. Heap (16) podaje, że 177 gatunków chwastów (106 dwuliściennych i 71 jednoliściennych) podległo ewolucji prowadzącej do uzyskania odporności na herbicydy. W Australii życica (*Lolium rigidum*), pospolity i niezwykle agresywny chwast wykazuje odporność na herbicydy 9 głównych grup (16). Podobna odporność na herbicydy charakteryzuje także: owies głuchy (*Avena fatua*), szarłat szorstki (*Amaranthus retroflexus*), komosę białą (*Chenopodium album*), włośnicę zieloną (*Setaria viridis*), chwastnicę jednostronną (*Echinochloa crus-galli*), manneczkę piaskową (*Eleusine indica*), mietelnik żakulę (*Kochia scoparia*) oraz przymiotło kanadyjskie (*Conyza canadensis*) (17). Nabycie przez chwasty odporności na herbicydy, definiowanej jako naturalna zdolność do przeżycia i reprodukcji po zastosowaniu letalnej dla innych roślin tego samego gatunku dawki herbicydu, stwarza konieczność szukania innych – ekologicznych sposobów ograniczania i zwalczania zachwaszczenia. W krajach członkowskich Unii Europejskiej dokonuje się przeglądu środków ochrony roślin, którego celem jest upewnienie się, że bezpieczeństwo środków ochrony roślin dla ludzi, zwierząt i środowiska oceniane jest na podstawie nowoczesnych standardów wynikających z aktualnego stanu wiedzy. Szacuje się, że efektem tego działania będzie zmniejszenie o około 60% liczby obecnie stosowanych substancji aktywnych. Wśród środków, które wycofuje się ze sprzedaży znajdują się herbicydy zawierające następujące substancje aktywne: atrazynę, benazolinę, bromacyl, cyanazynę, cykloat, dichloroprop, dimefuron, fluoroglikofen, imazapyr, imazetapyr, metobromuron, napalam, prometrynesetoksydym, symazynę, terbacyl, terbutrynę (17).

Mechanizm działania syntetycznych herbicydów dotyczy hamowania podstawowych procesów życiowych rośliny. Herbicydy hamują proces fotosyntezy (wśród nich można rozróżnić: inhibitory transportu elektronów, fosforylacji fotosyntetycznej, akceptacji elektronów), proces oddychania, różnorodne procesy biosyntezy (dotyczy to biosyntezy kwasów tłuszczowych i lipidów, aminokwasów i białek), podziały komórkowe i wzrost merystemów. Istnieje też grupa herbicydów o działaniu zbliżonym do naturalnej auksyny. Kompleksowy opis mechanizmów działania większości stosowanych herbicydów syntetycznych znajdzie zainteresowany czytelnik w obszernym opracowaniu w języku polskim (17). Istnieje jednak pilna potrzeba stworzenia nowych herbicydów spełniających warunki stawiane idealnym środkom ochrony roślin, takie jak: efektywność (w dawkach około 500 mg/ha) i szerokie spektrum działania, odporność na deszcz, elastyczność terminu aplikacji i wysoki poziom bezpieczeństwa (brak działania rakotwórczego i toksycznego dla ludzi i zwierząt), niskie koszty produkcji (18). Ogromna różnorodność allelopatin występują-

cych w tkankach roślinnych, jak się wydaje, może być podstawą do konstruowania na ich bazie herbicydów. Spośród znanych allelopatin, które mogłyby być użyte jako naturalne herbicydy należy wymienić: chinony – juglon i sorgoleon; monoterpeny – 1,8 cyneol i jego analog cinmetylinę, uważaną za pierwszy dostępny na rynku alleloherbicyd; laktony seskwiterpenów: artemizininę i dehydrozalizaninę C (4) (rys.). Tym bardziej, że biochemiczny mechanizm działania tych allelopatin jest w dużej mierze poznany (11,19-21). Stąd, wykorzystanie ich do walki biologicznej z chwastami wzbudza coraz większe zainteresowanie (8,22-24). Od lat w rolnictwie zachowawczym stosowane są „konwencjonalne” metody zwalczania chwastów oparte na allelopatii. Polegają one na: 1) zastosowaniu roślin allelopatycznych jako źródła naturalnych środków ochrony roślin: w postaci wyciągów, ekstraktów, wyłuczyn, np. ze słomy, posprzętnych pozostałości rośliny allelopatycznej w systemie bezorkowym, rotacji upraw (zmianowanie), upraw z wsiewką; 2) tradycyjnej metodzie selekcji i hodowli roślin uprawnych, które będą wygrywały konkurencję z chwastami dzięki wysokiemu potencjałowi allelopatycznemu. Genotypy ogórka, ryżu, sorgo i jęczmienia są selekcjonowane w celu wzmocnienia zdolności do syntezy metabolitów wtórnych, odpowiadających za hamowanie wzrostu i rozwoju chwastów. Jednak, jak na razie, próby te nie dały komercyjnie zadowalających efektów (25,26).

Wraz z rozwojem biotechnologii (biologii molekularnej i chemii organicznej) otwiera się jednocześnie nowa szansa dla podniesienia efektywności i skuteczności allelopatii stosowanej jako alternatywna metoda ochrony roślin. Koncepcje wykorzystania obserwowanych w naturze oddziaływań allelopatycznych dotyczą: 1) izolacji i produkcji allelopatin o charakterze herbicydów z roślin, w których metodami inżynierii molekularnej doprowadzono do zwiększonej syntezy tych allelopatin; 2) konstruowania transgenicznych roślin uprawnych zdolnych do produkcji allelopatin działających jako herbicydy; 3) syntezy herbicydów o strukturze chemicznej naturalnych allelopatin.

#### **4. Próby określenia molekularnych podstaw potencjału allelopatycznego niektórych roślin uprawnych**

Do najintensywniej badanych roślin uprawnych charakteryzujących się wysokim potencjałem allelopatycznym należą ryż (*Oryza sativa*) i sorgo (*Sorghum bicolor*). Przebadano wiele odmian i linii ryżu pod kątem oddziaływań tej rośliny uprawnej na wzrost pospolitych chwastów (27). Podczas wieloletnich badań nad allelopatią ryżu doprowadzono do identyfikacji dużej liczby związków chemicznych produkowanych przez tę roślinę i obecnych w jej wydzielinach korzeniowych: momilacton B (28), rezorcynole, flawony, benzoksazolinony, cykloheksanony i pochodne glikozydowe (29). Ze względu na mnogość allelopatin wydzielanych przez różne odmiany ryżu, jak się wydaje, trudno mówić o konkretnym związku odpowiedzialnym za allelopatię tej rośliny. Dodatkowo, z uwagi na obecność tak wielu związków allelo-

patycznych w tkankach ryżu ich działanie może być synergistyczne lub addytywne. Jednak sklonowanie kompletnego genomu ryżu (30,31) dało możliwość identyfikacji genów związanych z produkcją najważniejszych allelopatin ryżu. Xu i wsp. (32) zidentyfikowali gen kodujący syntazę difosforanu syn-kopalylu odgrywającą główną rolę w syntezie momilactonu. Dayan i wsp. (33) zidentyfikowali enzym uczestniczący w tworzeniu pochodnych rezocynolowych obecnych w wydzielinach korzeniowych ryżu. Udało się im też zidentyfikować 8 sekwencji odpowiadających potencjalnym genom kodującym ten enzym. Jednym ze związków magazynowanych w dużych ilościach w tkankach ryżu jest również kwas *p*-kumarowy. Hydrolaza kwasu cynamonowego (CA4H) enzym katalizujący przekształcenie kwasu cynamonowego do *p*-kumarowego odgrywa główną rolę w biosyntezie związków fenolowych u roślin. Zaobserwowano, że aktywność CA4H jest indukowana przez światło UV (34). Użyto zatem specyficznego promotora CASC aktywowanego przez światło UV w celu skonstruowania transgenicznego ryżu, u którego można będzie regulować syntezę fenylpropanoidów za pomocą światła UV (35).

Podjęto również próby zmapowania *loci* cech ilościowych odpowiedzialnych za potencjał allelopatyczny ryżu (26,36). Bach-Jansen i wsp. (26) badali *loci* cech ilościowych (QTLs) allelopatii ryżu w populacji 142 lini rekombinantów powstałych z krzyżowania dwóch odmian ryżu różniących się znacząco potencjałem allelopatycznym w stosunku do *E. crus-galli*, wybrano odmianę IAC 165 o wysokim potencjale allelopatycznym i odmianę CO 39 o niskim potencjale allelopatycznym. Zbadano 140 markerów genetycznych i zidentyfikowano cztery QTLs rozmieszczone na trzech chromosomach. Dwa spośród zidentyfikowanych QTLs są zlokalizowane na chromosomie 3 i, jak się wydaje, są stosunkowo łatwe do manipulacji. Z kolei analiza RFLP (polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych) przeprowadzona przez Ebana i wsp. (37) pozwoliła na identyfikację siedmiu QTLs cechy allelopatii u ryżu, rozmieszczonych na sześciu chromosomach. W tym przypadku wariacja fenotypowa wynosiła od 9,4 do 16,1%. Podobną próbę identyfikacji *loci* cech ilościowych allelopatii u pszenicy (*Triticum aestivum*) wykonali Wu i wsp. (38). Zbadali oddziaływania allelopatyczne pszenicy w stosunku do *L. rigidum*. Użyli 271 linii podwójnych haploidów otrzymanych z roślin pszenicy o wysokim i niskim potencjale allelopatycznym. Zaobserwowano różnice w aktywności allelopatycznej otrzymanych podwójnych haploidach określane jako procent hamowania wzrostu korzenia chwastu, kształtujące się w granicach 23,7-88,3%. Na podstawie analizy RFLP, AFLP (polimorfizm długości amplifikowanego fragmentu) i SSRs (mikrosatelitarny polimorfizm krótkich tandemowych powtórzeń) wykonano identyfikację dwóch QTLs allelopatii pszenicy rozmieszczonych na chromosomie 2. Potencjał allelopatyczny pszenicy podobnie jak ryżu i żyta związany jest głównie z biosyntezą kwasów hydroksamowych, takich jak DBOA (2,4-dihydroksy-1,4(2H)benzoksazyn-3-on), DIMBOA (2,4-dihydroksy-7-metoksy-1,4-benzoksazyn-3-on) i benzoksazolinonów BOA (2(3H)-benzoksazolinon), MBOA (6-metoksy-2(3H)-benzoksazolinon) (rys.) (39).

Największą przyszłość, jak się wydaje, ma sorgo jako źródło allelopatin i potencjalny przedmiot manipulacji biotechnologicznych. Zaobserwowano, że sorgoleon



(rys.) jest wydzielany przez komórki włósnikowe korzeni sorgo do ryzosfery. Wydzieliny korzeniowe sorgo zawierają około 85-90% czystego sorgoleonu, a stężenie tego związku w glebie na której rośnie sorgo dochodzi do  $10^{-5}$ - $10^{-4}$  M (19). Sorgoleon stosowany dolistnie w stężeniach podobnych jak atrazyna ( $0,6 \text{ kg ha}^{-1}$ ) hamował wzrost 14-dniowych siewek różnych jedno- i dwuliściennych chwastów (40). Podobnie, przedsiewne stosowanie sorgoleonu było toksyczne dla większości chwastów (41). Yang i wsp. (42) wykorzystując dwa różne systemy uprawy roślin sorgo, w których udało się uzyskać siewki sorgo nie wykształcające włósników (nie syntetyzujące sorgoleonu) i wykształcające prawidłowe włósniki (zdolne do biosyntezy sorgoleonu) zidentyfikowali gen *SOR1* warunkujący syntezę sorgoleonu. Dayan i wsp. (43) zidentyfikowali nie znaną dotąd desaturazę kwasów tłuszczowych, która może być odpowiedzialna za unikatowy wzorzec rozmieszczenia nienasyconych wiązań w łańcuchu alifatycznym cząsteczki sorgoleonu. Białko *SOR1* będące produktem genu *SOR1* pod względem sekwencji aminokwasowej wykazuje podobieństwo do desaturaz omega-3 kwasów tłuszczowych występujących u ryżu i pszenicy (42). Obecnie trwają prace nad testowaniem funkcji genu *SOR1* w *Arabidopsis thaliana*. Być może, podstawą w wyjaśnieniu roli genu *SOR1* w kreowaniu potencjału allelopatycznego sorgo będą doświadczenia prowadzące do uzyskania roślin tego gatunku z nadekspresją lub wyciszeniem genu *SOR1*. Identyfikacja genu *SOR1* może stać się kamieniem milowym w zastosowaniu allelopatii jako alternatywnej metody zwalczania chwastów.

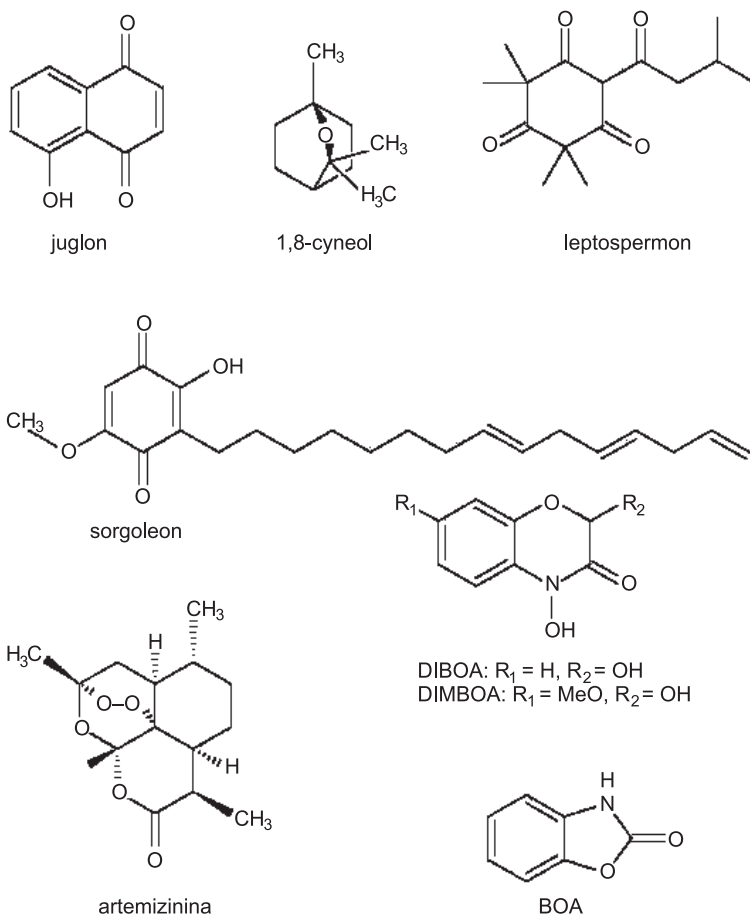
Próby genetycznych manipulacji prowadzących do zwiększenia syntezy allelopatin w roślinach, jak na razie pozostają niestety na poziomie badań wstępnych. Jednak należy pamiętać, że metody inżynierii molekularnej mogą być niezwykle przydatnym narzędziem w uzyskiwaniu ekologicznych herbicydów opartych na związkach allelopatycznych. Konieczne jest ponadto prowadzenie interdyscyplinarnych badań, które obok identyfikacji związków allelopatycznych i genów odpowiedzialnych za cechy allelopatyczne będą dotyczyły określenia mechanizmów działania allelopatin i reakcji roślin na ich obecność w środowisku.

## **5. Allelopatyny jako podstawa dla opracowania struktury nowych herbicydów**

Słonecznik (*H. annuus*) wykazuje silne działanie allelopatyczne w stosunku do wielu roślin uprawnych i pospolitych chwastów (44). Z tkanek tej rośliny wyizolowano ponad 100 różnych związków (niektóre charakterystyczne tylko dla słonecznika, np. heliannany i heliespirany) wykazujących działanie podobne do syntetycznych herbicydów. Zespół biochemików z pracowni Maciasa stosując słonecznik jako roślinę modelową podjął próby opracowania nowych herbicydów w oparciu na badaniach zależności pomiędzy strukturą związku allelopatycznego a jego funkcją fizjologiczną w roślinie akceptorze. Taką strategię można by nazwać „podpatrywaniem

przyrody” (44). Została ona szczegółowo przedstawiona w polskim opracowaniu Maciasa i wsp. (45). Podobnie, chemiczne modyfikacje allelopatin, takich jak kostunolidy: kostunolacton i cynaropikryna, produkowanych w tkankach kostusa (*Saussurea lappa*) oraz karczocha (*Cynara scolymus*) pozwoliły na uzyskanie ponad 20 różnych pochodnych, wykazujących aktywność herbicydową w stosunku do *L. rigidum* i *E. crus-galli* wyższą niż syntetyczny Logran (46). Szczególnie aktywne okazały się pochodne oksyetanolaktonowe otrzymane w wyniku modyfikacji kostunolaktonu (46).

Przykładem skutecznego wdrożenia do praktyki rolniczej wyników badań nad działaniem allelopatin jest mezotrion (2-[4-(metylosulfonylo)2-nitrobenzoilo]cykloheksano-1,3-dion) (nazwa produktu Callisto), herbicyd opracowany przez firmę Syngenta AG, używany do zwalczania chwastów w uprawach kukurydzy. Jest to synte-



Rys. Wzory strukturalne niektórych allelopatin, mogących znaleźć zastosowanie jako naturalne herbicydy.



tyczna pochodna leptospermonu (rys.) syntetyzowanego przez korzenie kuflika cytrynowego (*Callistemon citrinus*) (47). Związek ten został odkryty przypadkowo, gdy jeden z biologów firmy Syngenta zauważył, że w jego przydomowym ogródku pod *C. citrinus* nie rosną inne rośliny. Zafascynowany tą obserwacją pobrał próbki gleby spod *C. citrinus* i rozpoczął proces identyfikacji substancji odpowiadającej za to zjawisko, a następnie zsyntetyzował jej pochodne. Próby wykonane z użyciem czystego leptospermonu nie były obiecujące, widoczny efekt hamowania wzrostu pospolitych chwastów obserwowano przy bardzo wysokiej dawce allelopatyny, wynoszącej 9000 gramów na hektar. Dopiero w przypadku mezotrionu (2-[4-(metylosulfonylo)2-nitrobenzoilo]cykloheksano-1,3-dion) będącego pochodną leptospermonu wykazano wysoką skuteczność jako herbicydu stosowanego w dawkach 75-225 gramów na hektar (47). Od 2000 r. Callisto jest dopuszczony do użycia w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej oraz niektórych krajach Europy w tym również w Polsce. Jest to przypadek świetnie ilustrujący możliwość wykorzystania allelopatii do uzyskiwania środków ochrony roślin, bezpiecznych dla ludzi i środowiska naturalnego. Jednocześnie cyjanamid oraz jego sole (głównie cyjanamid wapnia) są syntetycznymi związkami stosowanymi od ponad stu lat jako nawozy i herbicydy, jednak dopiero w ostatnim czasie obecność tego związku została wykazana w tkankach wyki kosmatej (*Vicia villosa*) (48). Roślina ta jest obecnie testowana w sadach i na polach ryżowych Japonii jako naturalna ochrona przed chwastami (49).

## 6. Ryzyko związane z zastosowaniem allelopatii w praktyce rolniczej

### 6.1. Ewolucyjne wykształcanie odporności chwastów na allelopatyny

Podobnie jak w przypadku nabywania przez rośliny odporności na syntetyczne herbicydy nie można wykluczyć możliwości nabycia przez rośliny (chwasty) odporności na allelopatyny. Przykład chabra *C. diffusa* wskazuje, że jego pozycja jako rośliny inwazyjnej w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej jest związana prawdopodobnie z wrażliwością roślin amerykańskich na wydzielane allelopatyny. W Europie natomiast, skąd pochodzi, nie wykazuje takiej ekspansywności, co więcej rośliny europejskie cechuje znacznie niższa wrażliwość na wydzielaną przez niego katechinę (50). Na podstawie dotychczasowych danych zebranych na przykładzie *C. diffusa* sugeruje się, że w toku ewolucji może dochodzić do nabywania przez rośliny odporności na allelopatyny (50,51). Jednak proces ten, nie jest raptowny. Jego szybkość zależy od wielu czynników m.in. presji selekcyjnej. Presja selekcyjna wywołana przez allelopatyny z jednej strony, może mieć charakter ciągły i szeroki, co sprzyjałoby nabywaniu odporności, jednak z drugiej, relatywnie niski poziom efektywności znanych allelopatin w warunkach polowych, obniża rzeczywistą szansę na ewolucję tej odporności (52). Dodatkowo, fakt że większość allelopatin działa na różne procesy

fizjologiczne i na różnych poziomach organizacji komórkowej również obniża prawdopodobieństwo nabycia takiej odporności.

## 6.2. Problemy związane z wprowadzaniem genów allelopatii

Próby konstrukcji transgenicznych roślin zdolnych do syntezy allelopatin napotykają na wiele trudności. Jedną z nich jest obecność w roślinie, substratu dla enzymu będącego produktem genu warunkującego potencjał allelopatyczny. Nawet, jeżeli substrat jest w tkance, zwiększenie potencjału allelopatycznego rośliny może być utrudnione z powodu zjawiska autotoksyczności. Unikanie autotoksyczności polega na detoksykacji i/lub magazynowaniu allelopatin, np. w wakuolach. Kolejną barierę stanowi tkankowo/komórkowo specyficzna biosynteza allelopatin, wymagająca użycia do transformacji promotora warunkującego ekspresję wprowadzonego genu w ściśle określonych komórkach, np. włosnikach lub komórkach wydzielniczych, tak aby możliwe było wydzielanie allelopatiny do środowiska i by nie była ona obecna w plonie rolniczym. Ponadto, manipulacje genetyczne prowadzące do zwiększenia syntezy allelopatin mogą doprowadzić do niekorzystnych zmian we wzroście i rozwoju rośliny (ograniczony wzrost, obniżone plonowanie), a nadmierna produkcja metabolitów wtórnych może obniżyć wartość smakową plonu. Nie można pominąć faktu, że zastosowanie transgenicznych roślin allelopatycznych może wywołać bezpośrednie zagrożenie dla ludzi związane z działaniem produktów wprowadzonych genów jako alergenów lub potencjalnymi zmianami jakie mogą być przez nie wywołane w środowisku. Wydaje się jednak, że ewentualne wzmoczenie cechy allelopatycznej w roślinach uprawnych takich jak np. ryż czy sorgo nie powinno nieść za sobą niebezpieczeństwa dla zdrowia ludzkiego, ponieważ zróżnicowanie stosowanych odmian pod względem potencjału allelopatycznego waha się od skrajnie niskiego do bardzo wysokiego. Co najważniejsze, rośliny, które pozostają w centrum uwagi biotechnologów, np. sorgo zdolne są do syntezy allelopatin w wyspecjalizowanych tkankach lub komórkach, dzięki czemu nie odnajduje się allelopatin w plonie rolniczym wykorzystywanym do produkcji pożywienia.

## 7. Podsumowanie

Poznanie biochemicznych i molekularnych mechanizmów oddziaływań allelopatycznych pomiędzy roślinami oraz genetycznego podłoża warunkującego potencjał allelopatyczny stanowi podstawę zastosowania allelopatii w rozwijającym się rolnictwie zrównoważonym. Izolacja, określenie struktury chemicznej allelopatin oraz wyjaśnienie szlaku biosyntezy tych związków w organizmach roślinnych może wytyczyć kierunki poszukiwania i produkcji herbicydów nowej generacji. Połączenie wiedzy o genetycznych podstawach allelopatii roślin uprawnych z postępowaniem w dziedzi-

nie konstruowania roślin genetycznie zmodyfikowanych może doprowadzić w przyszłości do otrzymania roślin, których uprawa nie będzie wymagała stosowania dodatkowych środków ochrony przed chwastami. Badaniom zmierzającym do osiągnięcia tych celów muszą jednak nadal towarzyszyć próby selekcji takich genotypów roślin uprawnych, w których wysokiemu potencjałowi allelopatycznemu towarzyszyć będzie wysoka jakość plonów.

## Literatura

1. Inderjit, Duke S. O., (2003), *Planta*, 217, 529-539.
2. Tellez M. R., Canel C. Rimando A. M., Duke S. O., (1999), *Phytochemistry*, 52, 1035-1040.
3. Macias F. A., Varela R. M., Torres A., Galindo J. L. G., Molinillo J. M. G., (2002), *Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial Ecosystems*, Eds. Inderjit, Mallik A. U., 73-87, Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin.
4. Vyvyan J. R., (2002), *Tetrahedron*, 58, 1631-1646.
5. Singh H. P., Batish D. R., Kohli R. K., (2003), *Crit. Rev. Plant Sci.*, 22, 239-311.
6. Wójcik-Wójtowski D., Politycka B., Weyman-Kaczmarkowa W., (1998), *Allelopatia*, Wyd. AR, im. A. Cieszkowskiego, Poznań.
7. Gniazdowska A., Oracz K., Bogatek R., (2004), *Kosmos*, 53, 207-218.
8. Weston L. A., Duke S. O., (2003), *Crit. Rev. Plant Sci.*, 22, 367-389.
9. Yun K. W., Kil B., (1992), *J. Chem. Ecol.*, 18, 1933-1940.
10. Yun K. W., Maun M. A., (1997), *Can. J. Bot.*, 75, 1903-1912.
11. Dayan F. E., Hernandez A., Allen S. N., Moraes R. M., Vroman J. A., Avery M. A., Duke S. O., (1999), *Phytochemistry*, 50, 607-614.
12. An M., Pratley J. E., Haig T., (2001), *J. Chem. Ecol.*, 27, 395-409.
13. An M., Pratley J. E., Haig T., (2000), *J. Chem. Ecol.*, 26, 1465-1476.
14. An M., Pratley J. E., Haig T., Lin D. L., (2005), *Nonlinear. Biol. Toxicol. Med.*, 3, 245-260.
15. Bais H. P., Vepachedu R., Gilroy S., Callaway R., Vivanco J. M., (2003), *Science*, 301, 1377-1380.
16. Heap I., (2005), [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com).
17. Praczyk T., Skrzypczak G., (2004), *Herbicydy*, PWRiL, Poznań.
18. Evans D. A., (1999), *Pesticide Chemistry and Bioscience: the Food Environment Challenge*, Eds. Brooks G. T., Roberts T. R., 124-128, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
19. Czarnota M. A., Paul R. N., Dayan F. E., Nimbal C. I., Weston L. A., (2001), *Weed Tech.*, 15, 813-825.
20. Jose S., (2002), *Chemical Ecology of Plants: Allelopathy in Aquatic and Terrestrial Ecosystems*, Eds. Inderjit, Mallik A. U., 149-172, Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.
21. Duke S. O., (1999), *Phytochemistry*, 52, 805-513.
22. Bhowmik P. C., Inderjit, (2003), *Crop Prot.*, 22, 661-671.
23. Bond W., Grundy A. C., (2001), *Weed Res.*, 41, 383-405.
24. Duke S. O., Dayan F. E., Romagni J. G., Rimando A. M., (2000), *Weed Res.*, 40, 99-111.
25. Duke S. O., Rimando A. M., Baerson S. R., Scheffler B. E., Ota E., Belz R., (2002), *J. Pest. Sci.*, 27, 298-306.
26. Olofsdotter M., Bach-Jensen L., Courtois B., (2002), *Plant Breed.*, 121, 1-9.
27. Dilday R. H., Mattice J. D., Moldenhauer K. A., Yan W., (2001), *J. Crop Prod.*, 4, 287-301.
28. Kato-Noguchi H., Ino T., (2003), *Phytochemistry*, 63, 551-554.
29. Kong C., Liang W., Xu X., Hu F., (2004), *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2861-2865.
30. Goff S. A., Ricke D., Lan T-H, Pressing G., Wang R., Dunn M., Glazebrook J., Session A., Oeller P., Varma H., Hadley D., Hutchison D., Martin C., Katagiri F., Lange B. M., Moughamer T., Xia Y., Budworth P., Hong J., Migiel T., Paszkowski U., Hang S., Colbert M., et. al., (2002), *Science*, 296, 92-100.

31. Yu J., Hu S., Wang J., Wong G. K., Li S., Liu B., Deng Y., Dai L., Zhou Y., Hang X., Cao M., Liu J., Sun J., Tang J., Chen Y., Huang X., Lin W., et. al., (2002), *Science*, 296, 79-92.
32. Xu M., Hellwig M. L., Prusic S., Coates R. M., Peters R. J., (2004), *Plant J.*, 39, 309-318.
33. Dayan F. E., Cook D., Baerson S. R., Rimando A. M., (2005), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Word Congress on Allelopathy*, Eds. Harper J. D. I., An M., Wu H., Kent J. H., 175-181, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia.
34. Kim H. Y., Shin H. Y., Sohn D. S., Lee I. J., Kim K. U., Lee S. C., Jeong H. J., Cho M. S., (2000), *Korean J. Crop Sci.*, 46, 22-28.
35. Kim K. U., Shin D. H., (2002), [www.fao.org/documents/](http://www.fao.org/documents/).
36. Bach-Jensen L., Courtois B., Shen L., Li Z., Olofsdotter M., Mauleon R. P., (2001), *Agr. J.*, 93, 21-26.
37. Ebana K., Yan W. G., Dilday R. H., Namai H., Okuno K., (2001), *Breed. Sci.*, 51, 47-51.
38. Wu H., Pratley J., Ma W., Haig T., (2003), *Theor. Appl. Genet.*, 107, 1477-1481.
39. Wu H., Haig T., Pratley J., Lemerle D., An M., (2000), *J. Chem. Ecol.*, 26, 2141-2154.
40. Nimbal C. I., Yerkes C. N., Weston L. A., Weller S. C., (1996), *Pest. Biochem. Physiol.*, 54, 73-83.
41. Weston L. A., Czarnota M., (2001), *J. Crop Prod.*, 4, 363-377.
42. Yang X., Scheffler B. E., Weston L. A., (2004), *J. Exp. Bot.*, 55, 2251-2259.
43. Dayan F. E., Kagan I. A., Rimando A. M., (2003), *J. Biol. Chem.*, 278, 28607-28611.
44. Macias F. A., Molinillo J. M. G., Galindo J. C. G., Varela R. M., Simonet A. M., Castellano D., (2001), *Allelopathy in Agroecosystems*, Eds. Kohli R. K., Singh H. P., Batish D. R., 237-256, Food Products Press an Imprint of the Howarth Press, Inc. New York, London, Oxford.
45. Macias F. A., Simonet A. M., Oleszek W., (2001), *Biochemiczne oddziaływania środowiskowe*, red. Oleszek W., Głowniak K., Leszczyński B., 47-60, AM, Lublin.
46. Macias F. A., Vinolo V. M. I., Molinillo J. M. G., (2005), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Word Congress on Allelopathy*, Ed. Harper J. D. I., An M., Wu H., Kent J. H., 477-480, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia .
47. Cornes D., (2005), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Word Congress on Allelopathy*, Eds. Harper J. D. I., An M., Wu H., Kent J. H., 569-572, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia.
48. Kamo T., Hiradate S., Fujii Y., ( 2003), *J. Chem. Ecol.*, 29, 275-283.
49. Fujii Y., Hiradate S., (2005), *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Word Congress on Allelopathy*, Ed. Harper J. D. I., An M., Wu H., Kent J. H., 73-76, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia.
50. Callaway R. M., Ridenour W. M., (2004), *Front Ecol. Environ.*, 2, 436-443.
51. Gniazdowska A., (2005), *Kosmos*, 54, 221-226.
52. Scheffler B. E., Duke S. O., Dayan F. E., Ota E., (2001), *Recent Adv. Phytochem.*, 35, 257-273.