

ALELOPATSKI VPLIV VODNIH IZVLEČKOV PŠENICE (*Triticum aestivum* L.) NA KALIVOST IN RAST RADIKULE SOLATE (*Lactuca sativa* L.)

Polona BITENC¹, Franc BATIČ², Lea MILEVOJ³, Damijana KASTELEC⁴, Veronika
ABRAM⁵, Mihaela SKRT⁶

^{1,2,3,4} Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana
^{5,6} Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Alelopatija je delovanje ene rastlinske vrste na drugo z izločanjem kemičnih snovi - alelokemikalij. Alelopatijski vpliv na rastline je lahko stimulativen ali zaviralen, kar se kaže v povečani ali zmanjšani kalivosti semen, pospeševanju ali zaviranju rasti in razvoja rastlin. Pri šestih različnih sortah pšenice (*Triticum aestivum* L.), treh jarih ('Leguan', 'Munk', 'Nandu') ter treh ozimnih ('Justus', 'Profit', 'Soissons'), smo proučevali vpliv njihovih vodnih izvlečkov na kalivost in rast testnih rastlin solate (*Lactuca sativa* L.). Vsebnost skupnih fenolov v izvlečkih smo določili spektrofotometrično po metodi Folin-Ciocalteu. Ločeno smo proučevali vpliv vodnih izvlečkov podzemnih oziroma nadzemnih delov pšenice na skupno kalivost in energijo kalivosti semen solate ter na rast radikule. Vpliv izvlečkov, tako nadzemnih kot tudi podzemnih delov različnih sort pšenice na končno kalivost je bil neznaten. Izvlečki nekaterih sort so v primerjavi s kontrolo (voda) statistično značilno zmanjšali energijo kalivosti solate. Pokazalo se je, da so izvlečki nadzemnih delov statistično značilno zavirali rast radikule solate. Rast tega organa pod vplivom izvlečkov nadzemnih delov, ki so v povprečju vsebovali več skupnih fenolov je bila bolj zavirana v primerjavi z rastjo radikule pod vplivom izvlečkov podzemnih delov, ki so v povprečju vsebovali manj skupnih fenolov.

Ključne besede: alelopatija, kalivost, skupni fenoli, *Triticum aestivum*

ABSTRACT

ALLELOPATHIC EFFECT OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) AQUEOUS EXTRACTS ON GERMINATION AND RADICLE GROWTH OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)

Allelopathy refers to biochemical interactions between plants. Chemicals released from plants are termed as allelochemicals. Allelopathic effect can be both, stimulatory or inhibitory resulting in stimulated or inhibited germination, growth and development of plants. Six different wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.), three summer ('Leguan', 'Munk', 'Nandu') and three winter ('Justus', 'Profit', 'Soissons'), were used to evaluate allelopathic effect of their aqueous extracts on germination and radicle elongation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) used as a test plant. The total phenolic contents in wheat extracts were determined spectrophotometrically by the Folin-Ciocalteu method. Effects of aqueous shoot and root extracts respectively on the total germination, the speed of germination and radicle elongation of lettuce seeds were studied independently. Total germination was insignificantly inhibited by both, shoot and root aqueous extracts. Speed of germination was significantly inhibited by some cultivars comparing to water control. Shoot extracts significantly inhibited lettuce radicle growth. Radicle elongation of lettuce was more inhibited by shoot extracts with higher amounts of total phenolics than by root extracts with lower amounts of total phenolics.

Key words: allelopathy, germination, total phenolics, *Triticum aestivum*

¹ univ. dipl. inž. agr., Jamnikarjeva 101, SI-1111 Ljubljana

² prof., dr. znan., prav tam

³ prof., dr. znan., prav tam

⁴ as., dr. znan., prav tam

⁵ prof., dr. znan., prav tam

⁶ as., dr. znan., prav tam

1 UVOD

Alelopatija je delovanje ene rastlinske vrste na drugo z izločanjem kemičnih snovi – alelokemikalij. Alelopatski vpliv na rastline je lahko stimulativen ali zaviralen, kar se kaže v povečani ali zmanjšani kalivosti semen, pospeševanju ali zaviranju rasti in razvoja rastlin (Rice, 1984). Z agronomskega vidika so zanimivi interakcijski vplivi med gojenimi rastlinami ter med pleveli in gojenimi rastlinami (Kruse in sod., 2000). Raziskave v alelopatiji vodijo k možnosti zmanjšanja uporabe sintetičnih herbicidov, za ekološko kmetovanje pa bi rastline s povečano alelopatsko sposobnostjo pomenile prispevek k učinkovitejši strategiji zatiranja plevelov (Duke, 1990; Kruse in sod., 2000; Wu in sod., 2001b). Na osnovi literature je bilo že večkrat dokazano, da ima pšenica (*Triticum aestivum* L.) alelopatske sposobnosti za zatiranje plevelov. Alelokemikalije se sproščajo iz rastlinskih ostankov in iz živih delov rastlin pšenice (Kruse in sod., 2000). Najpomembnejše alelokemikalije najdene pri pšenici so fenolne kisline (Lodhi in sod., 1987; Blum in sod., 1991) in hidroksamske kisline (Copaja in sod., 1999). V opravljenih raziskavah so ugotovili, da se različne sorte pšenice razlikujejo po alelopatski aktivnosti njihovih vodnih izvlečkov. Fitotoksini v rastlinskih ostankih pšenice so vodotopni in se lahko izločajo v tla ter tako vplivajo na rast okoliških plevelov (Wu in sod., 2001a). Pri različnih sortah pšenice (*Triticum aestivum* L.) smo proučevali vpliv njihovih vodnih izvlečkov na kalivost in rast radikule testne rastline solate (*Lactuca sativa* L.), ki se velikokrat uporablja v testih kalivosti zaradi svoje občutljivosti na alelokemikalije in hitre kalitve. Poleg tega smo želeli ugotoviti ali obstaja povezanost med alelopatsko aktivnostjo izvlečkov ter vsebnostjo skupnih fenolov v izvlečkih.

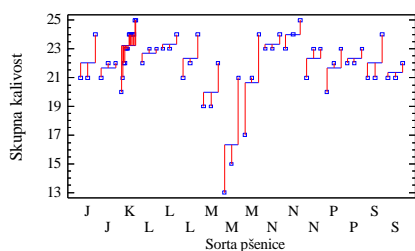
2 MATERIAL IN METODE

V poskus je bilo vključenih 6 sort pšenice (*Triticum aestivum* L.): 3 jare ('Nandu', 'Munk', 'Leguan') ter 3 ozimne sorte ('Justus', 'Profit', 'Soissons'). Izbrana testna rastlina za test kalivosti je bila solata (*Lactuca sativa* L.), sorta 'Great Lake'. Rastline pšenice so bile vzgojene v inertnem substratu in pobrane po 30 dneh v fazi 3-4 pravih listov. Nadzemne dele rastlin smo ločili od podzemnih ter pripravili po tri združene vzorce za vsako sorto pšenice. En združen vzorec je predstavljal naključno izbrane nadzemne oziroma podzemne dele rastlin. Izbran rastlinski material smo zamrznili v tekočem dušiku, liofilizirali in zmleli ter pripravili vodne izvlečke po metodi, ki so jo opisali Chapuis-Lardy in sod. (2002). Iz vsakega od treh izvlečkov nadzemnih oziroma podzemnih delov rastlin posameznih sort pšenice smo nato pripravili 3 vzorce izvlečkov. Za test kalivosti smo 5 ml vzorca odpipetirali na filter papir v petrijevke in nanj položili semena solate (25 semen/petrijevko). Za kontrolo smo uporabili destilirano vodo v 15 ponovitvah. Petrijevke smo postavili v rastno komoro na 20 °C (8 ur svetlo, 16 ur temno) za 7 dni. Na 12 ur smo prešteli število vzkaljenih semen (dolžina radikule > 1mm) in po 7 dneh določili skupno kalivost (število vzkaljenih semen), izračunali indeks energije kalivosti, ki upošteva časovni potek kalitve (Chiapusio in sod., 1997) ter izmerili dolžino radikule solate. Vsebnost skupnih fenolov v izvlečkih smo določili spekrofotometrično z merjenjem absorbance pri 750 nm po prirejeni metodi Folin-Ciocalteu (Wu in sod., 1998). Uporabili smo iste izvlečke kot pri testu kalivosti. Kot standard smo uporabili vanilinsko kislino proizvajalca Sigma-Aldrich Chemical Co. Razlike med sortami za omenjene spremenljivke pri testu kalivosti ter razlike v vsebnosti skupnih fenolov med sortami smo testirali z analizo variance in Tukeyevim HSD preizkusom mnogoterih primerjav, pri čemer smo upoštevali hierarhično strukturo poskusa. Pri sortah 'Profit', 'Soissons' in 'Justus' smo zaradi okužb enega izmed treh izvlečkov nadzemnih delov v testu kalivosti uporabili podatke le od dveh izvlečkov.

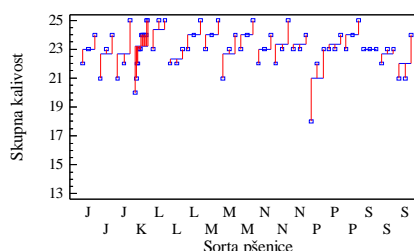
3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Hierarhična struktura poskusa nam je omogočila, da smo poleg testiranja razlik povprečij spremenljivk med sortami ter kontrolo pri testu kalivosti ter razlik v povprečni vsebnosti skupnih fenolov med sortami lahko za vse omenjene spremenljivke ocenili tudi deleže variabilnosti, ki so jo povzročile razlike med sortami, razlike med izvlečki znotraj sort ter

razlike med ponovitvami znotraj izvlečkov. Pri skupni kalivosti solate smo dobili tako za izvlečke nadzemnih kot podzemnih delov zelo veliko variabilnost med ponovitvami znotraj izvlečkov (Sliki 1 in 2). Daleč največjo variabilnost skupne kalivosti med ponovitvami smo dobili pri izvlečku nadzemnih delov sorte 'Munk'. Pripadajoča ocena povprečne skupne kalivosti solate pri tej sorti je bila zato zelo nenatančna in je kot take v nadaljnji analizi nismo obravnavali. Statistično značilnih razlik v povprečni skupni kalivosti solate pri ostalih petih sortah in kontrolo ni bilo niti pri izvlečkih podzemnih niti nadzemnih delov.



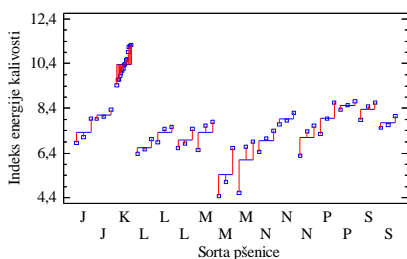
Slika 1: Skupna kalivost solate pri izvlečkih nadzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (J = Justus, K = Kontrola; L = Leguan; M = Munk; N = Nandu; P = Profit; S = Soissons)
 Figure 1: Total germination of lettuce by shoot tissues extracts of different wheat cultivars and by control (J = Justus, K = Control; L = Leguan; M = Munk; N = Nandu; P = Profit; S = Soissons)



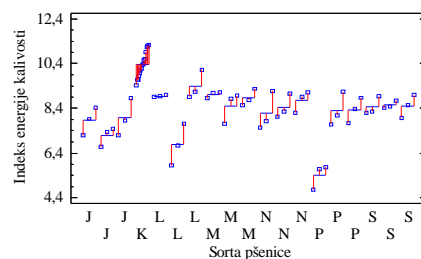
Slika 2: Skupna kalivost solate pri izvlečkih podzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (Legenda na Sliki 1)
 Figure 2: Total germination of lettuce by root tissues extracts of different wheat cultivars and by control (Legend in Figure 1)

Med povprečni energije kalivosti solate pod vplivom izvlečkov nadzemnih delov različnih sort pšenice ni bilo statistično značilnih razlik (Slika 3). Povprečna energija kalivosti solate pa se pri vseh sortah razlikovala od kontrole ($p < 0,05$). Pri energiji kalivosti pod vplivom izvlečkov podzemnih delov sta bila deleža variabilnosti energije kalivosti, ki so jo povzročile razlike med sortami in razlike med izvlečki znotraj sort zelo izenačena (Slika 4). Variabilnost med izvlečki je bila največja pri sorti 'Leguan'. Povprečna energija kalivosti se je statistično značilno razlikovala od kontrole le pri sortah 'Profit' in 'Justus'. Med sortami teh razlik ni bilo. Povprečna dolžina radikule solate pri izvlečkih nadzemnih delov je bila najmanjša pri sorti 'Justus' (9,3 mm), to povprečje je bilo statistično značilno manjše od kontrole (24,6 mm) ter od povprečne dolžine radikule solate pri izvlečkih sort 'Nandu', 'Leguan' in 'Munk' (Slika 5). Povprečne dolžine radikule so se pri izvlečkih nadzemnih delov vseh proučevanih sort statistično značilno razlikovale od povprečja kontrole. Pri izvlečkih podzemnih delov je največji delež variabilnosti dolžine radikule pripadal razlikam med ponovitvami znotraj izvlečkov (Slika 6). Statistično značilnih razlik v povprečni dolžini radikule solate med kontrolo in posameznimi sortami ni bilo, se je pa sorta 'Nandu' razlikovala od sort 'Justus' in 'Leguan' (Slika 6).

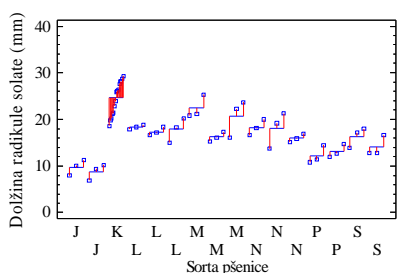
Vsebnost skupnih fenolov v nadzemnih delih je bila pri vseh sortah znatno večja (od 9,89 do 12,34 mg ekvivalentov vanilinske kisline/g suhe mase) kot v podzemnih delih (od 1,27 do 3,03 mg ekvivalentov vanilinske kisline/g suhe mase) (Slika 7). Podobno je Ben-Hammouda in sod. (1995) ugotovil večjo vsebnost skupnih fenolov v listih odraslih rastlin sirka v primerjavi z vsebnostjo v ostalih delih rastlin. Povprečna vsebnost skupnih fenolov tako v nadzemnih kot tudi podzemnih delih je bila največja pri sorti 'Justus', najmanjša pa pri sorti 'Leguan'. Pri nadzemnih delih so največji delež variabilnosti povzročile razlike v ponovitvah znotraj izvlečkov. Med sortami statistično značilnih razlik v povprečni vsebnosti skupnih fenolov ni bilo. Pri podzemnih delih je bil delež variabilnosti, ki so jo povzročile razlike med sortami največji.



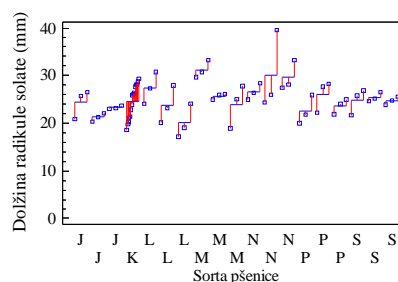
Slika 3: Energija kalivosti solate pri izvlečkih nadzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (Legenda na Sliki 1)
 Figure 3: Speed of lettuce germination by shoot tissues extracts of different wheat cultivars and by control (Legend in Figure 1)



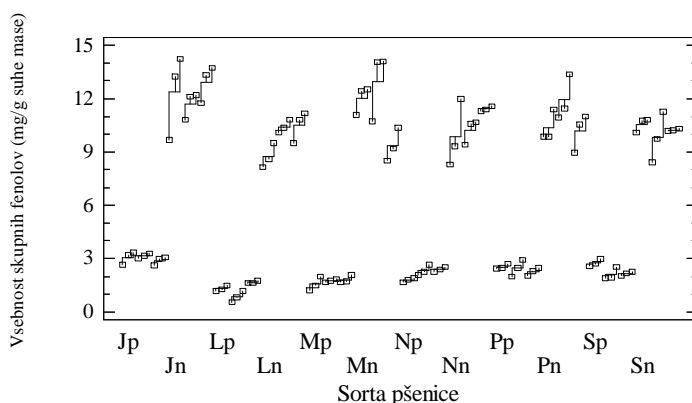
Slika 4: Energija kalivosti solate pri izvlečkih podzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (Legenda na Sliki 1)
 Figure 4: Speed of lettuce germination by root tissues extracts of different wheat cultivars and by control (Legend in Figure 1)



Slika 5: Dolžina radikule solate pri izvlečkih nadzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (Legenda na Sliki 1)
 Figure 5: Radicle length of lettuce by shoot tissues extracts of different wheat cultivars and by control (Legend in Figure 1)



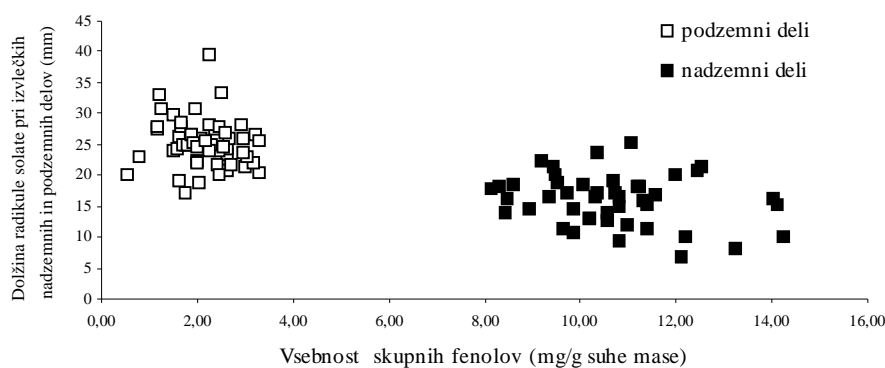
Slika 6: Dolžina radikule solate pri izvlečkih podzemnih delov različnih sort pšenice in pri kontroli (Legenda na Sliki 1)
 Figure 6: Radicle length of lettuce by root tissues extracts of different wheat cultivars and by control (Legend in Figure 1)



Slika 7: Vsebnost skupnih fenolov v podzemnih in nadzemnih delih različnih sort pšenice (mg ekvivalentov vanilinske kisline/g suhe mase) (Legenda na Sliki 1; n = nadzemni deli, p = podzemni deli)
 Figure 7: Total phenolic content in root and shoot tissues of different wheat cultivars (mg vanillic acid equivalents/g of dry matter) (Legend in Fig. 1; n = shoot tissues, p = root tissues)

Vsebnost skupnih fenolov pri sorti 'Justus' je bila statistično značilno večja od vsebnosti skupnih fenolov pri sortah 'Leguan', 'Munk' in 'Nandu'. Vsebnost skupnih fenolov pri sorti

'Leguan' je bila statistično značilno manjša od vsebnosti skupnih fenolov pri sortah 'Nandu', 'Profit' in 'Soissons' ter pri že omenjeni sorti 'Justus'. Rast radikule solate pod vplivom izvlečkov nadzemnih delov, ki so v povprečju vsebovali več skupnih fenolov je bila bolj zavirana v primerjavi z rastjo radikule solate pod vplivom izvlečkov podzemnih delov (Slika 8). Med dolžino radikule solate in vsebnostjo skupnih fenolov ni bilo povezanosti, če smo upoštevali samo podatke za vsebnost skupnih fenolov v nadzemnih delih (Slika 8, črni kvadratki) oziroma samo podatke za vsebnost skupnih fenolov v podzemnih delih pšenice (Slika 8, prazni kvadratki).



Slika 8: Povezanost med dolžino radikule solate in vsebnostjo skupnih fenolov pri različnih sortah pšenice
Figure 8. Correlation between radicle length and total phenolic content in different wheat cultivars

4 SKLEPI

Na podlagi poskusa s kalitvijo solate pod vplivom izvlečkov šestih sort pšenice ('Nandu', 'Munk', 'Leguan', 'Profit', 'Justus', 'Soissons') smo ugotovili, da so v splošnem izvlečki nadzemnih delov pšenice intenzivneje zavirali skupno kalivost, bolj zmanjšali energijo kalivosti in bolj zavirali rast radikule solate kot izvlečki podzemnih delov. Primerjava učinkov izvlečkov različnih sort pšenice na kalivost in rast solate posebej za nadzemne in posebej za podzemne dele ni pokazala večjih razlik med sortami. V tem primeru sej je izkazalo, da je bil velik delež variabilnosti pojasnjen z razlikami med ponovitvami znotraj izvlečkov in ne med sortami. Z analizo vsebnosti skupnih fenolov v rastlinah pšenice smo ugotovili, da je bila njihova vsebnost v povprečju večja v nadzemnih delih. Na osnovi tega lahko sklepamo, da je obstajal zaviralen alelopatički vpliv izvlečkov nadzemnih delov izbranih sort pšenice na kalivost in rast solate.

5 LITERATURA

- Ben-Hammouda M., Ghorbal H., Kremer R. J., Oueslati O. 1995. Allelopathic effects of barley extracts on germination and seedlings growth of bread and durum wheats. *Agronomie*, 21: 65-71
- Blum U., Wenworth T. R., Klein K., Worsham A. D., King, L. D., Geig T. M., Lyu S. W. 1991. Phenolic acid content of soils from wheat-no till, wheat-conventional till, and fallow-conventional till soybean cropping systems. *Journal of Chemical Ecology*, 17: 1045-1068.
- Chapuis-Lardy L., Contour-Ansel D., Bernhard-Reversat F., 2002. High-performance liquid chromatography of water-soluble phenolics in leaf litter of three *Eucalyptus* hybrids (Congo). *Plant Science*, 163: 217-222
- Chiapusio G., Sánchez A. M., Reigosa M. J., González L., Pellissier F. 1997. Do germination indices adequately reflect allelochemical effects on germination process? *Journal of Chemical Ecology*, 23: 2445-2453
- Copaja S. V., Nicol D., Wratten S. D. 1999. Accumulation of hydroxamic acids during germination. *Phytochemistry*, 50: 17-24

- Duke O. S. 1990. Natural pesticides from plants. 511-517 str. V: Advances in new crops. Proceedings of the first national symposium New Crops: research, development, economics. 1990. Janick J. in Simson J.E. (ur.). Portland, Oregon, Timber Press: 511-517
- Kruse M., Strandberg M., Strandberg B. 2000. Ecological effects of allelopathic plants – a review. Silkeborg, Denmark, Ministry of environment and energy, Natural environmental research, NERI technical report, 315: 66 str.
- Lodhi M. A. K., Bilal R., Malik K. A., 1987. Allelopathy in agroecosystems: wheat phytotoxicity and its possible roles in crop rotation. Journal of Chemical Ecology, 13: 1881-1891
- Rice E.L. 1984. Allelopathy. 2. izd. London, Academic press: 424 str.
- Wu H., Pratley J., Lemerle, D., Haig, T., Verbeek B. 1998. Differential allelopathic potential among wheat accessions to annual ryegrass. V: Agronomy – growing a greener future. Proceedings 9th Australian agronomy conference. 20-23 julij 1998. Michalk D.L., Pratley J.E. (ur.). Australian Society of Agronomy: 567-571
- Wu H., Haig T., Pratley J., Lemerle, D., An, M. 2001a. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): variation of phenolic acids in shoot tissues. Journal of Chemical Ecology, 27: 125-134
- Wu H., Pratley J., Lemerle, D., Haig T., An, M. 2001b. Screening methods for the evaluation of crop allelopathic potential. The Botanical Review, 67: 401-415