

AGNIESZKA KOZAK, BOGUMIŁ LESZCZYŃSKI, CEZARY SEMPRUCH,
HUBERT SYTYKIEWICZ

*Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej
Wydział Przyrodniczy
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Prusa 12, 08-110 Siedlce
E-mail: agnieszka_kozak2@o2.pl*

ALLELOPATYCZNE ODDZIAŁYWANIE JUGLONU

WSTĘP

Termin allelopatia został wprowadzony do literatury naukowej przez austriackiego fizjologa Hansa Molisha (1856–1937) dla określenia zarówno hamujących, jak i stymulujących interakcji biochemicznych pomiędzy mikroorganizmami, grzybami, glonami i roślinami wyższymi, regulowanych przez wtórne metabolity (OLESEK 1996, KOPCEWICZ i LEWAK 1998). Zjawisko to zaczęto badać na szeroką skalę i ukazało się na jego temat szereg szczegółowych opracowań (RICE 1984, PUTMAN i TANG 1986, RIZVI i współaut. 1992, INDERJIT i WEINER 2001, GNIAZDOWSKA i współaut. 2004, LIPIŃSKA i HARKOT 2007, WILLIS 2007, MALLIK 2008, JASICKA-MISIAK 2009, SEKUTOWSKI 2010, LESZCZYŃSKI i współaut.

2012). Najczęściej opisywanym i najlepiej poznanym działaniem allelozwiązków jest ich negatywny wpływ na kiełkowanie nasion i rozwój różnych gatunków roślin. Modyfikacje tych procesów są wynikiem zaburzeń ujawniających się na poziomie molekularnym, indukowanych przez substancje allelopatyczne (VYVYAN 2002, FUJITA i KUBO 2003, INDERJIT i DUKE 2003, BURGOS i współaut. 2004). Klasycznym przykładem roślin charakteryzujących się silnym potencjałem allelopatycznym są drzewa z rodziny orzechowatych (*Juglandaceae*), syntetyzujące szereg substancji fenolowych i terpenowych, ale przede wszystkim związek chinonowy, juglon.

RYS HISTORYCZNY ALLELOPATII *JUGLANDACEAE*

Udokumentowana historia allelopatycznego oddziaływania drzew z rodziny orzechowatych sięga początków naszej ery. Pierwsze wzmianki o toksycznym wpływie orzecha czarnego (*Juglans nigra* L.) i włoskiego (*J. regia* L.) na inne gatunki roślin, w tym na dąb (*Quercus* spp. L.) i sosnę (*Pinus* spp. L.) zaobserwował Gaius Plinius Secundus znany jako Pliniusz Starszy (23-79 r. n.e.) (VYVYAN 2002, WILLIS 2007). Następne raporty z krajów europejskich pojawiły się w XVIII w., gdy PLAPPART (1777) wskazywał, że rośliny takie jak: jabłoń (*Malus* spp. Mill.), wiśnia (*Cerasus* spp. Mill.), kukurydza (*Zea mays*

L.), len (*Linum* spp. L.) i liczne gatunki warzyw ginęły w sąsiedztwie drzew orzecha czarnego. Drzewa tego gatunku wywierały również niekorzystny wpływ na winorośl (*Vitis* spp. L.) (HEDRICK 1905). Zaobserwowano, że pospolicie występujący pięciornik krzewiasty (*Potentilla fruticosa* L.), obumierał w pobliżu roślin orzecha szarego (*J. cinerea* L.), co wiązano z wydzieliną korzeniową tego drzewa (JONES i MORSE 1903). Zauważono również wędnięcie pomidorów (*Lycopersicon* spp. Mill.) posadzonych w sąsiedztwie drzew orzecha włoskiego (COOK 1921). Massey w 1925 r. przeprowadził klasyczne już

dzisiaj doświadczenie, w którym zbadał oddziaływanie orzecha włoskiego na pomidory i lucernę (*Medicago* spp. L.). Zaobserwował on, że rośliny rosnące w promieniu ok. 15 m od pnia drzewa słabo się rozwijały i zamierały. Obszar osłabienia roślin wyraźnie pokrywał się z zasięgiem korzeni drzewa (HARBORNE 1997, JASICKA-MISIAK 2009). SCHNEIDERHAN (1926) stwierdził obumieranie drzew jabłoni w sąsiedztwie roślin orzecha czarnego, w odległości do 11,9 m od pnia drzewa. DAVIS (1928) wyizolował z łupin owoców i korzeni orzecha czarnego juglon, związek odpowiedzialny za toksyczność tych roślin. W ciągu kolejnych lat wielu autorów donosiło o zamieraniu bądź osłabianiu w sąsiedztwie *Juglandaceae* takich roślin jak: drzewa iglaste (PERRY 1932), rododendrony (*Rhododen-*

dron spp. L.) (PIRONE 1938), lucerna (SMITH 1941), jabłonie (SMITH 1941, ORTON i JENNY 1948, WILKINSON 1948), pomidory czy kapusta (*Brassica* spp. L.) (REINKING 1943). BROOKS (1951) odnotował natomiast brak negatywnego oddziaływania orzecha czarnego w stosunku do wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.) oraz paproci (*Polypodiopsida* spp. Cronquist) (BROOKS 1952). Podobnie MASSEY (1928) zauważył, że w obecności drzew orzecha włoskiego bez przeszkód rosły takie gatunki roślin jak fasola (*Phaseolus* spp. L.), buraki (*Beta* spp. L.) czy kukurydza. Z czasem, podjęto szczegółowe badania nad wpływem juglonu na kiełkowanie nasion i wzrost roślin oraz zaczęto wyjaśniać mechanizmy molekularne działania tego allelozwiązku.

SPOSODY UWALNIANIA ALLELOZWIĄZKÓW Z DRZEW JUGLANDACEAE

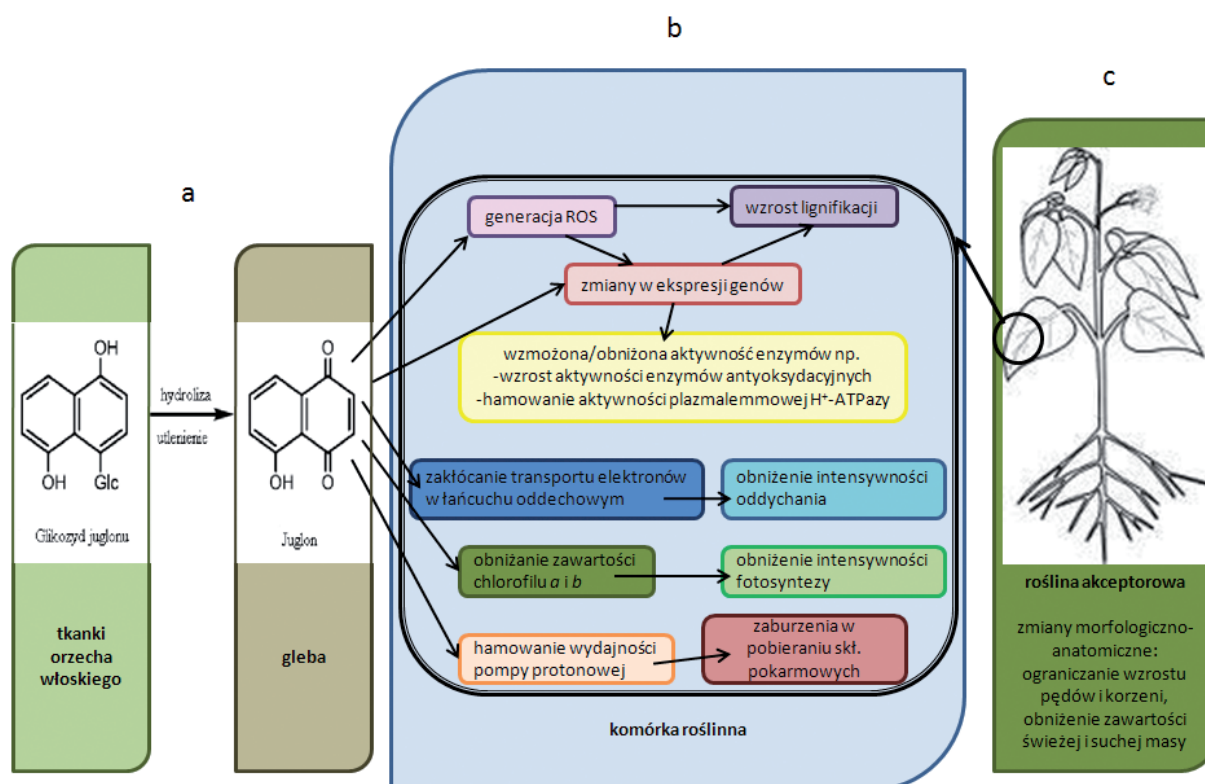
Drzewa z rodziny Juglandaceae, podobnie jak inne rośliny, uwalniają allelozwiązki do środowiska w różny sposób. Jednym z nich jest ewaporacja, czyli wydzielanie lotnych substancji poprzez specjalne gruczoły zlokalizowane na liściach. Olejki eteryczne orzecha włoskiego stanowią mieszaninę 19 terpenoidów, z czego największy procent stanowi octan (*Z*)-3-heksen-1-olu i β -pinen (MATOK 2010). Kolejny sposób uwalniania substancji allelopatycznych to ługowanie z powierzchni różnych organów drzew orzechowych; tą drogą są wymywane związki fenolowe i naftochinony. Z pokażnej gamy związków fenolowych występujących w organach orzecha włoskiego najwyższe stężenie osiąga (+)-katechina oraz kwasy: chlorogenowy, *o*-kuma-

rynowy i syryngowy. Największą zasobnością w te substancje charakteryzują się kolejno: owoce, zielone okrywy owoców, kwiatostany męskie i liście. W częściach nadziemnych drzew orzechowych, juglon osiąga najwyższe stężenia kolejno w tkankach kwiatostanów męskich, zielonych okryw owoców, owocach i liściach. Wymienione związki allelopatyczne dostają się do gleby również w wyniku rozkładu obumarłych tkanek. Jednak w przypadku drzew orzechowych najwięcej allelopatin, a przede wszystkim juglonu, uwalnianych jest przez system korzeniowy. Korzenie tych drzew odznaczają się wyższym stężeniem tego związku niż inne organy, dlatego też eksudaty najsilniej oddziałują na rośliny akceptorowe (MATOK 2010).

CHARAKTERYSTYKA JUGLONU

Juglon (5-hydroksy-1,4-naftochinon) jest allelozwiązkiem charakterystycznym dla drzew z rodziny orzechowatych, w szczególności dla takich gatunków jak orzech czarny, orzech włoski i orzech szary (MONTENEGRO i współaut. 2010). Występuje on także w tkankach gatunków z pokrewnych rodzajów: *Carya*, *Platycarya*, *Pterocarya* czy *Cyclocarya* (DAUGHERTY i współaut. 1995). Jego biosynteza przebiega w liściach i innych zielonych tkankach orzecha, skąd jest transportowany poprzez elementy sitowe łyka do pozostałych organów (MATOK 2010).

Pod względem chemicznym juglon jest związkiem fenolowym, należącym do klasy naftochinonów. Jego prekursor, α -hydrojuglon, po zetknięciu z powietrzem, utlenia się do formy bardziej stabilnej, a zarazem toksycznej, juglonu (TERZI 2008, MATOK 2010), który w obecności tlenu tworzy pochodne o barwie brązowej. Juglon jest związkiem chemicznym o wzorze sumarycznym $C_{10}H_6O_3$, masie 174,16 g mol⁻¹ i temperaturze topnienia 161–163°C. Dobrze rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych, zaś słabo w wodzie (PETROVA i współaut. 1990). W jego strukturze chemicznej występują dwa



Ryc. 1. Działanie juglonu.

a – reakcja uwalniania juglonu z glikozydu i utleniania do aktywnej formy; b – wpływ juglonu na funkcjonowanie komórki roślinnej; c – wpływ juglonu na zmiany morfologiczne rośliny akceptorowej.

pierścienie: aromatyczny, z grupą OH przy piątym atomie węgla, i chinoidowy, z tlenem przy pierwszym i czwartym atomie węgla (VON KIPARSKI i współaut. 2007).

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, iż spośród allelozwiązków zidentyfikowanych w tkankach orzecha włoskiego największe znaczenie allelopatyczne posiada juglon (MATOK 2010). Całkowita zawartość tej substancji w tkankach orzecha włoskiego jest ok. 20-krotnie wyższa niż innych allelopatin (CODER 2011). W tkankach drzew orzechowych związek ten występuje w nietoksycznej, związanej formie glikozydowej (4-glukozyd 1,4,5-trichydroksynaftalenu), a dopiero po dostaniu się do gleby przechodzi w wolny aglikon. W pierwszym etapie tego procesu enzym β -glukozydaza przeprowadza hydrolizę glikozydu juglonu do hydrojuglonu, który następnie utlenia się do aktywnego biologicznie juglonu (Ryc. 1a). Ulega on w glebie dalszym przemianom wynikającym z jego właściwości chemicznych. Mianowicie, grupy karbonyłowe w cząsteczce juglonu wykazują silne powinowactwo do elektronów, co może prowadzić do częściowej redukcji tego związku do semichinonów lub całkowi-

tej, do fenoli. Ugrupowanie fenolowe natomiast bierze udział w reakcjach sprzęgania oksydacyjnego, z molekułami próchnicy, katalizowanych przez oksydoreduktazy i tlenki metali. Reakcje te zmniejszają dostępność i toksyczność juglonu w glebie (VON KIPARSKI i współaut. 2007). Allelozwiązek ten bardzo słabo rozpuszcza się w roztworze glebowym, a zatem jest mało mobilny, wywiera więc najbardziej szkodliwy wpływ na rośliny, których system korzeniowy znajduje się w bliskim kontakcie z korzeniami drzew orzechowych (od 0,5 do 1,5 cm) (RIETVELD 1981). Należy przy tym pamiętać, że korzenie tych drzew rozpościerają się znacznie dalej niż strefa allelopatycznego zasięgu korony, z której juglon przedostaje się do gleby na drodze ługowania wraz z nekromasą. Negatywne oddziaływanie juglonu na rośliny związane jest z jego zaleganiem w glebie przez określony czas, przy odpowiednim stężeniu, które jest utrzymywane poprzez ciągłe dostarczanie do gleby tego allelozwiązku (HARBORNE 1997). Podaje się, że juglon osiąga toksyczne stężenie w glebie 12–25 lat od posadzenia drzew orzechów (RIETVELD 1981).

ZAWARTOŚĆ JUGLONU W TKANKACH ORZECHÓW

Gatunki z rodziny Juglandaceae zawierają znaczne ilości juglonu, którego zawartość zmienia się w zależności od gatunku i wieku drzewa, a także badanego organu, okresu sezonu wegetacyjnego czy lokalizacji geograficznej. Przykładowo, sadzonki i młode drzewa orzechów wytwarzają mniej juglonu niż drzewa dojrzałe (BODE 1958). Wyższe stężenie tego allelozwiązku występuje w tkankach liści starszych, głównie z dolnej części drzew (LEE i CAMPBELL 1969). Zawartość juglonu w suchej masie liści orzecha włoskiego wynosi ok. 5% (GIRZU i współaut. 1998). MATOK (2010) określił stężenie juglonu w wybranych organach nadziemnych orzecha włoskiego rosnącego w warunkach klimatu umiarkowanego ciepłego. Wynosiło ono ok. 43 mg g⁻¹ ś.m. dla kwiatostanów męskich, ok. 21 mg g⁻¹ ś.m. dla zielonych okryw owoców, ok. 10 mg g⁻¹ ś.m. dla owoców, ok. 5 mg g⁻¹ ś.m. dla liści oraz poniżej tej wartości dla pędów i kory. Podobne wyniki uzyskali COSMOLESCU i współaut. (2011), którzy oznaczyli stężenie juglonu w pięciu odmianach orzecha włoskiego i wykazali, że zawartość tego związku była znacznie wyższa w zielonych okrywach owoców (20,56–42,78 mg %) niż

w tkankach liści (5,42–22,82 mg %). Ponadto stwierdzono, że stężenie juglonu w liściach orzecha włoskiego wzrasta w trakcie trwania sezonu wegetacyjnego. Młode liście (zebrane na przełomie maja i czerwca) zawierały 8,4–8,8 mM juglonu, starsze (sierpniowe) 12,6 mM, a najstarsze (jesienne) ok. 32,1 mM (MATOK 2010). Najwyższą zawartością juglonu charakteryzowały się jednak korzenie, w których występowało ok. 2,5 raza więcej tego związku niż w liściach (JUNG i współaut. 2010). Wskazuje to na znaczną akumulację tego naftochinonu w strefie „korzeniowo-glebowej” (MATOK 2010). Zdaniem DE SCISCIOLO i współaut. (1990) stężenie juglonu w glebie jest ściśle związane z aktywnością wydzielniczą korzeni, najwyższą w okresie wiosny i jesieni. Przykładowo, eksudaty korzeniowe z orzecha mandżurskiego, występującego w klimacie podzwrotnikowym (*J. mandshurica* Maxim.) zawierały 121,3 µg g⁻¹ tkanki (YANG i współaut. 2010), a z orzecha włoskiego ok. 67 mg g⁻¹ ś.m. (MATOK 2010). Na różnice w zawartości juglonu w tkankach orzechów mogą mieć wpływ warunki klimatyczne, w których dany gatunek orzecha naturalnie występuje.

ZAWARTOŚĆ JUGLONU I JEGO PRZEMIANY W GLEBIE

Stężenie juglonu w glebie, pod drzewami Juglandaceae, z reguły nie przekracza 4 µg g⁻¹, co na ogół odpowiada możliwości wytworzenia stężenia 10⁻⁴ M w roztworze glebowym. Określono, iż koncentracja tego naftochinonu w warstwie powierzchniowej gleby spod drzew orzecha czarnego wynosiła ok. 3,95 µg g⁻¹ gleby (PONDER i TADORS 1985). Podobne wartości odnotowano w glebie spod orzecha włoskiego (MATOK 2010), natomiast w glebie spod orzecha mandżurskiego zawartość juglonu wahała się w granicach 2,9–6,2 µg g⁻¹ gleby (YANG i współaut. 2010). Stężenie tego związku w podłożu glebowym jest więc kilkanaście razy mniejsze, w porównaniu z ilościami trafiającymi do gleby bezpośrednio z korzeni. Wynika to z przemian juglonu zależnych od warunków fizyko-chemicznych gleb oraz obecności pewnych mikroorganizmów. Przykładowo, w glebach eksponowanych na silne działanie promieni słonecznych, a jednocześnie dobrze napowietrzonych zachodzi rozkład juglonu na dro-

dze autooksydacji (juglon łatwo ulega utlenieniu tworząc mniej toksyczne pochodne) (RIETVELD 1981). Potwierdzają to obserwacje FISHERA (1978), który zauważył, że sosny rosnące w pobliżu drzew orzecha czarnego, na glebach suchych, rozwijały się prawidłowo, natomiast na glebach dobrze nawodnionych zamierały. Można stąd wnioskować, że wilgotne gleby mają lepszą zdolność akumulacji tego allelozwiązku, gdyż zawierają mniej tlenu, w porównaniu do gleb suchych. BETTINA i współaut. (1990) wykonali doświadczenie, w którym glebę spod orzecha czarnego poddano 3-dniowemu suszeniu. Okazało się, że zawartość juglonu obniżyła się z 0,23 µg g⁻¹ do 0,03 µg g⁻¹ gleby. Allelozwiązek ten może być również adsorbowany na koloidach glebowych oraz włączany do materii organicznej (FISHER 1978), wyizolowano go bowiem z kwasów humusowych wchodzących w skład próchnicy spod drzew orzecha włoskiego (CARBALLAS i współaut. 1972). Juglon może także ulegać biodegradacji z udziałem niektó-

rych bakterii i grzybów. Przykładem są bakterie *Pseudomonas putida* (MULLER i LINGENS 1988, SCHMIDT 1988) oraz grzyby *Pleurotus sajor-caju* rozkładające juglon w enzymatycznych i nieenzymatycznych reakcjach oksydacyjnych (CURRELI i współaut. 2004). Stężenie juglonu w glebie zależy więc od intensywności jego wytwarzania, zdolności gleb do jego akumulacji oraz szybkości biodegradacji

przez czynniki biotyczne i abiotyczne. Ponadto, związek ten powoduje alkalizację gleby, jego dodatek do podłoża podwyższa pH o ok. 0,7 (BROOKS 1951). Przeprowadzono także badania dotyczące wpływu juglonu na przemiany związków azotowych w glebie, w których nie stwierdzono jego hamującego oddziaływania na procesy nityfikacji (THEVATHASANS i współaut. 1998).

WPLYW JUGLONU NA KIEŁKOWANIE NASION ORAZ WZROST I ROZWÓJ ROŚLIN

Juglon jest silnym inhibitorem kiełkowania nasion, co potwierdzają liczne testy laboratoryjne. Jedno z pierwszych doświadczeń przeprowadzone na wielu gatunkach roślin z zastosowaniem różnych stężeń juglonu wykonał RIETVELD (1983). Badanie wykazało, że nasiona 16 gatunków roślin: zielnych, krzewów i drzew, wykazują wrażliwość na ten związek w zakresie stężeń 0,1-1 mM. Wśród testowanych roślin najbardziej podatne okazały się nasiona klonu ginnala (*Acer ginnala*

Maxim.), lespedezy koreańskiej (*Lespedeza stipulacea* Maxim.) i wyki kosmatej (*Vicia villosa* Roth.), a najmniej dębu białego (*Quercus alba* L.), olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) i sosny wejmutki (*Pinus strobus* L.). Wielu innych autorów również badało wrażliwość nasion różnych gatunków roślin na ten allelozwiązek, przejawiającą się procentem niekiełkujących nasion (Tabela 1). Uzyskane dane wskazują, że takie gatunki, jak melon czy pszenica, były odporne na ju-

Tabela 1. Wpływ juglonu na kiełkowanie nasion wybranych gatunków roślin.

Gatunek rośliny	Stężenie juglonu (mM)	Hamowanie kiełkowania nasion (%)	Literatura
Rzodkiewnik pospolity (<i>Arabidopsis thaliana</i> L.)	>0,1	100	REGIOSA i PAZOS-MALVIDO 2007
Melon (<i>Cucumis melo</i> L.)	0,01–1	0	TERZI 2008
	1	50	
Ogórek (<i>Cucumis sativus</i> L.)	0,1 0,01	40 20	
Pieprzyca siewna (<i>Lepidium sativum</i> L.)	0,2–1	100	TERZI i KOCACALISKAN 2009
Pszenica (<i>Triticum aestivum</i> L.)		0	TERZI i KOCACALISKAN 2010
Jęczmień (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	1	10	
Lucerna (<i>Medicago sativa</i> L.)		50	
Pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)		60	
Mak polny (<i>Papaver rhoeas</i> L.)	0,01 0,1–1	70 100	MATOK 2010
Mniszek lekarski (<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.)	0,01 0,1 1	0 70 100	
Kukurydza (<i>Zea mays</i> L.)	0,01 0,0001	20 10	SYTYKIEWICZ 2011

Tabela 2. Wpływ juglonu na parametry morfologiczne wybranych gatunków roślin.

Gatunek rośliny	Stężenie juglonu (mM)	Hamowanie przyrostu na długość (%)		Obniżenie zawartości masy (%)		Literatura
		korzeń	pęd/siewka	świeża	sucha	
Soja (<i>Glycine max</i> L. Merr.)	0,01	77	65	-	-	JOSE i GILLESPIE 1998
	0,1	99	69	-	-	
Kukurydza (<i>Zea mays</i> L.)	0,01	65	32	-	-	
	0,1	87	53	-	-	
Ogórek (<i>Cucumis sativus</i> L.)	1	-	43 s	64	61	TERZI i współaut. 2003a
Kukurydza (<i>Zea mays</i> L.)	0,01	20	7	-	16 s	HEJL i KOSTER 2004
	0,05	20	15	-	32 s	
	0,1	24	18	-	39 s	
Soja (<i>Glycine max</i> L. Merr.)	0,01	31	48	-	34 s	
	0,05	37	57	-	45 s	
	0,1	37	57	-	50 s	
Ogórek (<i>Cucumis sativus</i> L.)	1	81	29	57 k	26 k	KOCAŁIŃSKAN i współaut. 2009
				63 p	4 p	
Pszenica ozima (<i>Triticum aestivum</i> L.)	0,01	100	67	56 s	-	MATOK 2010
	0,1	100	77	94 s	-	
Kukurydza (<i>Zea mays</i> L.)	0,0001	8	-	15 s	-	Sytykiewicz 2011
	0,001	26	-	33 s	-	
	0,01	46	-	53 s	-	
	0,001	8	-	-	-	
Ryż (<i>Oryza sativa</i> L.)	0,01	48	-	-	-	CHI i współaut. 2011
	0,05	80	-	-	-	
	0,001	8	-	-	-	
Rzepa właściwa (<i>Brassica rapa</i> L.)	ekstrakt z korzeni 4-letniego orzecha włoskiego	30	35	-	-	CUI i współaut. 2011

- nie badano danego parametru w doświadczeniach; s – siewka, k – korzeń, p – pęd

glon w zastosowanych stężeniach, natomiast rzeżucha, mak polny, mniszek lekarski i sałata cechowały się wysoką wrażliwością na ten związek.

Przeprowadzono również doświadczenia mające na celu zbadanie efektów działania regulatorów wzrostu w przewyżnianiu hamującego wpływu juglonu na procesy kiełkowania nasion. TERZI i KOCAŁIŃSKAN (2009) stwierdzili, że juglon w różnym stopniu oddziałował na kiełkowanie nasion rzeżuchy po dodaniu kwasu giberelinowego (GA) i kinetyny (KIN). Łączne działanie KIN i juglonu podwyższyło kiełkowanie nasion zaledwie do kilku procent. Natomiast po zastosowaniu mieszanki juglonu z GA kiełkowanie wzrastało do 80%. Można stąd wnioskować, iż mechanizm działania juglonu dotyczy za-

burzania gospodarki fitohormonalnej, szczególnie GA. Podobne wyniki uzyskali TERZI i KOCAŁIŃSKAN (2010) na ziarniakach pszenicy i jęczmienia oraz nasionach ogórka, lucerny i pomidora, sygnalizujące, że stymulatory kiełkowania w pewnym stopniu niwelują hamujące działanie juglonu, co było szczególnie widoczne w przypadku nasion lucerny i pomidora. Zastosowanie zarówno GA, jak i KIN spowodowało wzrost liczby skielkowanych nasion lucerny do ok. 70%, a pomidora do ok. 50%. Z przedstawionych danych wynika, iż juglon jest bardzo silnym inhibitorem kiełkowania nasion wielu roślin, a jego hamujące działanie trudno jest całkowicie znieść, nawet po zastosowaniu hormonów, które jedynie mogą łagodzić jego wpływ.

Allelopatyczne oddziaływanie juglonu przejawia się także w zmianach morfologiczno-anatomicznych roślin akceptorowych, takich jak: ograniczanie wzrostu pędów i korzeni, obniżenie liczby liści czy zawartości świeżej i suchej masy w porównaniu do roślin kontrolnych (Ryc. 1c). Według TEKINTAS i współaut. (1988) jest to spowodowane zaburzeniami procesów podziału i wydłużania komórek przez ten allelozwiązek. Wartości wyżej wymienionych parametrów w zależności od zastosowanego stężenia juglonu i badanej rośliny przedstawiono w Tabeli 2. Ponadto juglon niekorzystnie wpływa na plonowanie roślin, m.in. w stężeniu 1 mM obniżał plon truskawek (*Fragaria × ananassa* L.), poprzez zmniejszenie ilości i masy owoców (ERCISLI i współaut. 2005).

Inne, przykładowe gatunki roślin wrażliwe na obecność juglonu to jabłoń, jeżyna (*Rubus* spp. L.), krokus (*Crocus neapolitanus*), winorośl, lipa (*Tilia* spp.), sosna, ziemniak (*Solanum tuberosum* L.), piwonia (*Paeonia* spp. L.), rododendron oraz tymianek (*Thymus vulgaris* L.) (APPLETON i współaut. 2009).

Istnieją jednak rośliny odporne na toksyczne działanie tego allelozwiązku. Należą do nich m.in. cebula (*Allium cepa* L.), słonecznik bulwiasty (*Helianthus tuberosus* L.), burak cukrowy (*Beta vulgaris* L.) i niektóre gatunki fasoli (TERZI 2008). Z kolei, do roślin tolerujących w znacznym stopniu obecność juglonu w podłożu zaliczane są takie gatunki jak: tuja (*Thuja occidentalis* L.), jesion (*Fraxinus* spp. L.), wiśnia, lobelia (*Lobelia* spp. L.), paproć, tulipan (*Tulipa* spp. L.), aster (*Aster* spp. L.), pierwiosnek (*Phylloscopus collybita* L.) i hibiskus (*Hibiscus* spp. L.) (APPLETON i współaut. 2009). Niektórzy badacze informują także o korzystnym wpływie tego allelozwiązku na pewne gatunki roślin akceptorowych. Przykładowo, odmiana bawełny zwyczajnej (*Gossypium hirsutum* L.) – Tashkent-1 reagowała na juglon przyspieszeniem kiełkowania nasion oraz zwiększeniem plonowania (KHODZHIBAEVA i współaut. 2000). Obserwowano także korzystny wpływ juglonu na nasiona melona, prawdopodobnie związany z mechanizmami detoksykacji zachodzącymi w okrywach nasion (TERZI i współaut. 2003b).

MECHANIZM DZIAŁANIA JUGLONU NA ROŚLINY AKCEPTOROWE

Negatywne oddziaływanie juglonu na rośliny akceptorowe jest przede wszystkim skutkiem modyfikacji zachodzących na poziomie molekularnym. Związek ten zaburza prawidłowy przebieg wielu procesów biochemicznych i fizjologicznych zachodzących w komórkach. Dokładny mechanizm działania 5-hydroksy-1,4-naftochinonu nie został jeszcze w pełni poznany i wyjaśniony (HEJL i KOSTER 2004), może on być więc bardzo złożony. Istnieje jednak szereg doniesień o zmianach indukowanych przez ten związek w komórkach roślinnych.

Stwierdzono, że juglon zakłóca prawidłowy przebieg podstawowych procesów życiowych, takich jak oddychanie komórkowe czy fotosynteza.

KOEPPE (1972) stwierdził, że juglon wpływał niekorzystnie na proces oddychania w tkankach kukurydzy, zakłócając transport elektronów w łańcuchu oddechowym, a w konsekwencji obniżając intensywność fosforylacji oksydacyjnej. Badania nad wpływem juglonu na oddychanie prowadzili również JOSE i GILLESPIE (1998) na roślinach soi i kukurydzy. Wykazali oni, że intensywność oddychania kukurydzy spadła o 50% w tkan-

kach liści i o 27% w tkankach korzeni, a w przypadku soi redukcja tego procesu wynosiła odpowiednio 47% i 52%, w porównaniu do roślin nie traktowanych tym związkiem.

Ponadto, juglon wpływał niekorzystnie na intensywność fotosyntezy m.in. poprzez obniżanie zawartości chlorofilu *a* i *b*. TERZI i współaut. (2003a) zaobserwowali niższą zawartość obu chlorofilu w siewkach ogórka traktowanych 1 mM roztworem juglonu. Związek ten w stężeniu 0,1 mM obniżał wydajność fotosyntezy również w przypadku kukurydzy (o 68%) i soi (o 87%), w odniesieniu do roślin kontrolnych (JOSE i GILLESPIE 1998).

Allelopatyczna aktywność juglonu może indukować ponadto w komórkach roślin akceptorowych procesy, których konsekwencją jest obniżenie liczby aparatów szparkowych (TERZI i współaut. 2003a), a tym samym intensywności transpiracji. JOSE i GILLESPIE (1998) stwierdzili, że po potraktowaniu tym allelozwiązkiem transpiracja w siewkach kukurydzy i soi była odpowiednio o 38% i 66% niższa w stosunku do roślin kontrolnych.

Związek ten wywołuje także stres oksydacyjny. Bierze on bowiem udział w reakcjach utleniania/redukcji, generując powstawanie

reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS). ROS mogą uszkadzać kwasy nukleinowe i białka modyfikując przebieg procesów życiowych (HALLIWELL i GUTTERIDGE 1999). Niektórzy autorzy uważają, że naftochinony generujące wolne rodniki tlenowe mogą także odgrywać istotną rolę w mechanizmie programowanej śmierci komórek (BABULA i współaut. 2009). Udowodniono, że prooksydacyjne działanie juglonu może być przyspieszane przez chelatowanie jonów żelaza (CHOBOT i HADACEK 2009). HADRAMI i współaut. (2005) badali wpływ tego związku na powstawanie ROS i aktywność enzymów modulujących stężenie ROS w roślinach z rodzaju *Musa* L.. Odnotowano wyraźny wzrost stężenia nadtlenu wodoru w roślinach traktowanych juglonem, w porównaniu do roślin kontrolnych. Zmianom tym towarzyszył również wzrost aktywność katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej, ważnych enzymów antyoksydacyjnych uczestniczących w mechanizmach obronnych roślin. Naftochinon ten powodował także szybki wzrost stężenia ROS w tkankach ryżu (CHI i współaut. 2011) oraz kukurydzy. Ponadto, w przypadku kukurydzy indukował biosyntezę białek: katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej i transferazy glutationowej (MYLONA i współaut. 2007). Z kolei BÖHM i współaut. (2006) wykazali, że juglon w stężeniach $\geq 10 \mu\text{M}$ hamował aktywność peroksydaz w komórkach korzeni soi.

Naftochinon ten powoduje również, zaburzenia w pobieraniu składników pokarmowych przez rośliny. HEJL i KOSTER (2004) wykazali, że juglon w stężeniach 10, 50 i 100 μM zakłócał prawidłowe funkcjonowanie błon w komórkach korzeni soi i kukurydzy, poprzez hamowanie aktywności plazmalemmowej H^+ -ATPazy, co wpływało niekorzystnie na szereg procesów fizjologicznych. To negatywne oddziaływanie jest związane m.in. z ograniczeniem pobierania wody i substancji odżywczych przez korzenie, wskutek hamowania wydajności pompy protonowej. Stwierdzono również, iż obniżenie ilości pobieranych składników pokarmowych przez rośliny traktowane juglonem wynosiło 65–90% w przypadku soi i 30–64% dla kukurydzy. Allelozwią-

zek ten zmniejszał także przyswajanie niektórych makro- i mikroelementów w przypadku truskawek. Ograniczał pobieranie azotu, potasu, wapnia, żelaza i manganu, nie wpływał natomiast na przyswajanie fosforu, magnezu i cynku (ERCISLI i współaut. 2005).

Juglon indukuje także procesy lignifikacji. Związek ten w stężeniach 5–25 μM powodował wzrost syntezy ligniny w komórkach korzeni soi, co może być przejawem mechanizmu obronnego roślin, zadaniem którego jest utrudnianie przemieszczania się juglonu z korzeni do organów nadziemnych, przy jednoczesnym ograniczeniu przemieszczania wody i asymilatów. Skutkiem przedwczesnej lignifikacji była redukcja wzrostu korzeni soi w porównaniu do korzeni roślin nie traktowanych tym allelozwiązkiem (BÖHM i współaut. 2006). W proces lignifikacji zaangażowany jest H_2O_2 , którego poziom gwałtownie wzrasta w warunkach stresu m.in. allelopatycznego, powodując jednoczesny wzrost aktywności peroksydaz, które z kolei utleniają alkohole fenylopropanowe, co przyspiesza lignifikację ścian komórkowych (KUŹNIAK i URBANEK 2000).

W ostatnim okresie, stwierdzono także wpływ juglonu na aktywność genów w tkankach roślin akceptorowych. Badania CHI i współaut. (2011) wykazały, że juglon w stężeniu 10 μM aktywował 827 genów w komórkach korzeni ryżu, odpowiedzialnych za przebieg procesów biologicznych takich jak: reakcja na ciepło, metabolizm toksyn, biosynteza liposacharydów i innych cukrowców, przemiany glutationu czy aktywność transferaz. Allelozwiązek ten hamował jednocześnie aktywność 142 genów powiązanych z wtórnym metabolizmem, uczestniczących w syntezie fenylopropanoli, prostych fenoli i flawonoidów. SYTYKIEWICZ (2011) stwierdził natomiast znaczący wzrost ekspresji genu *GstI* kodującego transferazę glutationową w koleoptylach i korzeniach kukurydzy pod wpływem juglonu w zakresie stężeń 0,1–10 μM .

Przytoczone przykłady dowodzą, iż juglon generuje stres oksydacyjny i modyfikuje aktywności genów powodując w konsekwencji niekorzystne zmiany w przebiegu procesów życiowych roślin (Ryc. 1b).

MOŻLIWOŚCI PRAKTYCZNEGO WYKORZYSTANIA JUGLONU

Biologiczna aktywność juglonu skłoniła do podjęcia prób praktycznego wykorzystania tego związku w różnych aspektach życia człowieka. Dzięki właściwościom przeciw-

bakteryjnym, przeciwgrzybiczym i przeciw-wirusowym znalazł on zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, chemicznym i medycynie (HEJL i KOSTER 2004). Ze względu na

swoje brązowe zabarwienie stosuje się go jako ważny barwnik w produkcji kosmetyków wspomagających opalanie, samoopalaczy, jak również farb do włosów (CODER 2011). Odkryto również możliwość zastosowania juglonu w leczeniu różnych chorób, przykładowo zapobiega on wzrostowi bakterii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sanguis* odpowiedzialnych za rozwój próchnicy (THAKUR 2011) oraz hamuje replikację wirusa HIV-1, obniżając aktywność rybonukleazy H (BOŁONKOWSKA i współaut. 2011).

Związek ten wykazuje także toksyczne działanie w stosunku do komórek nowotworowych. Wykazano, że juglon powodował apoptozę komórek raka jelita grubego u szczurów poprzez hamowanie aktywności izomeryazy peptydylowo – propylowej Pin1, co skutkowało zatrzymaniem cyklu komórkowego różnego typu komórek nowotworowych (THAKUR 2011). Ponadto, drzewa orzechowe są szeroko wykorzystywane w praktyce rolniczej, ogrodniczej i leśnej, w formie mieszanych plantacji z roślinami tolerancyjnymi na juglon. W agronomii wykorzystuje się plantacje orzecha włoskiego (założone w rzędach) do uprawy z roślinami użytkowymi w formie tzw. uprawy międzyrzędowej (SCOTT i SULLIVAN 2007). W młodych plantacjach orzecha (<15 lat) oddziaływania allelopatyczne nie są silne, dlatego mogą tu być stosowane rośliny znoszące niskie stężenia juglonu, takie jak lucerna (BROOKES 1951), żyto (*Secale cereale* L.) (KALLENBACH i współaut. 2006) czy cebula (MACDANIELS i PINNOW 1976). W średniowiekowych plantacjach (15–30 lat) dobrze rosną rośliny tolerujące zacienienie i mniej wrażliwe na juglon np. tymotka (*Phleum pratense* L.) (MACDANIELS i PINNOW 1976), koniczyna biała (*Trifolium repens* L.), koniczyna czerwona (*Trifolium pratense* L.) (BOES 1986), jeżyna (*Rubus occidentalis* L.) (BROOKES 1951). W zaawansowanych wiekowo plantacjach orzecha włoskiego (>30 lat) mogą rosnąć tylko nieliczne rośliny dobrze

znoszące obecność juglonu takie jak dąb czerwony (*Quercus rubra* L.), klon cukrowy (*Acer saccharum* Marsh.) czy jesion amerykański (*Fraxinus americana* L.) (BURDE 1989). Jeszcze inną formą wykorzystania roślin z rodzaju *Juglans* są uprawy z trawami w formie tzw. silvopastures, często lokalizowane na terenach okresowo zlewanych m. in. w niektórych stanach w USA (REID i HUNT 2000). W Europie rolniczo-leśne systemy z udziałem orzecha włoskiego pozwalają uzyskiwać wyższe plony przy takim samym nakładzie pracy, a także zwiększyć bioróżnorodność na terenach agrocenoz (NERLICH i współaut. 2013).

Prowadzone są także liczne badania nad zastosowaniem juglonu jako środka odstraszającego owady od żerowania lub powodującego ich śmiertelność. PAVELA (2013) podaje, że związek ten powodował 12% śmiertelność wśród osobników muchy domowej (*Musca domestica* L.). Zależnie od stężenia wydłużał czas rozwoju i obniżał przyrost masy ciała lub powodował śmiertelność larw owocówki jabłowieczki (*Cydia pomonella*) (PISKORSKI i DORN 2011). AKHTAR i współaut. (2012) wykazali, że juglon w 100% zniechęcał do żerowania i w 5% powodował śmiertelność *Trichoplusia ni* Hub. Okazał się też bardzo aktywny w stosunku do przędziorka chmielowca (*Tetranychus urticae* Koch.) (AKHTAR i współaut. 2012). W przyszłości naftochinony, w tym juglon, mogą znaleźć zastosowanie w zintegrowanej metodzie ochrony roślin w walce ze szkodnikami.

Juglon jest także zaliczany do grupy substancji naturalnych, które mogą być wykorzystane w formie biopreparatów przeznaczonych do zwalczania chwastów. Stąd jednym z zadań współczesnej biotechnologii jest opracowanie skutecznych metod allelopatycznych z udziałem juglonu i ich wykorzystanie jako alternatywnych środków ochrony roślin, znacznie bardziej przyjaznych dla środowiska niż syntetyczne herbicydy (GNIAZDOWSKA 2007).

PODSUMOWANIE

Juglon, związek należący do klasy naftochinonów, charakterystyczny dla drzew z rodziny Juglandaceae, wykazuje złożone oddziaływania allelopatyczne w stosunku do wielu gatunków roślin. W komórkach roślin akceptorowych juglon generuje stres oksydacyjny i wpływa na ekspresję genów, co zakłóca prawidłowy przebieg wielu pro-

cesów życiowych. Prowadzi to do zmian fizjologicznych i morfologicznych w organizmach roślin eksponowanych na ten związek takich jak np. hamowanie kiełkowania nasion i wzrostu siewek, dlatego w przyszłości może znaleźć zastosowanie jako naturalny herbicyd. Juglon jest także szeroko wykorzystywany w przemyśle kosme-

tycznym i medycynie, a szczególnie duże nadzieje budzi możliwość wykorzystania go

jako potencjalnego leku przeciwnowotworowego.

ALLELOPATYCZNE ODDZIAŁYWANIE JUGLONU

Streszczenie

Allelopatia jest powszechnie występującym zjawiskiem w świecie roślin, które rosnąc w sąsiedztwie oddziałują na siebie hamująco bądź stymulująco, wpływając na bioróżnorodność w lokalnym środowisku. Allelopatyczne oddziaływania roślin z rodziny orzechowatych (Juglandaceae) są doskonale widoczne w przyrodzie. Drzewa te syntetyzują wiele allelozwiązków, jednak najważniejszym z nich jest juglon należący do klasy naftochinonów. W komórkach roślin akceptorowych juglon generuje stres oksydacyjny i wpływa na ekspresję genów, zakłóca-

jąc prawidłowy przebieg wielu procesów życiowych. Allelopatyczne modyfikacje na poziomie molekularnym znajdują odzwierciedlenie w fenotypie, skutkując hamowaniem kiełkowania nasion i zaburzeniem wzrostu siewek, co wykazano dla licznych gatunków roślin. Dlatego juglon w przyszłości może znaleźć zastosowanie jako naturalny herbicyd. Obecnie związek ten jest wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym i medycynie, a szczególnie duże nadzieje budzi możliwość wykorzystania go jako substancji czynnej w lekach przeciwnowotworowych.

ALLELOPATHIC EFFECTS OF JUGLONE

Summary

Allelopathy is a common phenomenon occurring in the plant's world and resulting from long term co-evolution. Plants growing in their neighborhood interact with each other on the way of inhibition or stimulation affecting environmental biodiversity. Allelopathic effects of plants from Juglandaceae family are well distinguished in natural environment. Such trees synthesize various allelochemicals, among which the most important is juglone, a compound belonging to the class of naphthoquinones. The juglone in acceptor plant's cells generates oxidative

stress and influences the expression of genes, which disturbs the proper functioning of many biochemical and physiological processes. Allelopathic modifications at the molecular level are reflected in the phenotype of plants, resulting in inhibition of seed germination and seedling growth, as evidenced for many plant species. Therefore, juglone in the future might be used as a natural herbicide. Currently, this compound is used in the cosmetic industry and in medicine; hopefully, it may also appear to be useful as a possible anticancer drugs component.

LITERATURA

- AKHTAR Y., ISMAN M. B., LEE C., LEE S., LEE H., 2012. *Toxicity of quinones against two-spotted spider mite and three species of aphids in laboratory and greenhouse conditions*. Indust. Crops Prod. 37, 536–541.
- AKHTAR Y., ISMAN M. B., NIEHAUS L. A., LEE C., LEE H., 2012. *Antifeedant and toxic effects of naturally occurring and synthetic quinines to the cabbage looper, Trichoplusia ni*. Crop Protect. 31, 8–14.
- APPLETON B., BERRIER R., HARRIS R., ALLEMAN D., SWANSON L. 2009. *Trees for problem landscape sites – the walnut tree: allelopathic effects and tolerant plants*. <http://pubs.ext.vt.edu/430/430-021/430-021.html>
- BABULA P., ADAM W., KIZEK R., ŚLADKY Z., HAVEL L., 2009. *Naphthoquinones as allelochemical triggers of programmed cell death*. Environ. Exp. Botan. 65, 330–337.
- BETTINA S., LEOPOLD D. J., WALTON D. C., 1990. *Seasonal patterns of juglone in soil beneath Juglans nigra (Black walnut) and influence of J. nigra on understory vegetation*. J. Chem. Ecol. 16, 1111–1130.
- BOŁONKOWSKA O., PIETROSIUK A., SYKŁOWSKA-BARANIEK K., 2011. *Roślinne związki barwne i ich właściwości biologiczne oraz możliwości wytwarzania w kulturach in vitro*. Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego 1, 1–27.
- BODE H. R., 1958. *Beiträge zur Kenntnis der allelopathischen Erscheinungen bei einigen Juglandaceen*. Planta 51, 440–480.
- BOES T. K., 1986. *Allelopathy: chemical interaction between plants*. Am. Nurser. 163, 67–72.
- BÖHM P. A. F., ZANARDO F. M. L., FERRARESE M. L. L., FERRARESE-FILHO O., 2006. *Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone*. Biol. Plant. 50, 315–317.
- BROOKS M. G., 1951. *Effect of black walnut trees and their products on other vegetation*. West Virginia Agric. Exp. Sta. Bull. 347, 1–37.
- BROOKS M. G., 1952. *Ferns associated with black walnut trees*. Am. Fern J. 42, 124–130.
- BURDE E. L., 1989. *Walnut Notes*. USDA For Serv North Central For Exp Station.
- BURGOS N. R., TALBERT R. E., KIM K. S., KUK Y. I., 2004. *Growth inhibition and root ultrastructure of cucumber seedlings exposed to allelochemicals from rye (Secale cereale)*. J. Chem. Ecol. 30, 671–689.
- CARBALLAS T., ANDREUX E., METHE M., 1972. *Controlling effect of some litter components in the formation and properties of the organic matter*

- of a calacereous brown soil. Bull. Ecole Nat. Sup. Agronom. Indrust. Aliment. 14, 245-261.
- CHI W.-CH., FU S.-F., HUANG T.-L., CHEN Y.-A., CHEN CH.-C., HUANG H.-J., 2011. Identification of transcriptome profiles and signaling pathways for the allelochemical juglone in rice roots. Plant Mol. Biol. 77, 591-607.
- CHOBOT V., HADACEK F., 2009. Milieu-dependent pro- and antioxidant activity of juglone may explain linear and nonlinear effects on seedling development. J. Chem. Ecol. 35, 383-390.
- CODER K. D., 2011. Black walnut allelopathy: tree chemical warfare. Allelop. Ser. WSFNR 11-10, 1-13.
- COOK M. T., 1921. Wilting caused by walnut trees. Phytopathology 11, 346.
- COSMOLESCU S., TRANDAFIR I., ACHIM G., BACIU A., 2011. Juglone content in leaf and green husk of five walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 39, 237-240.
- CUI C., CAI J., JIANG Z., ZHANG S., 2011. Effects of walnut (*Juglans regia* L.) root exudates on germination, seedling growth and enzymatic activities of turnip (*Brassica rapa* L.). Allelop. J. 28, 237-250.
- CURRELI N., RESCIGNO A., RINALDI A., PISU B., SOLLALI F., SANJUST E., 2004. Degradation of juglone by *Pleurotus sajor-caju*. Mycol. Res. 108, 913-918.
- DAUGHERTY W., SMITH S., WIGAL C., WERHOEK S., WILLIAMS S., 1995. Distribution of 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone and other naphthoquinone derivatives in the Juglandaceae (walnut family) and related families. Curr. Topics Plant Physiol. 15, 335-337.
- DAVIS E. F., 1928. The toxic principle of *Juglans nigra* as identified with synthetic juglone, and its effects on tomato and alfalfa plants. Am. J. Botan. 15, 620.
- DE SCISCIOLO B., LEOPOLD D. J., WALTON D. C., 1990. Seasonal patterns of juglone in soil beneath *Juglans nigra* (black walnut) and influence of *J. nigra* on understory vegetation. J. Chem. Ecol. 16, 1111-1130.
- ERCISLI S., ESTIKEN A., TURKKAL C., ORHAN E., 2005. The allelopathic effects of juglone and walnut leaf extract on yield, growth, chemical and PNE composition of strawberry cv. Fern. Plant Soil Environ. 51, 283-287.
- FISHER R. F., 1978. Juglone inhibits pine growth under certain moisture regimes. Soil Sci. Soc. Am. J. 42, 801-803.
- FUJITA K.-I., KUBO I., 2003. Synergism of polygodial and trans-cinnamonic acid on inhibition of root elongation in lettuce seedlings growth bioassays. J. Chem. Ecol. 29, 2253-2262.
- GIRZU M., FRAISSE D., CARNAT A. P., CARNAT A., LAMAI-SON J. L., 1998. High performance liquid chromatographic method for the determination of juglone in fresh walnut leaves. J. Chromatogr. A 805, 315-318.
- GNIAZDOWSKA A., 2007. Biotechnologia szansą dla zastosowania allelopatii jako alternatywnej metody zwalczania chwastów. Biotechnologia 77, 42-53.
- GNIAZDOWSKA A., ORACZ K., BOGATEK R., 2004. Allelopatia – nowe interakcje oddziaływań pomiędzy roślinami. Kosmos 53, 207-217.
- HADRAMI A. EL., KONE D., LEPOIVRE P., 2005. Effect of juglone on active oxygen species and antioxidant enzymes in susceptible and partially resistant banana cultivars to Black Leaf Streak Disease. Eur. J. Plant Pathol. 113, 241-254.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J., 1999. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, Oxford, New York.
- HARBORNE J. B., 1997. Ekologia biochemiczna. PWN, Warszawa.
- HEDRICK U. P., 1905. The relationship of plants in the orchard. Proc. Soc. Horticult. Sci. 1903, 72-82.
- HEJL A. M., KOSTER K. L., 2004. Juglone disrupts root plasma membrane H⁺-ATPase activity and impairs water uptake, root respiration, and growth in soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*). J. Chem. Ecol. 30, 453-472.
- INDERJIT, WEINER J., 2001. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology. Perspect. Plant Ecol. Evol. Systemat. 4, 3-12.
- INDERJIT, DUKE S. O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. Planta 217, 529-539.
- JASICKA-MISIAK I., 2009. Allelopatyczne właściwości metabolitów wtórnych roślin uprawnych. Wiadomości Chemiczne 63, 1-12.
- JONES L. R., MORSE W. J., 1903. The shrubby cinquefoil as a weed. Vermont Agricult. Exp. Stat. Ann. Rep. 16, 173-179.
- JOSE S., GILLESPIE A. R., 1998. Allelopathy of black walnut (*Juglans nigra* L.) alley cropping: II. Effects of juglone on hydroponically grown corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L. Merr) growth and physiology. Plant Soil 203, 199-205.
- JUNG K., FUJII Y., YOSHIZAKI S., KOBORI H., 2010. Evaluation of total allelopathic activity of harvested walnut (*Juglans ailanthifolia* Carr.) and its potential to control black locust (*Robinia pseudo-acacia* L.). Allelop. J. 26, 243-254.
- KALLENBACH R. L., KERLEY M. S., BISHOP-HURLEY G. J., 2006. Cumulative forage production, forage quality and livestock performance from an annual ryegrass and cereal rye mixture in a pine-walnut silvopasture. Agrofor. Syst. 66, 43-53.
- KHODZHIBAIEVA S. M., FILATOWA O. F., TYSHCHENKO A. A., 2000. New aspects of the preparation and control of juglone. Chem. Nat. Comp. 36, 281-283.
- KOCAÇALIŞKAN I., CEYLAN M., TERZI I., 2009. Effects of juglone on seedling growth in intact and coatless seeds of cucumber (*Cucumis sativus* cv. Beith Alpha). Sci. Res. Essays 4, 39-41.
- KOEPE D. E., 1972. Some reactions of isolated corn mitochondria influenced by juglone. Plant Physiol. 27, 89-94.
- KOPCEWICZ J., LEWAK S., 1998. Podstawy fizjologii roślin. PWN, Warszawa.
- KUŹNIAK E., URBANEK H., 2000. The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. Acta Physiol. Plant. 22, 195-203.
- LEE K. C., CAMPBELL R. W., 1969. Nature and occurrence of juglone in *Juglans nigra*. Hortiscience 4, 297-298.
- LESZCZYŃSKI B., MATOK H., SYTYKIEWICZ H., 2012. Basic aspects of walnut allelopathy: from field to biomolecules. Saarbrücken: Lap Lambert Academic Publishing.
- LIPiŃSKA H., HARKOT W., 2007. Allelopatia w zbiorowiskach trawiastych. Postępy Nauk Rolniczych 1, 49-61.
- MACDANIELS L. H., PINNOW D. L., 1976. Walnut toxicity, an unsolved problem. North. Nut Growers Assoc. Ann. Rep. 67, 114-122.
- MALLIK A. U., 2008. Allelopathy: Advances, Challenges and Opportunities. Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry, str. 25-38.
- MASSEY A. B., 1928. Are nut trees poisonous to other trees and plants? Flower Grower 15, 4.
- MATOK H., 2010. Wpływ wybranych metabolitów wtórnych orzecha włoskiego (*Juglans regia*) na kiełkowanie roślin. Praca doktorska, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach.

- MONTENEGRO R. C., ARAUJO A. J., MOLINA M. T., MARINHO FILHO J. D. B., ROCHA D. D., LOPEZ-MONTERO E., GOULART M. O. F., BENTO E. S., ALVES A. P. N. N., PESSOA C., DE MORAES M. O., COSTA-LOTUFLO L. V., 2010. *Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-O-methyl derivative*. Chem-Biol. Interact 184, 439–448.
- MULLER W. U., LINGENS F., 1988. *Degradation of 1,4-naphthoquinones by Pseudomonas putida*. Biol. Chem. Hoppe-Seyler 369, 1031–1043.
- MYLONA P. W., POLIDOROS A. N., SCANDALIOS J. G., 2007. *Antioxidant gene responses to ROS-generating xenobiotics in developing and germinated scutella of maize*. J. Exp. Bot. 58, 1301–1312.
- NERLICH K., GRAEFF-HONNINGER S., CLAUPEIN W., 2013. *Agroforestry in Europe: a review of the disappearance of traditional systems and development of modern agroforestry practices, with emphasis on experiences in Germany*. Agrofor. Syst. 87, 475–492.
- OLESEK W., 1996. *Allelopatia – rys historyczny, definicja, nazewnictwo*. Mat. Konf. Teoretyczne i praktyczne aspekty allelopatii. Wyd. IUNG, Puławy, K(10), 5–14.
- ORTON C. R., JENNY G., 1948. *Research powers of the farm*. West Virginia Agricult. Exp. Stat. Bull. 334, 3–35.
- PAVELA R., 2013. *Efficacy of naphthoquinones as insecticides against the house fly, Musca domestica L.* Indust. Crops Prod. 43, 745–750.
- PERRY G. S., 1932. *Some tree antagonisms*. Proc. Pennsylvania Acad. Sci. 6, 136–141.
- PETROVA S. A., KOLODYAZHNY M. V., KSENZHEK O. S., 1990. *Electrochemical properties of some naturally occurring quinones*. J. Electroanal. Chem. 277, 189–196.
- PIRONE P. P., 1938. *The detrimental effect of walnut on rhododendrons and other ornamentals*. Nursery Disease Notes (New Jersey Agricultural Experiment Station) 11, 1–4.
- PISKORSKI R., DORN S., 2011. *How the oligophage codling moth Cydia pomonella survives on walnut despite its secondary metabolite juglone*. J. Insect Physiol. 57, 744–750.
- PLAPPART J. F., 1777. *De juglande nigra, dissertatio inauguralis medicina*. Gerold, Vienna.
- PONDER F., TADORS S. H., 1985. *Juglone concentration in soil beneath walnut implanted with nitrogen-fixing species*. J. Chem. Ecol. 11, 937–942.
- PUTMAN A. R., TANG C. S., 1986. *The science of allelopathy*. John Wiley & Sons NY, USA.
- REID W., HUNT K. L., 2000. *Pecan production in the Northern United States*. Hortechology 10, 298–301.
- REIGOSA M. J., PAZOS-MALVIDO E., 2007. *Phytotoxic effects of 21 plant secondary metabolites on arabidopsis thaliana germination and root growth*. J. Chem. Ecol. 33, 1456–1466.
- REINKING O. A., 1943. *Possible black walnut toxicity on tomato and cabbage*. Northern Nut Growers Ann. Rep. 34, 56–58.
- RICE E. L., 1984. *Allelopathy*. Academic Press INC, Florida.
- RIETVELD W. J., 1981. *The significance of allelopathy in black walnut cultural systems*. Northern Nut Growers Assoc. 72, 117–134.
- RIETVELD W. J., 1983. *Allelopathic effects of juglone on germination of several herbaceous and woody species*. J. Chem. Ecol. 9, 295–308.
- RIZVI S. J. H., HAQUE H., SINGH V. K., RIZVI V., 1992. *A discipline called allelopathy*. [W:] Allelopathy. Basic and applied aspects. RIZVI S. J. H., RIZVI V. (red.). Chapman & Hall, London, 1–8.
- SCHMIDT S. K., 1988. *Degradation of juglone by soil bacteria*. J. Chem. Ecol. 14, 1561–1571.
- SCHNEIDERHAN F. J., 1926. *Apple disease studies in northern Virginia*. Virginia Agricult. Exp. Stat. Bull. 245, 1–35.
- SCOTT R., SULLIVAN W. C., 2007. *A review of suitable companion crops for black walnut*. Agrofor. Syst. 71, 185–193.
- SEKUTOWSKI T., 2010. *Alleloherbicydy i bioherbicydy – mit czy rzeczywistość?* J. Res. Aplic. Agricult. Engin. 55, 84–90.
- SMITH J. R., 1941. *One plant's meat is another plant's poison*. Northern Nut Growers Ann. Rep. 32, 28–31.
- SYTYKIEWICZ H., 2011. *Expression patterns of glutathione transferase gene (GstI) in maize seedlings under juglone-induced oxidative stress*. Int. J. Mol. Sci. 12, 7982–7995.
- TEKINTAS E., TANRISEVER A., MENDILCJOGLU K., 1988. *Juglon'un tohum cimlenmesine etkileri*. Ege Universitesi Ziraat Fakultes Dergisi 25, 203–213.
- TERZI I., 2008. *Allelopathic effects of Juglone and decomposed walnut leaf juice on muskmelon and cucumber seed germination and seedling growth*. Afr. J. Biotech. 7, 1870–1874.
- TERZI I., KOCALIŞKAN I., 2009. *Alleviation of juglone stress by plant growth regulators in germination of cress seeds*. Sci. Res. Essay 4, 436–439.
- TERZI I., KOCALIŞKAN I., 2010. *The effects of gibberellic acid and kinetin on overcoming the effects of juglone stress on seed germination and seedling growth*. Turk. J. Botan 34, 67–72.
- TERZI I., KOCALIŞKAN I., BENLIOĞLU O., SOLAK K., 2003a. *Effects of juglone growth of cucumber seedlings with respect to physiological and anatomical parameters*. Acta Physiol. Plant. 25, 353–356.
- TERZI I., KOCALIŞKAN I., BENLIOĞLU O., SOLAK K., 2003b. *Effects of juglone on growth of muskmelon seedlings with respect to physiological and anatomical parameters*. Biol. Plant. 47, 317–319.
- THAKUR A., 2011. *Juglone: A therapeutic phytochemical from Juglans regia L.* J. Med. Plants Res. 22, 5324–5330.
- THEVATHASANS N. V., GORDON A. M., VORONEY R. P., 1998. *Juglone (5-hydroxy-1,4 naphthoquinone) and soil nitrogen transformation interactions under a walnut plantation in southern Ontario, Canada*. Agrofor. Syst. 44, 151–162.
- WILLIS R. J., 2007. *The history of allelopathy*. Springer, Berlin.
- WILKINSON J.F., 1948. *The toxic effect of walnut trees on apple trees and other plants*. Iowa State Horticult. Soc. Proc. 82, 134–137.
- VON KIPARSKI G. R., LEE L. S., GILLESPIE A. R., 2007. *Occurrence and fate of the phytotoxin juglone in alley soils under black walnut trees*. J. Envir. Quality 36, 709–717.
- VYVYAN J. R., 2002. *Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals*. Tetrahedron 58, 1631–1646.
- YANG L., WANG P., KONG CH., 2010. *Effects of larch (Larix gmelini Rupr.) root exudates on Manchurian walnut (Juglans mandshurica Maxim.) growth and soil juglone in a mixed-species plantation*. Plant Soil 329, 249–258.