

URSZULA KRASUSKA, PAWEŁ STASZEK, ANNA ANTOSIK, AGNIESZKA GNIAZDOWSKA

*Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolnictwa i Biologii
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
E-mail: agnieszka_gniazdowska@sggw.pl*

REAKTYWNE FORMY TLENU W ODDZIAŁYWANIACH ALLELOPATYCZNYCH

WSTĘP

Reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) są produktami niepełnej redukcji cząsteczki tlenu i powstają w każdej komórce żywego organizmu, jako naturalny skutek obecności tlenu w atmosferze ziemskiej. Do podstawowych ROS zaliczamy cząsteczki o charakterze rodnikowym takie jak: anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), rodnik hydroksylowy ($\cdot OH$), ale także nadtlenek wodoru (H_2O_2), który nie jest wolnym rodnikiem (BARTOSZ 2006). Toksyczne działanie ROS na elementy strukturalne komórki (białka, lipidy, kwasy nukleinowe) jest znane od dawna (BARTOSZ 2006, MAŁECKA i TOMASZEWSKA 2005). Jednak w ostatnim dziesięcioleciu coraz więcej mówi się o ich sygnałowej (informacyjnej) roli, wskazując na ważną funkcję w modelowaniu odpowiedzi rośliny na działanie niekorzystnych warunków środowiskowych (biotycznych i abiotycznych) (MILLER i współaut. 2008, APEL i HIRT 2004). Indukcja stresu oksydacyjnego, polegającego na nadprodukcji ROS, jest uznawana przez wielu autorów za wspólną odpowiedź roślin na działanie różnych czynników stresowych (OLKO i KUJAWSKA 2011, DĄBROWSKI i współaut. 2009). Także, coraz powszechniej, podkreśla się fakt uczestnictwa ROS w regulacji procesów fizjologicznych roślin zaczynając od kiełkowania, a kończąc na dojrzewaniu owoców i starzeniu (KRASUSKA i współaut. 2011, GAPPER i DOLAN 2006). Obszerną literaturę na temat znaczenia ROS w roślinach znajdzie zainteresowany czytelnik w pracach przeglądowych SZYMAŃSKIEJ i STRZAŁKI (2010) oraz NOWICKIEJ i KRUKA (2013).

Pod terminem allelopatia kryją się oddziaływania, najczęściej negatywne, pomiędzy sąsiadującymi roślinami, za pośrednictwem związków chemicznych, które wydzielane są do środowiska. Znaczenie allelopatii dla kształtowania zbiorowisk roślinnych, mechanizm działania niektórych, zidentyfikowanych związków allelopatycznych oraz możliwości praktycznego wykorzystania roślin o wysokim potencjale allelopatycznym omówiono w pracach przeglądowych w języku polskim (GNIAZDOWSKA i współaut. 2004; LESZCZYŃSKA i GRABIŃSKI 2004; GNIAZDOWSKA 2005, 2007, 2008; LIPIŃSKA 2006; JEZIERSKA-DOMARADZKA 2007; KOPERSKA 2007; LIPIŃSKA i HARKOT 2007; SIEGIEN i współaut. 2008; JASICKA-MISIAK 2009; SOŁTYS i współaut. 2010a, b).

Pomimo stosunkowo wielu badań dotyczących wytwarzania ROS w komórkach roślin narażonych na działanie stresów, zagadnienie powiązania stresu/sygnału oksydacyjnego z oddziaływaniami allelopatycznymi nie było dotąd kompleksowo podejmowane w polskiej literaturze. Celem niniejszej pracy jest zatem przedstawienie roli ROS w odpowiedzi roślin na obecność w środowisku związków allelopatycznych.

W opublikowanych blisko 10 lat temu pracach przeglądowych postawiono pytanie, czy stresowi allelopatycznemu towarzyszy stres oksydacyjny (GNIAZDOWSKA i współaut. 2004, GNIAZDOWSKA i BOGATEK 2005). Uzyskanie jednoznacznej odpowiedzi było wówczas niemożliwe, głównie ze względu na bardzo

Tabela 1. Przykłady niektórych związków allelopatycznych których obecność wywołuje modyfikacje metabolizmu ROS w roślinach.

| Związek allelopatyczny | Akceptor | Modyfikacje metabolizmu ROS | Literatura |
|---|---|---|--|
| Izotiocyaniany (ITC) | <i>Arabidopsis thaliana</i> | Stężenie ROS↑, | HARA i współpracownicy. 2010 |
| β-Myrcen | <i>Avena fatua</i> , <i>Phalaris minor</i> , <i>Cyperus rotundus</i> | Stężenie ROS ↑ | SINGH i współpracownicy. 2009 |
| α-Pinen, kumaryna, kwercetyna, kwas ferulowy | <i>Ipomea triloba</i> | Aktywność: POx↑, GR↑ i CAT↑ | PERGO I ISHII-IWAMOTO 2011 |
| Etylo 2-metylo acetoocetan (EMA) | <i>Microcystis aeruginosa</i> | Aktywność: CAT↑, SOD↓, enzymy cyklu Halliwella-Asady ↓ | HONG współpracownicy. 2008, 2010 |
| Berberyna | <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Cucumis sativus</i> , | Stężenie O ₂ • ⁻ ↑, GSH↑ aktywność: SOD↓, | ZHANG i współpracownicy. 2010, 2011 |
| Kwas sekalonowy F | <i>Zea mays</i> , <i>Sorghum bicolor</i> | Aktywność SOD↓ | ZENG i współpracownicy. 2001 |
| Myrigalon A, flawonoidy | <i>Lepidium sativum</i> | Stężenie ROS ↓, aktywność błonowej oksydazy NADPH ↓ | ORACZ i współpracownicy. 2012 VOEGELE i współpracownicy. 2012 |
| Kwas cyjanonowy | <i>Cucumis sativus</i> | Stężenie ROS ↑, Aktywność: błonowej oksydazy NADPH↑, CAT↑, SOD↑ | DING i współpracownicy. 2007 |
| Kwas kawowy, p-kumarowy, ferulowy, sinapinowy | <i>Cucumis sativus</i> | Aktywność: SOD↑, POx↑ | YU i współpracownicy. 2003 |
| Kwas ftalowy | <i>Malus prunifolia</i> | Stężenie ROS↑, Aktywność: CAT↑, POx↑, SOD↑, Enzymy cyklu Halliwella-Asady ↑ | BAI i współpracownicy. 2009 |
| Kwas galusowy | <i>Arabidopsis thaliana</i> | Stężenie ROS ↑ | RUDRAPPA i współpracownicy. 2007 |

Symbol ↑ oznacza wzrost stężenia metabolitu lub aktywności enzymu, symbol ↓ oznacza obniżenie stężenia metabolitu lub aktywności enzymu.

nieliczne doniesienia na temat ROS w roślinach poddanych działaniu związków allelopatycznych. Obecnie dysponujemy znacznie obszerniejszą wiedzą, wskazującą na związek pomiędzy oddziaływaniami allelopatycznymi lub fitotoksycznymi roślin a metabolizmem ROS. W tym miejscu należy wyjaśnić dodatkowo, że jeżeli badania nad oddziaływaniami allelopatycznymi prowadzone są w warunkach laboratoryjnych na całych roślinach, ich fragmentach, kulturach tkankowych, z

udziałem ekstraktów roślinnych bądź wyizolowanych z nich pojedynczych związków lub odpowiedników syntetycznych, często określa się je jako „oddziaływania fitotoksyczne” lub „fitotoksyczność”. W literaturze funkcjonuje również termin „potencjał allelopatyczny”, który oznacza zdolność danego związku allelopatycznego lub ekstraktu/wyciągu z roślin do hamowania kiełkowania nasion bądź ograniczania wzrostu rośliny testowej (WÓJCIK-WOJTKOWIAK i współpracownicy. 1998).

ZWIĄZKI ALLELOPATYCZNE MODYFIKUJĄ WYTWARZANIE ROS I WPŁYWAJĄ NA ZMIANĘ AKTYWNOŚCI KOMÓRKOWEGO SYSTEMU MODULUJĄCEGO STĘŻENIE ROS

W celu przeciwdziałania niekontrolowanemu wzrostowi stężenia ROS w komórce aktywowany jest system antyoksydacyjny, którego zadaniem jest również modelowanie stężenia ROS. Głównymi elementami enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego są: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) i peroksydazy (POx), w tym peroksydaza glutationowa (GPX). Wśród enzymów kontrolujących stężenie ROS istotne znaczenie mają również enzymy cyklu Halliwell-Asady, warunkujące odpowiedni stan redoks nieenzymatycznych antyoksydantów: reduktaza glutationowa (GR), reduktaza monodehydroaskorbinianowa (MDAR), reduktaza dehydroaskorbinianowa (DHAR), peroksydaza askorbinianowa (APX). Natomiast do drobnocząsteczkowych antyutleniaczy należą przede wszystkim glutation (GSH) i askorbinian (AsA) (przeciwutleniacze hydrofilowe), a także tokoferole i karotenoidy (przeciwutleniacze hydrofobowe) (BARTOSZ 2006). Elementy systemu antyoksydacyjnego występują we wszystkich przedziałach komórkowych, w których dochodzi do powstawania ROS (MITTLER 2002).

Zaobserwowano, że w przypadku stosowania wielu związków allelopatycznych częstą reakcją roślin jest wzrost stężenia ROS i zmiana aktywności enzymów systemu antyoksydacyjnego. Izotiocyaniany (ITC), obecne w tkankach roślin Brassicaceae, stanowią obiecujące źródło bioherbicydów, gdyż wykazują wysoką toksyczność w stosunku do wielu innych roślin. HARA i współaut. (2010) wykazali, że oprysk roztworem ITC w stężeniach 10-100 mM powoduje widoczne uszkodzenia (żółknięcie i brązowienie) liści rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*). Degradacji chlorofilu towarzyszył wzrost przepuszczalności błon komórkowych oraz akumulacja ROS. Toksyczny efekt ITC był ponadto związany z niską ekspresją genu kodującego peroksydazę At5g64120 (HARA i współaut. 2010).

Olejki eteryczne wydzielane przez rośliny z rodzaju *Artemisia* odpowiadają za ich wysoki potencjał allelopatyczny i hamują kiełkowanie nasion oraz wzrost siewek innych gatunków. SINGH i współaut. (2009) zbadali wpływ monoterpenu β -myrcenu (0,07–0,70 mg ml⁻¹) na kiełkowanie nasion i wzrost korzeni owsa głuchego (*Avena fatua*), mozgi drobnej (*Phalaris minor*) i cibory (*Cyperus rotundus*). Ograniczenie wzrostu korzeni i

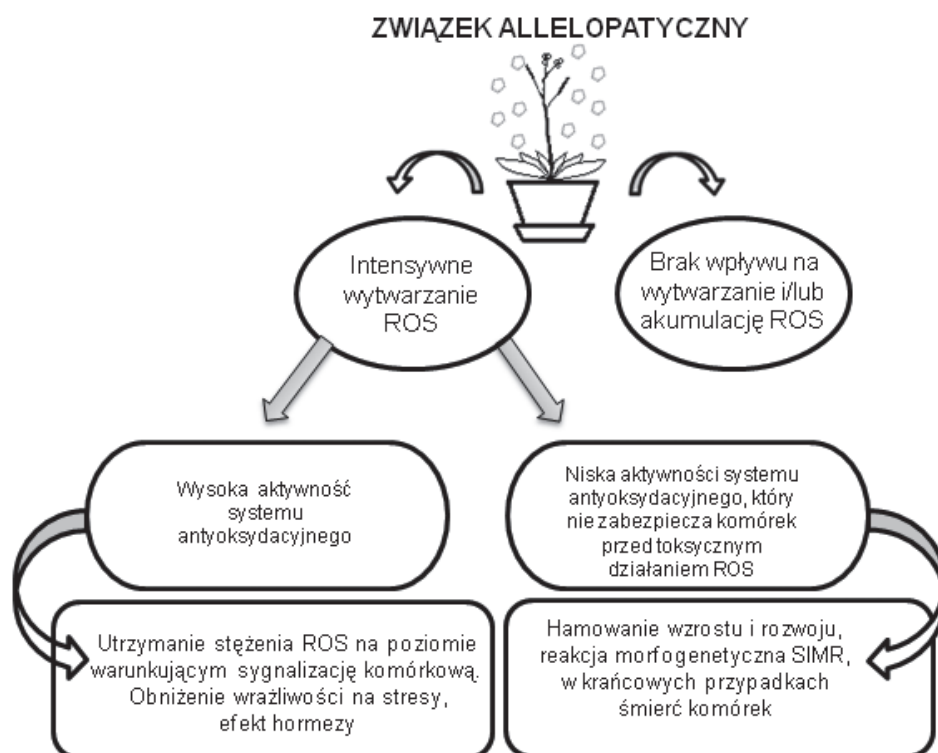
zahamowane kiełkowanie nasion były spowodowane nagromadzeniem H₂O₂ w tkankach roślin poddanych działaniu fitotoksyny, czemu towarzyszył wzrost przepuszczalności błon komórkowych i zawartości aldehydu dimalonowego (MDA), produktu rozpadu kwasów tłuszczowych błon komórkowych. U kukurydzy (*Zea mays*) zwiększoną peroksydację lipidów powodowały też inne olejki eteryczne i monoterpény, np. mentol, kamfora, geraniol, α -pinen (ZUNINO i ZYGADLO 2004).

Wyciąg wodny z liści *Sicyos deppei*, chwastu występującego powszechnie w Meksyku, hamował wzrost korzeni siewek pomidora (*Lycopersicon esculentum*) (ROMERO-ROMERO i współaut. 2005), nie wpływał jednak na kiełkowanie nasion (LARA-NUÑEZ i współaut. 2006). Po 24 godzinach imbibicji nasion w ekstrakcie allelopatycznym obserwowano znaczący wzrost stężenia H₂O₂ (LARA-NUÑEZ i współaut. 2006). W tym czasie następowało zakończenie kiełkowania nasion *sensu stricto*. Natomiast podczas wzrostu wydłużeniowego korzenia, który był zahamowany w 70% przez allelozwiązki, różnica w zawartości H₂O₂ w stosunku do nasion kontrolnych (kiełkujących w wodzie) była nieistotna. Nieco inaczej kształtowała się zawartość O₂^{-•}, którego statystycznie istotną niższą zawartość oznaczono podczas wzrostu korzeni w obecności wyciągu z liści *Sicyos deppei*. Zmianom stężenia ROS towarzyszyły modyfikacje aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Aktywność CAT podczas kiełkowania nasion była hamowana przez allelozwiązki, natomiast wzrastała w czasie wzrostu korzeni. Inny przebieg zmian obserwowano dla aktywności SOD, która w nasionach kiełkujących w obecności ekstraktu allelopatycznego po nieznacznym wzroście w ostatniej fazie kiełkowania, utrzymywała się na stałym poziomie podczas wydłużania korzenia i w rezultacie była niższa niż w korzeniach kiełkujących w wodzie (LARA-NUÑEZ i współaut. 2006). Podobne zahamowanie aktywności SOD obserwowano w nasionach ogórka (*Cucumis sativus*), kukurydzy i sorgo (*Sorghum bicolor*) traktowanych kwasem sekalonowym F, izolowanym z grzyba *Aspergillus japonicus* (ZENG i współaut. 2001), a także w liściach i korzeniach siewek sałaty (*Lactuca sativa*) traktowanych 2(3H)-benzoksazolinonem (BOA) (SANCHES-MOREIRAS i REIGOSA 2005).

Kielkowanie nasion wilca (*Ipomea triloba*) oraz wzrost korzeni siewek były badane w obecności 0,5 mM roztworów α -pinenu, kumaryny, kwercetyny i kwasu ferulowego (PERGO i ISHII-IWAMOTO 2011). Związki te nieznacznie opóźniały kiełkowanie nasion chwastu i hamowały wzrost elongacyjny korzeni. Autorzy sugerują, że w tym przypadku przyczyną ograniczonego wzrostu korzeni była indukcja stresu oksydacyjnego. Wskazuje na to podwyższona aktywność GR i niespecyficznych substratowo peroksydaz (POx) po zastosowaniu α -pinenu, POx w obecności kumaryny i GR oraz CAT w roślinach traktowanych kwasem ferulowym (PERGO i ISHII-IWAMOTO 2011).

Etylo 2-metylo acetoctan (EMA) jest jednym z podstawowych związków chemicznych odpowiadających za fitotoksyczność trzciny (*Phragmites australis*). Związek ten hamował wzrost komórek sinicy (*Microcystis aeruginosa*), czemu towarzyszył wzrost aktywności CAT, szczególnie po ponad 24 godzinnej ekspozycji na EMA i postępujące w miarę przedłużania czasu traktowania obniżenie aktywności SOD (HONG i współaut.

2008). Wydaje się, że to właśnie niedostatecznie działający system detoksykacji $O_2^{\cdot-}$ mógł odpowiadać za toksyczny efekt wywołany przez EMA. Testowany związek wpływał także na zawartość antyutleniaczy, glutationu i askorbinianu, w zredukowanej (GSH i AsA) i utlenionej formie (GSSG i DHAsA) powodując przejściowe, krótkotrwałe nagromadzenie GSH i AsA. Jednak przedłużanie czasu ekspozycji na EMA i wysokie stężenia allelozwiązku nie wpływały znacząco na zawartość AsA i GSH, co sugeruje obniżoną aktywność enzymów cyklu glutationowo-askorbinowego (HONG i współaut. 2008). Berberyna wykazuje podobny do EMA mechanizm hamowania wzrostu *M. aeruginosa* (ZHANG i współaut. 2011). Została zidentyfikowana jako jeden z głównych allelozwiązków cynowodu (*Coptis chinensis*) (ZHANG i współaut. 2010). Wzrost zawartości MDA w komórkach *M. aeruginosa* w obecności berberyny (0,005–0,03%) był skorelowany z nagromadzeniem $O_2^{\cdot-}$ oraz obniżeniem aktywności SOD. Uszkodzenia oksydacyjne błon komórkowych *M. aeruginosa* w obecności berberyny występowały pomimo wzrostu zawartości GSH podczas



Ryc. 1. Relacje pomiędzy oddziaływaniami allelopatycznymi a metabolizmem ROS w roślinach. Związki allelopatyczne (pięciokąty) mogą wywoływać modyfikacje wytwarzania i usuwania ROS w komórkach roślin akceptorowych, co w rezultacie determinuje przebieg procesów wzrostu i rozwoju.

przedłużającej się ekspozycji na ten allelozwiązek (ZHANG i współaut. 2011).

Hamowanie kiełkowania nasion gorczycy (*Sinapis alba*) w obecności ekstraktu z liści słonecznika (*Helianthus annuus*) także prowadziło do gromadzenia ROS, czemu towarzyszył wzrost zawartości MDA i zwiększony wyciek elektrolitów (ORACZ i współaut. 2007). Wraz ze wzrostem stężenia ROS następował wzrost aktywności SOD i CAT (BOGATEK i GNIAZDOWSKA 2007, ORACZ i współaut. 2007), który był jednak niewystarczający dla usunięcia uszkodzeń oksydacyjnych. Znacznie wyższą niż w roślinach kontrolnych aktywność SOD i POx stwierdzono także w korzeniach siewek ogórka poddanych działaniu kwasu kawowego, *p*-kumarowego, ferulowego lub sinapinowego (o stężeniu 0,25 mM) (YU i współaut. 2003). Dane te potwierdzono stosując eksudaty korzeniowe lub ekstrakty z korzeni. Podobną reakcję zaobserwowano w korzeniach siewek jabłoni śliwolistnej (*Malus prunifolia*) traktowanych kwasem ftalowym (1 mM), który podejrzewany jest o powodowanie tzw. choroby replantacyjnej jabłoni (BAI i współaut. 2009). Wzrost

stężenia ROS ($O_2^{\cdot-}$ oraz H_2O_2) w korzeniach jabłoni następował nawet wówczas, gdy znacząco aktywowany był enzymatyczny system antyoksydacyjny. Po 2 tygodniach ekspozycji na kwas ftalowy aktywność CAT i POx była 2-krotnie wyższa niż w roślinach kontrolnych, a aktywność SOD wzrastała ponad 4-krotnie. Obserwowano także stymulację aktywności enzymów cyklu Halliwella-Asady. Nagromadzenie w tych warunkach ROS prowadziło do uszkodzeń błon komórkowych (BAI i współaut. 2009).

Przytoczone powyżej przykłady wskazują, że częstą reakcją roślin na obecność związków allelopatycznych może być nagromadzenie ROS, w tym szczególnie H_2O_2 (Ryc. 1, Tabela 1). W ogromnej większości przypadków reakcja ta jest skorelowana ze wzrostem aktywności systemu antyoksydacyjnego. Jednak nie zawsze modyfikacja aktywności tego systemu zapewnia utrzymanie stężenia ROS na poziomie odpowiadającym tylko transdukcji sygnału, dużo poniżej wartości indukującej nieodwracalne uszkodzenia struktur komórkowych, w ostatecznym efekcie prowadzące do śmierci (Ryc. 1).

MODYFIKACJA WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN PRZEZ ZWIĄZKI ALLELOPATYCZNE WYNIKA Z MODULACJI AKTYWNOŚCI BŁONOWEJ OKSYDAZY NADPH

Błonowa oksydaza NADPH to kompleks enzymatyczny odpowiadający za wytwarzanie ROS w przestrzeni apoplastycznej. Enzym ten uczestniczy w tzw. reakcji nadwrażliwości roślin na działanie patogenów, a także odpowiada za czasowo-przestrzenne przekazywanie sygnału w postaci fali ROS pomiędzy komórkami, a nawet tkankami, warunkującego prawidłowy przebieg wielu procesów u roślin np. kiełkowania nasion lub wzrostu korzeni bocznych (MARINO i współaut. 2012). Bardzo interesująco przedstawiają się dane dotyczące wpływu związków allelopatycznych na aktywność tego enzymu. Ekstrakt z *Sycos deppei* powodował wzrost aktywności oksydazy NADPH podczas ostatniej fazy kiełkowania nasion pomidora, natomiast w trakcie wzrostu korzenia wyraźnie obniżał aktywność tego enzymu (LARA-NUÑEZ i współaut. 2006). Obniżenie apoplastycznej syntezy ROS (szczególnie $O_2^{\cdot-}$), związanej pośrednio także z aktywnością błonowej oksydazy NADPH, zaobserwowano w kiełkujących nasionach pieprzycy siewnej (*Lepidium sativum*) traktowanej myriganonem A,

flawonoidem znajdującym się w eksudatach owoców woskownicy europejskiej (*Myrica gale*) (ORACZ i współaut. 2012, VOEGELE i współaut. 2012). Autorzy sugerują jednak, że w przypadku tego związku zaburzenie procesu kiełkowania może być związane z jego antyoksydacyjnym działaniem, którego efektem jest zahamowanie rozluźnienia ściany komórkowej komórek endospermu, warunkującego przebicie się korzenia zarodkowego przez okrywy nasienne.

Odmienne wyniki uzyskano analizując wpływ kwasu cynamonowego na aktywność oksydazy NADPH w korzeniach siewek ogórka i dyni (*Cucurbita ficifolia* Bouche) (DING i współaut. 2007). U autotoksycznego ogórka, w którego eksudatach korzeniowych zidentyfikowano kwas cynamonowy i którego wzrost korzeni był bardzo silnie hamowany przez ten allelozwiązek, aktywność oksydazy NADPH wzrastała prawie dwukrotnie. Natomiast w korzeniach dyni, niewrażliwej na kwas cynamonowy, nie zaobserwowano zmian aktywności enzymu, nie stwierdzono też nagromadzenia ROS. Przeciwnie, u

ogórka, obserwowano generowanie $O_2^{\cdot-}$ i H_2O_2 , postępujące wraz ze wzrostem stężenia allelozwiązku. Wzrost syntezy ROS w korzeniach ogórka stanowił prawdopodobnie główną przyczynę obniżenia żywotności komórek i ich przyspieszonej śmierci, nawet pomimo wysokiej aktywności CAT i wzrostu aktywności SOD (DING i współaut. 2007), a także APX i POx (YE i współaut. 2006).

Wydaje się zatem, że jednym z mechanizmów działania związków allelopatycznych może być indukcja stresu oksydacyjnego, obejmująca także aktywację oksydazy NADPH i tak wysokie wytwarzanie ROS, które nie są usuwane nawet przez aktywowany system antyoksydacyjny.

MODYFIKACJA STĘŻENIA ROS W ODPOWIEDZI NA ZWIĄZKI ALLELOPATYCZNE WYWOŁUJE ZMIANY FUNKCJONOWANIA CYTOSZKIELETU I STRUKTURY ŚCIANY KOMÓRKOWEJ PROWADZĄCE DO ZABURZENIA WZROSTU KOMÓREK

Jak wzmiankowano w poprzednim rozdziale, ROS odgrywają kluczową rolę w rozluźnianiu lub usztywnianiu ściany komórkowej, ułatwiając lub odpowiednio utrudniając wzrost komórki. Gromadzenie $\cdot OH$ w apoplacie następuje w wyniku przekształcania $O_2^{\cdot-}$ będącego produktem aktywności oksydazy NADPH, w reakcji katalizowanej przez POx (reakcja Fentona) (LISZKAY i współaut. 2004). Wytwarzany $\cdot OH$ powoduje pękanie polimerów matriksu ściany komórkowej, co ułatwia wzrost komórek (LISZKAY i współaut. 2004). Ilość gromadzonego $\cdot OH$ kontrolowana jest przez auksyny (IAA), które wpływają na aktywność oksydazy NADPH (SCHOPFER i współaut. 2002). Z kolei obecność H_2O_2 sprzyja tworzeniu mostków pomiędzy polimerami ściany komórkowej czego efektem jest jej usztywnienie (SCHOPFER 1996). Zależności pomiędzy toksycznym działaniem niektórych związków allelopatycznych a lignifikacją i usztywnieniem ściany komórkowej zaobserwowano szczególnie w komórkach korzeni. Kwas ferulowy (1 mM) powodował znaczne zahamowanie wzrostu korzeni siewek soi (*Glycine max*) (SANTOS DOS i współaut. 2004, 2008), chociaż nie obserwowano w nich akumulacji ROS (DOS SANTOS i współaut. 2008). Natomiast w komórkach roślin traktowanych kwasem ferulowym wzrastała bardzo znacznie aktywność peroksydazy ściany komórkowej i amoniakolizy L-feniloalaniny (PAL), podstawowych enzymów szlaku fenylopropanoidów, co wiązało się ze wzrostem syntezy ligniny. Wydaje się zatem, że w przypadku kwasu ferulowego ograniczenie wzrostu korzeni może wynikać z syntezy ligniny i, co za tym idzie, usztywnienia ściany komórkowej. H_2O_2 niezbędny w tym procesie może być wynikiem aktywacji przez kwas ferulowy oksydazy NADPH lub POx. Także hamowanie wzrostu korzeni siewek soi

przez kwas kawowy (1–2 mM) lub L-DOPA (L-3,4-dihydroksyfeniloalanina) (0,5–1 mM) było związane ze wzrostem lignifikacji ściany komórkowej (BUBNA i współaut. 2011, SOARES i współaut. 2007). Jednak dla kwasu kawowego, podobnie jak kwasu ferulowego nie zaobserwowano w komórkach korzeni nagromadzenia ROS, a nawet ich stężenie było poniżej możliwości detekcji (BUBNA i współaut. 2011).

Z kolei, toksyczne działanie cyjanamidu (CA), allelozwiązku obecnego w tkankach wyki kosmatej (*Vicia villosa*) nie zawsze objawiało się indukcją stresu oksydacyjnego (SOLTYS i współaut. 2010b, 2013). Analiza zmian stężenia H_2O_2 i $O_2^{\cdot-}$ w korzeniach cebuli (*Allium cepa*) i pomidora traktowanych CA wykazała odmienny efekt działania tego związku w obu gatunkach. W siewkach pomidora traktowanych CA stężenie ROS utrzymywało się na stałym poziomie przez 2 dni, podczas gdy 3 dnia obserwowano jego wyraźne obniżenie (SOLTYS i współaut. 2013). U cebuli natomiast, w zależności od stężenia, następowało obniżenie lub gwałtowny wzrost zawartości ROS w korzeniach. Różnice w ilości wytwarzanych ROS w obu gatunkach roślin mogą wynikać z odmiennego wpływu CA na aktywność enzymów antyoksydacyjnych, chociaż traktowanie uspionych pąków winorośli CA prowadziło do akumulacji H_2O_2 i obniżenia aktywności CAT (PEREZ i LIRA 2005, PEREZ i współaut. 2008). Oddziaływanie CA na komórki korzeni cebuli, skorelowane ze wzrostem stężenia ROS, prowadziło do zmian organizacji cytoszkieletu (SOLTYS i współaut. 2011). Podobną destrukcję mikrotubul stwierdzono w korzeniach rzodkiewnika w obecności kwasu galusowego (50 μM), a reakcja ta była wynikiem wzrostu stężenia ROS (RUDRAPPA i współaut. 2007). W korzeniach pomidora traktowanego CA

obserwowano także zmianę ekspresji genów kodujących ekspansyny, uczestniczące w roz-

luźnieniu struktury ściany komórkowej (SOLTYS i współaut. 2012).

MODYFIKACJA METABOLIZMU ROS W OBECNOŚCI ZWIĄZKÓW ALLELOPATYCZNYCH PROWADZI DO ZMIANY WRAŻLIWOŚCI ROŚLIN NA INNE STRESY BIOTYCZNE I ABIOTYCZNE

Ekspozycja roślin na stres o niewielkim natężeniu aktywuje ich system antyoksydacyjny, zapewniając tym samym tolerancję na inny rodzaj stresu, który także wywołuje zaburzenia metabolizmu ROS (KACPERSKA 2012). Odpowiedź tzw. krzyżową zanotowano np. w przypadku krótkotrwałego stresu wysokiej temperatury podnoszącego odporność siewek kukurydzy na niską temperaturę, suszę czy zasolenie (GONG i współaut. 2001). Jak dowodzi szereg przytoczonych powyżej przykładów, związki allelopatyczne modyfikują metabolizm ROS, wielokrotnie prowadząc do powstania stresu oksydacyjnego, lub aktywują mechanizmy obronne poprzez zwiększenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych lub zmianę ekspresji genów kodujących te białka (MYLONA i współaut. 2007, GOLISZ i współaut. 2011). Na tym tle interesujące staje się zagadnienie dotyczące wpływu związków allelopatycznych na odporność roślin na inne czynniki abiotyczne i biotyczne.

Li i współaut. (2011) badali efekt wstępnego traktowania siewek ogórka kwasem cynamonowym o niskim (50 μM) stężeniu na ich wrażliwość na stres chłodu. Zaobserwowano, że rośliny traktowane kwasem cynamonowym lepiej znosiły działanie chłodu niż siewki traktowane tylko niską temperaturą, przy czym wyraźnie korzystny efekt kwasu cynamonowego zanotowano w liściach. Wykazano, że wstępne traktowanie siewek ogórka allelozwiązkiem obniża generowanie ROS w komórkach roślin, które były eksponowane na chłód, w porównaniu do tych, które poddano działaniu chłodu, ale nie traktowano kwasem cynamonowym. Wzrost odporności ogórka na chłód wywołany traktowaniem kwasem cynamonowym można wiązać z nieznaczną stymulacją aktywności SOD, CAT

oraz enzymów szlaku Halliwella-Asady (GPX i APX). Obniżenie stężenia ROS i mniejszą ilość uszkodzeń oksydacyjnych w siewkach poddanych działaniu obu stresorów można także tłumaczyć zwiększoną zawartością GSH i AsA (Li i współaut. 2011).

Pojawiają się też, na razie nieliczne, doniesienia wskazujące na związek pomiędzy wrażliwością roślin na patogeny a obecnością silnych związków allelopatycznych lub autotoksycznych. Wykazano, że kwas cynamonowy, autotoksyna obecna w eksudatach korzeniowych ogórka, zwiększa podatność siewek tej rośliny na infekcję grzybową *Fusarium oxysporum* (YE i współaut. 2004). Siewki ogórka traktowane kwasem cynamonowym przed inokulacją *F. oxysporum*, powodującym zgorzel korzeni, rozwijały się znacznie gorzej niż siewki traktowane tylko allelozwiązkiem lub tylko inokulowane *F. oxysporum* (YE i współaut. 2006). Patologiczne zmiany morfologiczne polegające na brązowieniu tkanki były znacznie bardziej widoczne w przypadku roślin poddanych działaniu obu stresorów. Kwas cynamonowy o stężeniu powyżej 0,1 mM, w połączeniu z infekcją grzybową, prowadziły do przedwczesnego zamierania roślin. Oba czynniki stresowe powodowały wzrost zawartości MDA, przy czym efekt ten był addytywny w przypadku łącznego zastosowaniu allelozwiązku i inokulacji. Podobną zależność zaobserwowano dla $\text{O}_2^{\cdot-}$, którego powstawanie w przeciwieństwie do H_2O_2 było wyraźnie stymulowane przez kwas cynamonowy. Niska zawartość H_2O_2 w roślinach inokulowanych i traktowanych kwasem cynamonowym mogła wynikać z bardzo wysokiej aktywności CAT, a nagromadzenie $\text{O}_2^{\cdot-}$ ze stosunkowo mało zmieniającej się aktywności SOD (YE i współaut. 2006).

ZJAWISKO HORMEZY WYWOŁANE PRZEZ ZWIĄZEK ALLELOPATYCZNY MOŻE WYNIKAĆ Z JEGO ANTYOKSYDACYJNEGO DZIAŁANIA

Hormeza, to zjawisko polegające na stymulacji wzrostu rośliny akceptorowej przez związki chemiczne stosowane w niezwykle niskich stężeniach. Jest obserwowane w od-

niesieniu do wielu toksyn, pestycydów i antybiotyków, ale dotyczy także allelozwiązków. W przypadku tych ostatnich badania prowadzono tylko w warunkach laboratoryjnych,

a występowanie zjawiska w naturze jest nieznaną. Mechanizm działania (\pm)-katechiny, związku allelopatycznego produkowanego przez chaber (*Centaurea maculosa*), inwazyjny chwast prerii Ameryki Północnej, mimo wieloletnich badań nadal pozostaje nie do końca wyjaśniony i problematyczny (CHOBOT i współpracownicy. 2009, DUKE i współpracownicy. 2009). Wyniki niektórych badań sugerują pro-oksydacyjny charakter tego związku allelopatycznego (BAIS i współpracownicy. 2003), inne wskazują na jego funkcję antyoksydacyjną (DUKE i współpracownicy. 2009, CHOBOT i współpracownicy. 2009). Traktowanie korzeni siewek rzodkiewnika (\pm)-katechiną w wysokich stężeniach ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$) prowadziło do wzrostu stężenia ROS, którego wynikiem była śmierć komórek (BAIS i współpracownicy. 2003). Późniejsze badania na rzodkiewniku, wykonane z zastosowaniem tego allelozwiązku podawanego w znacznie niższych stężeniach ($5\text{--}25 \mu\text{g ml}^{-1}$), wykazały efekt hormezy (PRITHIVIRAJ i współpracownicy. 2007). W glebie korzystny efekt (\pm)-katechiny na wzrost siewek rzodkiewnika zanotowano przy stężeniu allelozwiązku

wynoszącym zaledwie $1 \mu\text{g g}^{-1}$. Katechina podawana w minimalnych stężeniach nie wywoływała efektów negatywnych, a wprost przeciwnie, stymulowała wzrost siewek, przy czym poziom ROS nie ulegał zmianie. Zbadano ponadto wpływ katechiny podawanej w niskich stężeniach na odporność siewek rzodkiewnika na *Pseudomonas syringae* pv. *tomato DC3000*. U roślin, które inokulowano *P. syringae*, przy jednoczesnej obecności (\pm)-katechiny w pożywce, obserwowano znaczne (ponad 3-krotne) ograniczenie zainfekowanej powierzchni liści (PRITHIVIRAJ i współpracownicy. 2007). Natomiast analogiczne doświadczenie przeprowadzone na mutantach rzodkiewnika *nahG*, niezdolnych do syntezy hydroksylazy kwasu salicylowego i akumulacji kwasu salicylowego, oraz mutantach *npr1-1*, u których obserwowano obniżoną ekspresję genu kodującego białka PR (związane z patogenezą, ang. pathogenesis related) wykazały, że korzystne działanie allelozwiązku wymaga uruchomienia mechanizmów typowych dla reakcji SAR (nabytej odporności systemowej).

ZWIĄZKI ALLELOPATYCZNE WYWOŁUJĄ REAKCJĘ SIMR

Rośliny, które podlegają działaniu niektórych abiotycznych czynników stresowych (niedobór fosforu, obecność metali ciężkich) o natężeniu sub-letalnym wykazują reakcje morfogenetyczne, które określa się skrótem SIMR pochodzącym od angielskiego wyrażenia stress induced morphogenic response (odpowiedź morfogenetyczna indukowana przez stres) (POTTERS i współpracownicy. 2007, 2009). Reakcja ta polega na ograniczeniu wzrostu wydłużeniowego pędu i korzenia, czemu towarzyszy stymulacja wzrostu pędów lub korzeni bocznych. Podobieństwo odpowiedzi morfogenetycznej roślin eksponowanych na różne stresy wynika ze zwiększonej akumulacji ROS oraz modyfikacji transportu i/lub zawartości auksyn. Zatem, biorąc pod uwagę indukcję stresu oksydacyjnego oraz zmiany bilansu fitohormonalnego, można też sugerować występowanie reakcji SIMR w roślinach poddanych działaniu związków allelopatycznych. Pochodna kumaryny (4-metylbelliferon) w stężeniu $125\text{--}250 \mu\text{M}$ powodowała nieprawidłowy wzrost i nadmierne krzewienie korzeni siewek rzodkiewnika

(LI i współpracownicy. 2011). Nie zaobserwowano jednak różnic biosyntezy auksyny pomiędzy roślinami kontrolnymi i traktowanymi allelozwiązkiem. W obecności 4-metylbelliferonu wzrastała natomiast ekspresja genów kodujących transportery auksyny PIN2 i PIN3 oraz ekspresja *IAA14*, represora transkrypcji genów wczesnych odpowiedzi na auksynę, związanego z inicjacją wzrostu korzeni bocznych. Co ciekawe, allelozwiązek nie wywoływał modyfikacji ekspresji *TIR1*, kodującego receptoru hormonu. Wskazuje to, że mechanizm działania 4-metylbelliferonu dotyczy raczej redystrybucji auksyny, niż jej biosyntezy (LI i współpracownicy. 2011). W przeciwieństwie do 4-metylbelliferonu, CA, hamując wzrost korzeni pomidora, mimo że nie wywoływał akumulacji ROS (SOLTYS i współpracownicy. 2013), powodował wzrost stężenia auksyn w traktowanych tkankach, czemu dodatkowo towarzyszył wzrost emisji etylenu (SOLTYS i współpracownicy. 2012). Podobną sytuację obserwowano w korzeniach rzodkiewnika traktowanych cytralem (GRAÑA i współpracownicy. 2013).

PODSUMOWANIE

Pomimo tego, że w bardzo wielu przypadkach oddziaływanie związków allelopatycznych prowadzi do nagromadzenia ROS raczej nie można jednoznacznie stwierdzić, że mechanizm działania allelozwiązków polega zawsze na indukcji stresu oksydacyjnego (Tabela 1, Ryc.1). Wydaje się, że szczególnie przejściowy, krótkotrwały wzrost generowa-

nia i gromadzenia ROS może uruchamiać ścieżki sygnałowe lub inne reakcje prowadzące do powstawania obserwowanych zmian. W wielu przypadkach wydaje się, że szczególne znaczenie może mieć gospodarka hormonalna lub zmiana ekspresji konkretnych genów.

REAKTYWNE FORMY TLENU W ODDZIAŁYWANIACH ALLELOPATYCZNYCH

Streszczenie

Allelopatia dotyczy oddziaływań pomiędzy roślinami za pośrednictwem związków chemicznych wydzielanych do środowiska. Efekty działania związków allelopatycznych w roślinach są najczęściej negatywne (zahamowanie kiełkowania nasion, ograniczenie wzrostu korzeni i/lub pędu), szczególnie gdy toksyny występują w wysokich stężeniach. Niekiedy obserwuje się też zjawisko hormezy (stymulacji kiełkowania nasion lub wzrostu organów), gdy zawartość allelozwiązków w otoczeniu jest bardzo niska. Obecność allelozwiązków wielokrotnie wywołuje w roślinach stres oksydacyjny, manifestujący się wzrostem stężenia reaktywnych form tlenu (ROS). Nie zawsze wzrost stężenia ROS w roślinach traktowanych związkami allelopatycznymi jest skorelowany ze wzrostem aktywności systemu oksydacyjnego, chociaż w ogromnej większości przypadków obserwowane są istotne zmiany aktywności podstawowych enzymów modulujących stężenie ROS (katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej czy enzymów cyklu

Halliwell-Asady), czemu towarzyszą też modyfikacje zawartości przeciwutleniaczy drobnocząsteczkowych (glutationu i askorbinianu). Z uwagi na różnorodną naturę, różne stężenia stosowanych allelozwiązków i różną wrażliwość roślin trudno jest jednoznacznie wyrokować, że zawsze i każdy związek allelopatyczny indukuje stres oksydacyjny, chociaż taka możliwość jest prawdopodobna i często spotykana. W pracy przedstawiono szereg przykładów indukcji stresu oksydacyjnego w roślinach poddanych działaniu związków allelopatycznych. Nagromadzenie ROS w komórkach i modyfikacje wzrostu roślin akceptorowych w odpowiedzi na allelozwiązki zostały porównane z tzw. reakcją SIMR (ang. stress induced morphogenic response), a także skorelowane z modyfikacją równowagi hormonalnej i czynnikami wpływającymi na strukturę ścian komórkowych. Podjęto także problem zależności pomiędzy oddziaływaniami allelopatycznymi a wrażliwością roślin na inne stresy biotyczne i abiotyczne.

REACTIVE OXYGEN SPECIES IN ALLELOPATHIC INTERACTIONS BETWEEN PLANTS

Summary

Allelopathy phenomenon describes mostly negative interactions between plants mediated by specific chemicals released into environment. Inhibition of growth of various organs, and delay or restriction of seed germination are most frequently observed effects of allelopathic interactions. At times, allelochemicals subjected in low concentration may also lead to hormesis (stimulation of seed germination or plant growth).

Allelochemicals often induce oxidative stress, manifested as an increase in ROS production, which not always correlates with enhancement of cellular antioxidant systems, although in most cases there are observed significant changes in the activity of ROS modulating enzymes: catalase, superoxide dismutase and enzymes of Halliwell-Asada cycle, accompanied by modification in the level of low molecular antioxidants ascorbate and glutathione. In view of

large differences in plant sensitivity to allelochemicals, and a wide range of concentration of already tested compounds, it is hardly to believe that induction of oxidative stress is an uniform response to allelopathy stress.

In this work, there are described selected examples of various allelochemicals or extracts from allelopathic plants known to induce oxidative stress in acceptor organisms. Accumulation of ROS and modification of growth and/or development of organs of acceptor plants induced by allelochemicals are correlated with "stress induced morphogenic response" (SIMR), modification of phytohormonal balance and factors crucial for cell wall formation. Additionally, the relationship between allelopathic interaction and plant sensitivity to other biotic and abiotic stresses is discussed.

LITERATURA

- APEL K., HIRT H., 2004. *Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction*. Annu. Rev. Plant. Biol. 55, 373–399.
- BAI R., MA F., LIANG D., ZHAO X., 2009. *Phthalic acid induces oxidative stress and alters the activity of some antioxidant enzymes in roots of malus prunifolia*. J. Chem. Ecol. 35, 488–494.
- BAS H.P., VEPACHEDU R., GILROY S., CALLAWAY R.M., VIVANCO J.M., 2003. *Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions*. Science 301, 1377–1380.
- BARTOSZ G., 2006. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- BOGATEK R., GNIAZDOWSKA A., 2007. *ROS and phytohormones in plant-plant allelopathic interaction*. Plant Sign. Behav. 2, 317–318.
- BUBNA G. A., LIMA R. B., ZANARDO D. Y. L., SANTOS DOS W. D., FERRARESE M. L. L., FERRARESE-FILHO O., 2011. *Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (Glycine max)*. J. Plant Physiol. 168, 1627–1633.
- CHOBOT V., HUBNER C., TRETENHAHN G., HADACEK F., 2009. *(±)-Catechin: Chemical Weapon, Antioxidant, or Stress Regulator?* J. Chem. Ecol. 35, 980–996.
- DĄBROWSKI S., GŁOWACKI S., MACIOSEK V. K., KONONOWICZ A., 2009. *Reaktywne formy tlenu w odpowiedzi obronnej roślin na grzyby nekrotroficzne*. Post. Biol. Kom. 36, 745–754.
- DING J., SUN Y., XIAO C. L., SHI K., ZHOU Y. H., YU J. Q., 2007. *Physiological basis of different allelopathic reactions of cucumber and figleaf gourd plants to cinnamic acid*. J. Exp. Bot. 58, 3765–3773.
- DUKE S. O., BLAIR A. C., DAYAN F. E., JOHNSON R. D., MEEPAGALA K. M., COOK D., BAJSA J., 2009. *Is (±)-catechin a novel weapon of spotted knapweed (Centaurea stoebe)?* J. Chem. Ecol. 35, 141–153.
- GAPPER C., DOLAN L., 2006. *Control of plant development by reactive oxygen species*. Plant Physiol. 141, 341–345.
- GNIAZDOWSKA A., 2005. *Oddziaływania allelopatyczne – „nowa broń” roślin inwazyjnych*. Kosmos 54, 221–226.
- GNIAZDOWSKA A., 2007. *Biotechnologia szansą dla zastosowania allelopatii jako alternatywnej metody zwalczania chwastów*. Biotechnologia 2, 42–53.
- GNIAZDOWSKA A., 2008. *Czy oddziaływania allelopatyczne to nowa broń roślin inwazyjnych. Kontrowersje wokół badań dotyczących roli katechiny w inwazji Centaurea maculosa*. Kosmos 57, 39–41.
- GNIAZDOWSKA A., BOGATEK R., 2005. *Allelopathic interaction between plants. Multi site action of allelochemicals*. Acta Physiol. Plant. 27, 395–408.
- GNIAZDOWSKA A., ORACZ K., BOGATEK R., 2004. *Allelopatia – nowe interpretacje oddziaływań pomiędzy roślinami*. Kosmos 53, 207–218.
- GOLISZ A., SUGANO M., HIRADATE S., FUJII Y., 2011. *Microarray analysis of Arabidopsis plants in response to allelochemical L-DOPA*. Planta 233, 231–240.
- GONG M., CHEN B., LI Z.G., GUO L. H., 2001. *Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H₂O₂*. J. Plant. Physiol. 158, 1125–1130.
- GRAÑA E., SOTELO T., DÍAZ-TIELAS C., KRASUSKA U., BOGATEK R., REIGOSA M. J., SÁNCHEZ-MOREIRAS A. M., 2013. *Citral induces auxin and ethylene-mediated malformations and arrests cell division in Arabidopsis thaliana roots*. J. Chem. Ecol. 39, 271–282.
- HARA M., YATSUZUKA Y., TABATA K., KUBOI T., 2010. *Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in Arabidopsis but act as herbicides at high concentrations*. J. Plant Physiol. 167, 643–649.
- HONG Y., HU H.-Y., LI F.-M., 2008. *Responses of enzymatic antioxidants and non-enzymatic antioxidants in the cyanobacterium Microcystis aeruginosa to the allelochemical ethyl 2-methyl acetoacetate (EMA) isolated from reed (Phragmites communis)*. J. Plant Physiol. 165, 1264–1273.
- JASICKA-MISIAK I., 2009. *Allelopatyczne właściwości metabolitów wtórnych roślin uprawnych*. Wiad. Chem. 63, 39–61.
- JEZIERSKA-DOMARADZKA A., 2007. *Allelopatyczny potencjał roślin jako możliwość ograniczenia zachwasczenia upraw rolniczych*. Studia i Raporty IUNG, PIB 8, 22–28.
- KACPERSKA A., 2012. *Reakcje roślin na stresowe czynniki środowiska. Odpowiedzi na czynniki abiotyczne*. [W:] Fizjologia roślin. KOPCEWICZ J., LEWAK S. (red.). PWN, Warszawa, 634–708.
- KOPERSKA M., 2007. *Allelopatia w stosunkach między roślinami uprawnymi i chwastami*. Przemysł Fitofarmaceutyczny w Świecie 4, 1–29.
- KRASUSKA U., GNIAZDOWSKA A., BOGATEK R., 2011. *Rola ROS w fizjologii nasion*. Kosmos 60, 113–128.
- LARA-NÚÑEZ A., ROMERO-ROMERO T., VENTURA J. L., BLANCAS V., ANAYA A. L., CRUZ-ORTEGA R., 2006. *Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in Lycopersicon esculentum Mill.* Plant Cell Environ. 29, 2009–2016.
- LESZCZYŃSKA D., GRABIŃSKI J., 2004. *Kiełkowanie zbóż w układach mieszanych – aspekt allelopatyczny*. Ann. UMCS 59, 1977–1984.
- LI X., GRUBER M. Y., HEGEDUS D. D., LYDIATE D. J., GAO M.-J., 2011. *Effects of a coumarin derivative, 4-methylubelliferone, on seed germination and seedling establishment in Arabidopsis*. J. Chem. Ecol. 37, 880–890.
- LIPIŃSKA H., 2006. *Kiełkowanie nasion i wzrost siewek wybranych gatunków traw w warunkach oddziaływań blastokolin kiełkujących nasion traw*. Acta Agrobot. 59, 253–262.
- LIPIŃSKA H., HARKOT W., 2007. *Allelopatia w zbiorowiskach trawiastych*. Post. Nauk Rol. 59, 49–96.
- LISKAY A., VAN DER ZALM E., SCHOPPER P., 2004. *Production of reactive oxygen intermediates (O₂⁻, H₂O₂ and [•]OH) by maize roots and their role in wall loosening and elongation growth*. Plant Physiol. 136, 1–10.
- MAŁECKA A., TOMASZEWSKA B., 2005. *Reaktywne formy tlenu w komórkach roślinnych i enzymatyczne systemy obronne*. Post. Biol. Kom. 32, 311–325.
- MARINO D., DUNAND C., PUPPO A., PAULY N., 2012. *A burst of plant NADPH oxidases*. Trends Plant Sci. 17, 9–15.
- MILLER G., SHULAEV V., MITTLER R., 2008. *Reactive oxygen signaling and abiotic stress*. Physiol. Plant. 133, 481–489.
- MITTLER R., 2002. *Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance*. Trends Plant Sci. 7, 405–410.
- MYLONA P. V., 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.

- NOWICKA B., KRUK J., 2013. *Reaktywne formy tlenu w roślinach – więcej niż trucizna*. Kosmos 62, 583–596.
- OLKO A., KUJAWSKA M., 2011. *Podwójna rola H₂O₂ w odpowiedzi roślin na działanie warunków stresowych*. Kosmos 60, 161–171.
- ORACZ K., BAILLY C., GNIAZDOWSKA A., COME D., CORBINEAU F., BOGATEK R., 2007. *Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds*. J. Chem. Ecol. 33, 251–264.
- ORACZ K., VOEGELE A., TARKOWSKA D., JACQUEMOUD D., TUREČKOVÁ V., URBANOVÁ T., STRNAD M., ŚLIWIŃSKA E., LEUBNER-METZGER G., 2012. *Myrigalone A inhibits Lepidium sativum seed germination by interference with gibberellin metabolism and apoplastic superoxide production required for embryo extension growth and endosperm rupture*. Plant Cell Physiol. 53, 81–95.
- PEREZ F. J., LIRA W., 2005. *Possible role of catalase in post-dormancy bud break in grapevines*. J. Plant Physiol. 162, 301–308.
- PEREZ F., VERGARA R., RUBIO S., 2008. *H₂O₂ is involved in the dormancy-breaking effect of hydrogen cyanamide in grapevine buds*. Plant Growth Regul. 55, 149–155.
- PERGO E. M., ISHII-IWAMOTO E. L., 2011. *Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species Ipomoea triloba L. and the responses to allelochemicals*. J. Chem. Ecol. 37, 500–513.
- POTTERS G., PASTERNAK T. P., GUISEZ Y., PALME K. J., JANSEN M. A. K., 2007. *Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble?* Trends Plant Sci. 12, 98–105.
- POTTERS G., PASTERNAK T. P., GUISEZ Y., JANSEN M. A. K., 2009. *Different stresses, similar morphogenic responses: integrating a plethora of pathways*. Plant Cell Environ. 32, 158–169.
- PRITHIVIRAJ B., PERRY L. G., BADRI D. V., VIVANCO J. M., 2007. *Chemical facilitation and induced pathogen resistance mediated by a root-secreted phytotoxin*. New Phytol. 173, 852–860.
- ROMERO-ROMERO T., SÁNCHEZ-NIETO S., SAN JUAN-BADILLO A., ANAYA A. L., CRUZ-ORTEGA R., 2005. *Comparative effects of allelochemical and water stress in roots of Lycopersicon esculentum Mill. (Solanaceae)*. Plant Sci. 168, 1059–1066.
- RUDRAPPA T., BONSALE J., GALLAGHER J. L., SELISKAR D. M., BAI H. P., 2007. *Root-secreted allelochemical in the noxious weed Phragmites australis deploys a reactive oxygen species response and microtubule assembly disruption to execute rhizotoxicity*. J. Chem. Ecol. 33, 1898–1918.
- SÁNCHEZ-MOREIRAS A. M., REIGOSA M. J., 2005. *Whole plant response of lettuce after root exposure to BOA (2(3H)-Benzoxazolinone)*. J. Chem. Ecol. 31, 2689–2703.
- SANTOS DOS W. D., FERRARESE M. L. L., FINGER A., TEIXEIRA A. C. N., FERRARESE-FILHO O., 2004. *Lignification and related enzymes in glycine max root growth-inhibition by ferulic acid*. J. Chem. Ecol. 30, 1203–1211.
- SANTOS DOS W. D., FERRARESE M. L. L., NAKAMURA C. V., MOURAO K. S. M., MANGOLIN C. A., FERRARESE-FILHO O., 2008. *Soybean (Glycine max) root lignifications induced by ferulic acid. The possible mode of action*. J. Chem. Ecol. 34, 1230–1241.
- SCHOPFER P., 1996. *Hydrogen peroxide-mediated cell-wall stiffening in vitro in maize coleoptiles*. Planta 199, 43–49.
- SCHOPFER P., LISZAKY A., BECHTOLD M., FRAHRY G., WAGNER A., 2002. *Evidence that hydroxyl radicals mediate auxin-induced extension growth*. Planta 214, 821–828.
- SIEGIEŃ I., BOSA K., TROCKA A., BOGATEK R., GNIAZDOWSKA A., 2008. *Potencjał allelopatyczny słonecznika*. Post. Nauk Rol. 6, 55–71.
- SINGH H. P., KAUR S., MITTAL S., BATISH D. R., KOHLI R. K., 2009. *Essential oil of Artemisia scoparia inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage*. J. Chem. Ecol. 35, 154–162.
- SOARES A. R., FERRARESE M. L. L., SIQUEIRA R. C., BOHM F. M. L. Z., FERRARESE-FILHO O., 2007. *L-dopa increases lignifications associated with glycine max root growth-inhibition*. J. Chem. Ecol. 33, 265–275.
- SOŁTYS D., DĘBSKA K., BOGATEK R., GNIAZDOWSKA A., 2010a. *Autotoksyczność roślin jako przykład oddziaływań allelopatycznych*. Kosmos 59, 551–566.
- SOŁTYS D., GNIAZDOWSKA A., BOGATEK R., 2010b. *Sorgholeon – główny związek warunkujący potencjał allelopatyczny sorga (Sorghum sp.)*. Kosmos 59, 567–580.
- SOŁTYS D., RUDZIŃSKA A., KUREK W., GNIAZDOWSKA A., ŚLIWIŃSKA E., BOGATEK R., 2011. *Cyanamide mode of action during inhibition of onion (Allium cepa L.) root growth involves disturbances in cell division and cytoskeleton formation*. Planta 234, 609–621.
- SOŁTYS D., RUDZIŃSKA-LANGWALD A., WIŚNIEWSKA A., GNIAZDOWSKA A., BOGATEK R., 2012. *Inhibition of tomato (Solanum lycopersicum L.) root growth by cyanamide is due to altered cell division, phytohormone balance and expansin gene expression*. Planta 236, 1629–1638.
- SOŁTYS D., GNIAZDOWSKA A., BOGATEK R., 2013. *Inhibition of tomato (Solanum lycopersicum L.) root growth by cyanamide is not always accompanied with enhancement of ROS production*. Plant Sign. Behav. 8, e23994.
- SZYMAŃSKA R., STRZAŁKA K., 2010. *Reaktywne formy tlenu w roślinach – powstawanie, dezaktywacja i rola w przekazywaniu sygnału*. Post. Biochem. 56, 182–190.
- VOEGELE A., GRAEBER K., ORACZ K., TARKOWSKA D., JACQUEMOUD D., TUREČKOVÁ V., URBANOVÁ T., STRNAD M., LEUBNER-METZGER G., 2012. *Embryo growth, testa permeability, and endosperm weakening are major targets for the environmentally regulated inhibition of Lepidium sativum seed germination by myrigalone*. A. J. Exp. Bot. 63, 5337–5350.
- WÓJCIK-WÓJTKOWIAK D., POLITYCKA B., WEYMAN-KACZMARKOWA W., 1998. *Allelopatia*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu. Poznań.
- YE S. F., YU J. Q., PENG Y. H., ZHENG J. H., ZOU L. Y., 2004. *Incidence of Fusarium wilt in Cucumis sativus L. is promoted by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates*. Plant Soil 263, 143–150.
- YE S. F., ZHOU Y. H., SUN Y., ZOU L. Y., YU J. Q., 2006. *Cinnamic acid causes oxidative stress in cucumber roots, and promotes incidence of Fusarium wilt*. Environ. Exp. Bot. 56, 255–262.
- YU J. Q., YE S. F., ZHANG M. F., HU W. H., 2003. *Effects of root exudates, aqueous root extracts of cucumber (Cucumis sativus L.) and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber*. Biochem. Syst. Ecol. 31, 129–139.
- ZENG R. S., LUO S. M., SHI Y. H., SHI M. B., TU C. Y., 2001. *Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid F on higher plants*. Agron. J. 93, 72–79.
- ZHANG S., ZHANG B., XING K., ZHANG X., TIAN X., DAI W., 2010. *Inhibitory effects of golden thread (Coptis chinensis) and berberine on Microcystis aeruginosa*. Water Sci. Technol. 61, 763–769.

- ZHANG S., ZHANG B., DAI W., ZHANG X., 2011. *Oxidative damage and antioxidant responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to the allelochemical berberine isolated from golden thread*. J. Plant Physiol. 168, 639-643.
- ZUNINO M. P., ZYGADLO J. A., 2004. *Effect of monoterpenes on lipid peroxidation in maize*. Planta 219, 303-309.