

HODNOTENIE „HYPOTÉZY NOVÝCH ZBRANÍ“ PRE ÚSPEŠNOSŤ INVÁZIE *HERACLEUM* *MANTEGAZZIANUM*

EVALUATION OF THE „NOVEL WEAPON HYPOTHESIS“ FOR SUCESSFUL INVASION OF *HERACLEUM* *MANTEGAZZIANUM*

Martina MATOUŠKOVÁ¹ – Jana JUROVÁ¹ – Marek RENČO¹ – Daniela GRUĽOVÁ²

ABSTRACT

The success of some alien plant species may be due to the development of “novel weapons”, biochemical that native species have never met. Novel biochemical weapons function as unusually powerful allelopathy agents among plants. The present project tested this hypothesis in laboratory conditions with *Heracleum mantegazzianum* secondary metabolites. Essential oil (EO) was hydrodistilled from two samples of different developmental stages of *H. mantegazzianum*. Dominant components were identified in each sample. Great variability was noted between the samples. In sample from earlier developmental stage dominated terpenes, while in fully matured developmental stage aliphatic esters were the main components. Then, phytotoxic effect of EOs was tested by using six different concentrations. After EOs application on seeds of four model plants (*Lepidium sativum* L., *Raphanus sativus* L., *Lactuca sativa* L. and *Triticum aestivum* L.), the potential biological effect of EOs was evaluated on seeds germination as well as on roots length. Seed germination of *Lactuca sativa* and *Triticum aestivum* were inhibited in different concentrations. *Lepidium sativum* and *Raphanus sativus* were more resistant. Inhibition of roots growth was evaluated in all four plant samples after application of different concentrations of *H. mantegazzianum* EO.

KEYWORDS

allelopathy, invasive species, essential oils, GC-MS, phytotoxicity

ÚVOD

Boľševník obrovský (*Heracleum mantegazzianum* Sommier et Levier) patrí do čelade mrkvovité (*Apiaceae*). Tento druh bol introdukovaný z Kaukazu (Centrálne Ázia) ako okrasná rastlina. Prvá zmienka v Európe o ňom pochádza z Londýnskej botanickej záhrady (Kew Gardens) z roku 1817 (PERGL & PERGLOVÁ, 2006; BALEŽENTIENE & RENČO, 2014). V súčasnosti sa považuje za extrémne nebezpečnú inváziu rastlinu v rôznych európskych krajinách ako je Slovensko, Česká republika, Nemecko, Poľsko, Švajčiarsko, krajiny Beneluxu či Veľká Británia (REINHARDT et al., 2003; STARFINGER & KOWARIK, 2003; THIELE & OTTE, 2007; CSISZÁR et al., 2013; JAKUBSKA- BUSSE, 2013).

¹ Parazitologický ústav SAV, Hlinková 3, SK – 040 01 Košice, Slovensko; e-mail: matouskova@saske.sk, jjurova@saske.sk, renco@saske.sk

² Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, Ul. 17. Novembra č.1, SK – 081 16 Prešov, Slovensko; e-mail: daniela.grulova@unipo.sk

Boľševník obrovský je bylina gigantických rozmerov. V podmienkach charakteristických pre strednú Európu dorastá do výšky 2-5 m, kým v pôvodnom ekosystéme rastie len do výšky 1,5 m. Je to monokarpická rastlina (PERG & PERGLOVÁ, 2006), čo znamená, že v prirodzených podmienkach hynie po dozretí semien (TSCHIEDEL, 2005). Táto bylina kvitne od júna do konca júla. Je špecifická tým, že vytvára enormné množstvo semien, zvyčajne 20-30 tisíc semien, v extrémnych prípadoch až 100 tisíc semien. Predpokladáme, že na územie Slovenska sa tento druh dostal po prúde rieky Uh z Ukrajiny, respektíve anemochoricky z Poľska. Lokality s najväčším výskytom sú práve na juhovýchode pri slovensko-ukrajinskej hranici a pozdĺž slovensko-poľskej hranice. Tento druh je veľmi vitálny, rýchlo rastúci s nadmernou produkciou semien a zároveň mu chýba prirodzený nepriateľ, ktorý by sa podieľal na jeho regulácii. Na základe týchto faktorov sa v súčasnosti nekontrolovane rozširuje.

Chemické látky, ktoré produkujú invázne rastliny pôsobia alelopaticky na pôvodné druhy, ktoré reagujú často veľmi senzitívne. Tento efekt sa pravdepodobne podieľa na rozširovaní invázných rastlín na nové územia a potláča tak zároveň pôvodnú flóru (CSISZÁR et al., 2013). Od roku 2004 sa používa novodobý výraz pre takýto spôsob šírenia invázných rastlín a to konkrétne hypotéza nových zbraní (z ang. "novel weapons hypothesis") (CALLAWAY & RIDENOUR, 2004). Táto hypotéza už bola testovaná na iných invázných druhoch ako sú napríklad *Eucalyptus globulus* (BECERRA et al., 2018), *Plantago virginica* (WANG et al., 2015), *Solidago gigantea*, *Impatiens glandulifera*, *Erigeron annuus*, *Solidago canadensis* (DEL FABBRO et al., 2014, GRUJOVÁ et al., 2016).

Boľševník obrovský produkuje veľké množstvo chemických látok. Tvorí kumarínové deriváty, ktoré sú zodpovedné za ich fotodynamický efekt (JAKUBSKA-BUSSE, 2013), po kontakte pokožky s vylučovanou tekutinou tejto rastliny a následnom oslnení dochádza k efektu spálenia pokožky (DREVER & HUNTER, 1970). Hlavná funkcia vylučovanej tekutiny z rastliny je jej ochrana pred bezstavovcami aj stavovcami, hubami, baktériami aj vírusmi (PYŠEK et al., 2007), ktorá pôsobí repelentne ale aj toxicky. Druhú najväčšiu skupinu sekundárnych metabolitov v rode *Heracleum* predstavujú silice (SKALICKA-WOŽNIAK et al., 2017). Silice získané hydrodestiláciou z nadzemných častí boľševníka obrovského boli už charakterizované a bola hodnotená aj ich antimikrobiálna aktivita (SZUMNY et al., 2012; JAKUBSKA-BUSSE, 2013; SKALICKA-WOŽNIAK et al., 2017). Inhibičná aktivita výluhu z boľševníka obrovského bola testovaná na semenách mätonoha trváceho (*Lolium perenne* L.), repky olejnej (*Brassica napus* L.) (BALEŽENTIENÉ & RENČO, 2014) ako aj u horčice bielej (*Sinapis alba* L.) (CSISZÁR et al., 2013).

Cieľom predkladaného výskumu bolo *a*) porovnať zmeny zloženia silice počas vegetačnej sezóny ako aj *b*) hodnotiť fytotoxický vplyv silice na tri druhy dvojklíčnolistových rastlín (*Lepidium sativum* L., *Raphanus sativus* L. and *Lactuca sativa* L.) a jeden druh jednoklíčnolistovej rastliny (*Triticum aestivum* L.)

MATERIÁL A METÓDY

Rastlinný materiál

Rastlinný materiál bol zbieraný dvakrát počas vegetačnej sezóny v roku 2017 na lokalite Lekárovce (GPS 48.608129 E 22.140227), ktorá sa nachádza na juhovýchode Slovenska. Prvý zber bol realizovaný v máji, počas juvenilného fenologického štádia a druhý zber bol realizovaný v júli, kedy rastlina dosiahla plnú zrelosť. Odobrali sme nadzemnú časť z niekoľkých jedincov (stonka, listy, kvety a semená).

Sušenie rastlinného materiálu

Rastlinný materiál bol uložený v tenkých vrstvách na filtračný papier v laboratóriu. Pri izbovej teplote sa sušil približne 2 týždne.

Hydrodestilácia silice

Obidve vzorky boli proporcionálne rozdelené do troch menších vzoriek, suchý rastlinný materiál bol rozdrvený a vložený do 500 mL banky, ktoré bola spojená s destilačnou aparatúrou. Destilácia prebiehala 3 hodiny. Získaná silica bolo rozpustená v n-hexáne, následne vysušená dusíkom a uskladnená v tmavej vialke v chladničke do následnej analýzy. Získaná silica mala svetložltú farbu prenikavej vône.

Chromatografická analýza pre identifikáciu a kvantifikáciu zloženia silice

Kvantitatívnu a kvalitatívnu analýzu jednotlivých komponentov silice sme vykonali pomocou plynového chromatografu Varian 450-GC, ktorý bol spojený s hmotnostným spektrometrom Varian 220-MS. Separácia jednotlivých komponentov bola dosiahnutá použitím kapilárnej kolóny FactorFour™: VF 5ms (30 m × 0,25 mm vnútorný priemer, 0,25 μm hrúbka povrchu). Injektor sa zohrial na teplotu 220°C. Riedenie bolo nasledovné: 1 μl vstreknutého roztoku bol riedený v pomere 1:1000 n-hexanom. Hélium predstavovalo mobilnú fázu - nosný plyn v kolóne, ktorej prietoková rýchlosť dosahovala 1,2 ml/min. Teplotu kolóny sme naprogramovali nasledovne: počiatočná teplota kolóny bola nastavená na 50°C počas prvých 10 min., potom začala teplota stúpať rýchlosťou 3°C/min. až dosiahla 100°C. Nasledovala izotermická fáza, ktorá trvala 5 min. a po nej stúpala teplota na 150°C v intervale 10°C/min. Celková analýza trvala spolu 46,67 min. Iónová pasca hmotnostného spektrometra bola vyhriata na 200°C, manifold na 50°C a prenosová línia dosahovala teplotu 270°C. Skenovanie hmotnostného spektra prebiehalo každú sekundu v rozsahu 40-650 m/z. Jednotlivé komponenty boli identifikované prostredníctvom porovnávania ich hmotnostného spektra s údajmi uloženými v softvérovej knižnici (NIST 02) ale aj porovnávaním retenčných indexov so štandardnými látkami. Hmotnostné spektrá jednotlivých komponentov boli porovnávané so spektrami z literatúry (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980; ADAMS, 2007).

Hodnotenie fytoxickej aktivity silice

Hodnotenie vplyvu silice na klíčivosť semien a dĺžku korenkov bolo realizované na troch druhoch dvojklíčnolistových rastlín (*Lepidium sativum* L., *Raphanus sativus* L.

a *Lactuca sativa* L.) a jedenom druhu jenkličnolistovej rastliny (*Triticum aestivum* L.). Použili sme metódu podľa GRUŠOVÁ et al., (2016). *Raphanus sativus* L. var. radicula Pers. (cv. 'Duo') a *Lepidium sativum* L. (cv. 'Dánska'), *Lactuca sativa* (cv. Král Máje I.) boli zakúpené od firmy Zel Seed (Slovakia). *Triticum sativum* sme získali zo šľachtiteľskej stanice Malý Šariš.

Štatistická analýza

Získané dáta boli analyzované metódou analýzy variancie (ANOVA) a priemerné hodnoty boli porovnané pomocou LSD testu (Least Significant Difference's Test). Štatistická analýza bola realizovaná použitím programu PlotIT.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Množstvo a zloženie silice

Na základe porovnania sezónnej variability rastlinného druhu boľševník obrovský sme hodnotili aj zosušenie rastlinného materiálu. Pri prvom zbere rastlinného materiálu sme odobrali 730 g a pri druhom 440,5 g čerstvého materiálu. Po vysušení rastlinného materiálu sme získali 132,3 g suchého rastlinného materiálu z prvého zberu v máji a 140,4 g rastlinného materiálu z druhého zberu v júli. Z toho vyplýva, že v juvenilnom vývinovom štádiu bol obsah vody v rastlinných pletivách takmer 82 %, kým v neskoršom období pri druhom zbere to bolo o 14 % menej.

Priemerné množstvo silice získané pri extrakcii zo 100g suchého rastlinného materiálu bolo 0,2368 g zo vzoriek zbieraných v máji a 0,9115 g zo vzoriek zbieraných v júli. Následne sme hodnotili zloženie a množstvo komponentov. V silici z rastlín z mladšieho vývinového štádia sme identifikovali 23,3 % monoterpénov, 4,4 % kyslíkatých monoterpénov, 32,9 % seskviterpénov a 37,9 % ostatných zložiek. V tejto silici sme ako dominantné komponenty identifikovali α -pinén (19,1 %), nasledoval kadina-1,3,5-trién (13,7 %), epizonarén (6 %) a kadinén (5,1 %), ostatné komponenty boli identifikované v množstve menej ako 5 %. Odlíšne zloženie sme zaznamenali v silici z rastlinného materiálu neskoršieho vývinového štádia. Kým monoterpény, kyslíkaté monoterpény a seskviterpény predstavovali 1 %, 1,5 % a 1,2 %, najväčší podiel tvorili ostatné zložky a to až 95,1 %. Išlo najmä a heterocyklické estery, z ktorých dominovali oktyl acetát (62,1 %), hexyl 2-metylbutyrát (11 %), hexyl izobutyryát (7,5 %) a hexyl butanoát (6,3 %) (Tabuľka č. 1 a 2).

Tabuľka 1. Identifikácia skupín dominantných zložiek v silici *H. mantegazzianum*.

Skupiny chemických látok	máj	júl
monoterpény	23,3	1,0
kyslíkaté monoterpény	4,4	1,5
seskviterpény	32,9	1,2
kyslíkaté seskviterpény	0,0	0,1
ostatné zložky	37,9	95,1

Tabuľka 2. Porovnanie dominantných zložiek silíc *H. mantegazzianum* z dvoch zberov.

Obsahové látky silice <i>Heracleum mantegazzianum</i> (%)		
Názov zložky	máj	júl
oktanal	n	1,5
α-pinén	19,1	0,2
trans-3-karén-2-ol	4,4	s
β-pinene	4,2	n
dihydrokarveol	3,7	n
hexyl isobutyrát	n	7,5
hexyl butanoát	n	6,3
hexyl 2-metylbutyrát	n	11,0
oktyl acetát	n	62,1
karyofylén	4,5	0,2
epizonarén	6,0	0,1
kadinén	5,1	0,1
kadina-1,3,5-trién	13,7	0,3
kalamenén	7,0	n
kadala-1(10),3,8-trién	4,4	n

n-nedetekované, s-stopové množstvo < 0,1 %

Množstvo silice extrahovanej z *M. mantegazzianum* bolo determinované pri rôznych experimentoch pre rôzne časti rastlinného tela. SZUMNY et al. (2012) uvádzajú 0,45 % silice v stonkách, a 0,95 % v semenách, kým SKALICKA-WOZNIAK et al. (2017) uvádzajú až 3 % silice extrahovanej zo semien *M. mantegazzianum*. Naše zistenia spadajú do rozsahu uvedeného rôznymi autormi. Taktiež nami identifikované dominantné komponenty zo zberu v júli, kedy rastlina dosiahla plnú zrelosť, zodpovedajú zisteniam iných autorov. Ako hlavná zložka sa uvádza oktyl acetát, ktorý nasledujú hexyl-2-methylbutanoát, oktanol, oktyl butanoát, oktyl-2-methylbutanoát, hexyl acetát, oktyl isobutanoát a hexyl isobutanoát v kvetoch a semenách, p-cymén v koreňoch a stonkách a β-guaien v listoch (SZUMNY et al., 2012; SKALICKA-WOZNIAK et al., 2017). Alifatické estery boli identifikované ako dominantná skupina silice rodu *Heracleum* (JAKUBSKA-BUSSE et al., 2013). Avšak v silici zo vzoriek z Ruska z oblasti Priozerskij, boli identifikované ako dominantné zložky oktyl butyrát (32,0%), oktyl acetát (18,0%) a hexyl butyrát (9,2%) (TKACHENKO, 1993).

Vo všeobecnosti sa množstvo a zloženie silíc získaných z aromatických rastlín mení v závislosti od niekoľkých faktorov, ako sú ekologické a klimatické podmienky, geografická poloha, čas zberu v rámci vegetačnej sezóny, vývinové štádium jedincov,

zberová metóda, pozberové spracovanie a metóda extrakcie silice (PADALIA et al., 2013). Zmeny môžu byť ovplyvnené aj chemotypovou variabilitou v rámci druhu a genetickými faktormi (SAEB & Gholamrezaee, 2012; VERMA et al., 2012). Je veľmi ťažké odlíšiť, ktorý faktor má dominantný vplyv. Jeden z hlavných faktorov, ktorý má vplyv na akumuláciu a kompozíciu silice je vývinové štádium rastlín (PADALIA et al., 2013).

Sezónna variabilita zloženia silice ako aj odlišný biologický efekt boli pozorované u mnohých druhoch rastlín ako napríklad u *Mentha x piperita* L. (Lamiaceae) (GRUEOVÁ et al., 2015), *Aniba rosaedora* (Kunth) Mez (Laureaceae) (PIMENTEL et al., 2018), *Piper gaudichaudianum* Kunth (Piperaceae) (SCHINDLER & HEINZMANN, 2017), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (FALASCA et al., 2016) a u mnohých ďalších.

Fytotoxická aktivita

Biologická aktivita silice získanej z boľševníka obrovského bola hodnotená ako (a) vplyv silice na klíčivosť semien (Tabuľka 3), (b) vplyv silice na dĺžku korenkov modelových rastlín a (c) počet koreňov u jednoklíčnolistovej modelovej rastliny pšenice ozimnej (*Triticum aestivum*) (Tabuľka 4).

Šesť rôznych koncentrácií (0,062; 0,125; 0,25; 0,625; 1,5 a 2,5 µg/mL) bolo aplikovaných na semená modelových rastlín a po 120 h bol hodnotený fytotoxický efekt aplikovanej silice. Klíčivosť semien sa hodnotila na základe počtu vyklíčených semien z počtu 10, umiestnených do Petriho misiek na začiatku experimentu. Každá koncentrácia bola aplikovaná trikrát.

Žiadna štatistická odchýlka nebola preukázaná pri hodnotení klíčivosti semien *Lepidium sativum* a *Raphanus sativus* po aplikácii silice boľševníka obrovského extrahovanej zo vzoriek zbieraných v máji a v júli. Tieto dva dvojklíčnolistové druhy pôsobili rezistentne po aplikácii rôznych koncentrácií silíc. Významný efekt bol zaznamenaný pri druhoch *Lactuca sativa* a *Triticum aestivum*. Po aplikácii silíc na semená *L. sativa* bol efekt inhibície klíčivosti porovnateľný u oboch vzoriek pri rôznych koncentráciách. Štatisticky významný vplyv silice z mája bol zaznamenaný pri troch koncentráciách (2,5; 1,25 a 0,625 µg/mL), teda v prípade dvoch najvyšších koncentrácií a pri najnižšej koncentrácií. Po aplikácii silice z júla bol efekt štatisticky významný u všetkých koncentrácií okrem dvoch (1,25 a 0,625 µg/mL). Pri hodnotení vplyvu silíc na semená jednoklíčnolistovej modelovej rastliny *T. aestivum* bol štatisticky významný vplyv silice z mája pri dvoch koncentráciách (1,25 a 0,125 µg/mL) a po aplikácii júlovej silice v troch koncentráciách (1,25; 0,25 a 0,625 µg/mL), avšak tento efekt bol rôzny. Kým po aplikácii silice z mája bol preukazný stimulačný efekt, po aplikácii silice z júla naopak inhibičný vplyv (Tabuľka 3). Biologická aktivita silice, pri ktorej je efekt rozdielny je možné vysvetliť teóriou rôznej odpovede na rôznu koncentráciu aplikovanej chemickej látky, tzv. „hormesis alebo dose-response theory“. Táto teória vysvetľuje to, že pri nižšej koncentracii aplikovanej látky je reakcia stimulačná a pri vyššej koncentracii sa efekt mení na inhibičný (MURADO & VÁZQUEZ, 2007). Nami vybraný koncentračný rozsah predstavoval pravdepodobne nízku koncentráciu pre *Triticum aestivum*.

Tabuľka 3. Efekt odlišných koncentrácií silice extrahovanej z nadzemných častí boľševníka obrovského v máji a v júli 2017 na klíčivosť štyroch druhov modelových rastlín 120 h po expozícii.

	Počet vyklíčených semien \pm SD*							
	<i>Lepidium sativum</i>		<i>Raphanus sativus</i>		<i>Lactuca sativa</i>		<i>Triticum aestivum</i>	
máj								
kontrola	10,0 \pm 0,0	A	9,7 \pm 0,5	A	7,0 \pm 0,0	A	6,7 \pm 0,9	A
0,062	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	5,5 \pm 1,5	B	6,3 \pm 0,5	A
0,125	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	9,0 \pm 0,0	A	8,0\pm0,8	B
0,250	9,7 \pm 0,5	A	10,0 \pm 0,0	A	7,5 \pm 0,5	A	7,3 \pm 0,5	A
0,625	9,7 \pm 0,5	A	9,0 \pm 0,8	A	7,7 \pm 1,2	A	7,0 \pm 1,6	A
1,250	10,0 \pm 0,0	A	9,3 \pm 0,9	A	4,7 \pm 2,4	B	8,0\pm0,8	B
2,500	9,7 \pm 0,5	A	10,0 \pm 0,0	A	5,0 \pm 0,8	B	6,0 \pm 2,2	A
júl								
kontrola	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	9,0 \pm 1,0	A
0,065	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	5,3 \pm 1,3	C	6,3 \pm 0,9	B
0,125	10,0 \pm 0,0	A	9,7 \pm 0,5	A	7,0 \pm 0,8	B	8,7 \pm 0,9	A
0,250	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	7,0 \pm 1,4	B	6,7 \pm 0,9	B
0,625	10,0 \pm 0,0	A	9,3 \pm 0,5	A	9,8 \pm 0,8	A	8,3 \pm 0,5	A
1,250	10,0 \pm 0,0	A	10,0 \pm 0,0	A	8,0 \pm 0,8	A	8,0 \pm 0,0	AB
2,500	10,0 \pm 0,0	A	9,3 \pm 0,5	A	8,7 \pm 0,5	AB	9,3 \pm 0,5	A

*SD-štandardná odchýlka; (1) každá hodnota predstavuje priemer z troch opakovaní; (2) hodnoty označené rovnakým písmenom v stĺpci nepreukázali štatistickú odchýlku na základe LSD testu ($P=0,05$); hrubo označené dáta predstavujú štatisticky významný stimulačný vplyv silice.

Variabilnejší vplyv silice je možné pozorovať pri hodnotení dĺžky koreňov štyroch modelových rastlín po aplikácii silice z mája a z júla. Štatisticky významný vplyv bol zaznamenaný pri všetkých štyroch modelových rastlinách po aplikácii silice z mája a pri troch rastlín z júla. *Raphanus sativus* pôsobil rezistentne pri hodnotení dĺžky koreňov po aplikácii silice z júla. Miera odpovede na vplyv silice z mája sa javí porovnateľná medzi jednotlivými druhmi. V prípade *L. sativum* a *L. sativa* bol štatisticky významný vplyv zaznamenaný pri dvoch koncentráciách, kým pri *R. sativus* a *T. aestivum* to bolo len pri jednej koncentrácii. Významne senzitívne pôsobil druh *L. sativa* po aplikácii júlovej silice, keďže štatisticky potvrdený efekt bol zaznamenaný po aplikácii všetkých koncentrácií. Znova je potrebné poznamenať, že nebol zaznamenaný len inhibičný vplyv silíc ale aj stimulačný (Tabuľka 4 – hrubo označené dáta).

Pri hodnotení vplyvu silíc na počet koreňov sme hodnotili štatisticky preukazný

vplyv len v jedinom prípade, po aplikácii najvyššej koncentrácie silice z júla. Efekt bol však stimulačný.

Tabuľka 4. Efekt odlišných koncentrácií silice extrahovanej z nadzemných častí boľševníka obrovského v máji a v júli 2017 na dĺžku korenkov štyroch druhov modelových rastlín a počet koreňov *T. aestivum* 120 h po expozícii.

	Dĺžka korenkov (cm)								Počet korenkov	
	<i>Lepidum sativum</i>		<i>Raphanus sativus</i>		<i>Lactuca sativa</i>		<i>Triticum aestivum</i>		<i>Triticum aestivum</i>	
máj										
kontrola	9,67 ⁽¹⁾	A ⁽²⁾	4,15	A	0,82	A	2,67	A	2,60	A
0,062	9,35	B	5,16	A	0,69	A	2,74	A	2,36	A
0,125	9,00	A	3,86	B	1,17	A	3,12	A	3,16	A
0,250	5,06	A	5,17	A	1,16	A	2,67	A	2,53	A
0,625	9,69	A	4,78	A	1,00	A	2,48	A	2,70	A
1,250	9,18	C	5,19	A	0,22	B	3,64	C	2,86	A
2,500	8,46	A	5,30	A	0,55	B	1,77	B	2,20	A
júl										
kontrola	10,69	A	4,52	A	1,58	A	3,13	A	2,73	A
0,065	11,82	B	4,35	A	0,55	C	2,74	A	2,53	A
0,125	10,94	A	4,11	A	0,86	BC	2,69	A	2,90	A
0,250	10,12	A	5,04	A	1,28	AB	2,00	B	2,36	A
0,625	11,11	A	4,98	A	1,15	AB	2,19	A	2,70	A
1,250	9,30	C	4,88	A	0,99	BC	3,21	A	2,63	A
2,500	11,28	A	4,52	A	1,38	AB	5,22	C	3,50	B

(1) každá hodnota predstavuje priemer z troch opakovaní; (2) hodnoty označené rovnakým písmenom v stĺpci nepreukázali štatistickú odchýlku na základe LSD testu ($P=0,05$); hrubo označené dáta predstavujú štatisticky významný stimulačný vplyv silice.

Pri porovnávaní zloženia silice extrahovanej z druhov *Heracleum sosnowskyi* a *Heracleum mantegazzianum* nebol preukázaný žiadny štatisticky rozdiel, čo potvrdzuje tvrdenie, že uvedené druhy sú si veľmi blízke (JAKUBSKA-BUSSE et al., 2013).

V súčasnosti neexistuje iná štúdia, ktorá by sa venovala hodnoteniu fytoxickej aktivity silice extrahovanej z *H. mantegazzianum*. Podobná štúdia však bola realizovaná metódou použitia vatových tyčiniek, pri ktorej sa hodnotil vplyv silice zo semien *H. sosnowskyi* na dĺžku stonky a korenkov *Lactuca sativa*. Dĺžka korenia a stonky u *L. sativa* boli preukazne inhibované, kým klíčivosť semien

nebola ovplyvnená silicou získanou extrakciou zo semien *H. sosnowskyi*. Ako hlavnú chemickú zložku, ktorá mala inhibičný vplyv identifikovali oktanal (MISHYNA et al., 2015).

Zloženie silíc medzi jednotlivými rastlinnými druhmi predstavuje významnú variabilitu. Ďalšie vedecké štúdie reflektujú odlišný vplyv rastlinných silíc na jednoklíčnolistové a dvojklíčnolistové druhy rastlín. Vplyv silíc druhov *Rosmarinus officinalis* L., *Satureja hortensis* L. a *Laurus nobilis* (Lamiaceae) bol hodnotený pri experimentoch, kde sa pozoroval vplyv silíc na klíčivosť a rast dvoch druhov *Amaranthus retroflexus* L. (dvojklíčnolistová r.) a *Bromus tectorum* L. (jednoklíčnolistová r.). Silice z rastlín patriacich do čeľade Lamiaceae ako napríklad *Rosmarinus officinalis*, *Thymys vulgaris* a niekoľko druhov rodu *Satureja* výrazne redukovali klíčivosť a rast rastlín rôznych druhov (ANGELINI et al., 2003, TABAN et al., 2013). U vyššie spomínaného experimentu, druh dvojklíčnolistovej rastliny *Amaranthus retroflexus* bol senzitivnejší na silicu *R. officinalis*, kým jednoklíčnolistový druh *B. tectorum* prejavoval vyššiu senzitivitu na silicu *S. hortensis*. Vo všeobecnosti, *B. tectorum* ako jednoklíčnolistový druh preukazoval vyššiu odolnosť voči aplikácii silíc, v porovnaní s dvojklíčnolistovým druhom *Amaranthus retroflexus*.

Ďalšie štúdie (AMRI et al., 2012; SHAO et al., 2013; ALMARIE et al., 2016) publikovali rovnaké zistenia, kde druhy jednoklíčnolistových rastlín boli rezistentnejšie voči pôsobeniu rastlinných silíc z rôznych čeľadí (Cupressaceae, Asteraceae, Anacardiaceae, Cardiopteridaceae, Lamiaceae, Polygonaceae, Rutaceae) v porovnaní s dvojklíčnolistovými druhmi. Tieto výsledky sú zhodné s našimi pozorovaniami. Alelopatický efekt silíc môže byť veľmi variabilný vzhľadom na zloženie silice ako aj vzhľadom na k citlivosť receptorov ovplyvnených druhov (TABAN et al., 2013; ALIPOUR & SAHARKHIZ, 2016).

ZÁVER

Ekologická otázka „Aké sú príčiny úspešnej invázie mnohých rastlinných druhov?“ pretrváva. Napriek mnohým hypotézam, je úspešného ich osídľovania stále vysoká najmä vďaka neprítomnosti prirodzených nepriateľov, ktorí by boli schopní regulovať populácie introdukovaných druhov. Taktiež chemické látky vylučované inváznymi rastlinami pravdepodobne súvisia s úspechom ich rozširovania na nových územiach. Hypotézu o využívaní týchto zbraní je možné demonštrovať čiastočne aj v našom experimente. V priebehu ontogenetického vývinu rastlín dochádza ku kvalitatívnym aj kvantitatívnym zmenám sekundárnych metabolitov, čo sme pozorovali pri hodnotení obsahového zloženia silice skúmaného druhu. Pri porovnaní zloženia silice zo vzoriek zbieraných v rôznom vývinovom období sme identifikovali odlišné zloženie. V skoršom vývinovom štádiu dominovali terpénové komponenty, v neskoršom alifatické estery zo skupiny alkoholov. Okrem toho sme hodnotili aj potenciálny fytotoxický efekt týchto chemických látok. Sekundárne metabolity, ktoré boli extrahované z invázneho druhu *Heracleum mantegazzianum* mali štatisticky preukazný vplyv na klíčivosť semien druhu *Lactuca sativa* a *Triticum aestivum*. Zatiaľ čo pri druhu *L. sativa* bol efekt pri obidvoch vzorkách inhibičný, klíčivosť semien *T. aestivum* bola po aplikácii silice z májovej vzorky skôr stimulačná, po aplikácii júlovej

vzorky už inhibičná. Pri sledovaní vplyvu silice na dĺžku korieňkov modelových rastlín bol efekt štatisticky významný u všetkých modelových rastlín. Biologická aktivita silice, pri ktorej je efekt rozdielny je možné vysvetliť tzv. teóriou „hormesis alebo dose-response theory“. Táto teória vysvetľuje to, že pri nižšej koncentrácii aplikovanej látky je reakcia stimulačná a pri vyššej koncentrácii sa efekt mení na inhibičný

POĎAKOVANIE

Tento príspevok bol realizovaný v rámci projektu Ochrana životného prostredia pred parazitózami pod vplyvom globálnych klimatických a spoločenských zmien (ITMS kód: 26220220116). Práca vznikla za finančnej podpory projektu VEGA 2/0013/16 a projektu 001PU-2-1/2018 „Rozvoj výskumnej a technickej infraštruktúry Prešovskej univerzity, II. etapa“.

LITERATÚRA

- ADAMS, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured, Carol Stream, IL.
- ALIPOUR, M. – SAHARKHIZ, M.J., 2016. Phytotoxic activity and variation in essential oil content and composition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) during different phenological growth stages. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, (7): 271–278.
- ALMARIE, A.A. – MAMAT, A.S. – WAHAB, Z. – RUKUNUDIN, I.H., 2016. Chemical composition and phytotoxicity of essential oils isolated from Malaysian plants. Allelopathy Journal, 37 (1): 55-70.
- AMRI, I. – HAMROUNI, L. – HANANA, M. – JAMOUSI, B., 2012. Herbicidal potential of essential oils from three Mediterranean trees on different Weeds. Current Bioactive Compounds, 8(1): 3–12.
- ANGELINI, L.G. – CARPANESE, G. – CIONI, P.L. – MORELLI, I. – MACCHIA, M. – FLAMINI, G., 2003. Essential oils from Mediterranean lamiaceae as weed germination inhibitors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (21): 6158–6164.
- BALEŽENTIENÉ, L. – RENČO, M. 2014. Phytotoxicity and accumulation of secondary metabolites in *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae). Allelopathy Journal, 33 (2): 267-276 (2014).
- BECERRA, P.I. – CATFORD, J.A. – INDERJIT – MCLEOD, M.L. – ANDONIAN, K. – ASCHEHOUG, E.T. – MONTESINOS, D. – CALLAWAY, R.M., 2018. Inhibitory effects of *Eucalyptus globulus* on understorey plant growth and species richness are greater in non-native regions. Global Ecology and Biogeography, 27 (9):68–76.
- CALLAWAY, R.M. – RIDENOUR, W.M., 2004. Novel weapon: invasive success and the evolution of competitive ability. Frontiers in Ecology and the Environment, 2 (8): 436–443.
- CSISZÁR, Á. – KORDA, M. – SCHMIDT, D. – ŠPORCIC, D. – SÜLE, P. – TELEKI, B. – TIBORCZ, V. – ZAGYVAL, G. – BARTHA, D., 2013. Allelopathic potential of some invasive plant species occurring in Hungary. Allelopathy Journal, 31 (2): 309-318.
- DEL FABBRO, C. – GÜSEWELL, S. – PRATI, D., 2014. Allelopathic effects of three plant invaders on germination of native species: a field study. Biological Invasions 16 (5): 1035–1042.
- DREVER, J.C. – HUNTER, J.A., 1970. Giant Hogweed dermatitis. Scottish Medical Journal, (15): 315-319.
- FALASCA, A. – CAPRARI, C. – DE FELICE, V. – FORTINI, P. – SAVIANO, G. – ZOLLO, F. – IORIZZI M., 2016. GC-MS analysis of the essential oils of *Juniperus communis* L. berries growing wild in the Molise region: Seasonal variability and in vitro antifungal activity. Biochemical Systematics and Ecology, 69:166-175.
- GRUOVÁ, D. – BARANOVÁ, B. – IVANOVA, V. – DE MARTINO, L. – MANCINI, E. – DE FEO, V., 2016. Composition and biological activity of essential oils of *Solidago* species and the possible impact on their invasions. Allelopathy Journal, 39 (2): 129-142.

- GRULOVÁ, D. – DE MARTINO, L. – MANCINI, E. – SALAMON, I. – DE FEO, V., 2015. Seasonal variability of the main components in essential oil of *Mentha×piperita* L. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 95(3): 621-627.
- JAKUBSKA-BUSSE, A. – ŚLIWIŃSKI, M. – KOPYŁKA, M., 2013. Identification of bioactive components of essential oils in *Heracleum sosnowskyi* and *Heracleum mantegazzianum* (Apiaceae). *Archives of Biological Sciences*, 65 (3): 877-883.
- JENNINGS, W. – SHIBAMOTO, T., 1980. *Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography*. Academic Press, New York (1980).
- MISHYNA, M. – LAMAN, N. – PROKHOROV, V. – MANINANG, J.S. – FUJII, Y., 2015. Identification of Octanal as Plant Growth Inhibitory Volatile Compound Released from *Heracleum sosnowskyi* Fruit. *Natural Product Communication*, 10 (5): 771-775.
- MURADO, M.A. – VÁZQUEZ, J.A., 2007. The notion of hormesis and the dose–response theory: A unified approach. *Journal of Theoretical Biology*, 244(3): 489-499.
- PADALIA, R.C. – VERMA, R.S. – CHAUHAN, A. – CHANOTIYA, C.S., 2013. Changes in aroma profiles of 11 Indian Ocimum taxa during plant ontogeny. *Acta Phytol Plant*, 35(8): 2567-2587.
- PERGL, J. – PERGLOVÁ, I. (2006). *Heracleum mantegazzianum*. Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe (DAISIE).
- PIMENTEL, R. B.Q. – SOUZA, D. P. – ALBUQUERQUE, P.M. – FERNANDES, A.V. – SANTOS, A.S. – DUVOISIN, J. S. – GONÇALVES, J.F.C., 2018. Variability and antifungal activity of volatile compounds from *Aniba rosaeodora* Ducke, harvested from Central Amazonia in two different seasons. *Industrial Crops & Products*, 123: 1-9.
- PYŠEK, P. – COCK, M.J.W. – NENTWIG, W. – H.P. RAVN, 2007. Master of all traits: Can we successfully fight Giant Hogweed, In: *Ecology and management of Giant Hogweed (Heracleum mantegazzianum)*, (Eds. P. Pyšek, M.J.W. Cock, Nentwig, W. and H.P. Ravn), 297-312.
- REINHARDT, F. – HERLE, M. – BASTIANSEN, F. – STREIT, B., 2003. Economic Impact of Spread of Alien Species in Germany. Environmental Research, Federal Ministry of Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety, Research Report 201 86 211, UBA-FB 000441e, Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt), Berlin, DE, 229 p.
- SAEB, K. – GHOLAMREZAEI, S., 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2): S547-549.
- SHAO, H. – ZHANG, Y.M. – NAN, P. – HUANG X.L. – ZHANG CH., 2013. Chemical composition and phytotoxic activity of the volatile oil of invasive *Xanthium italicum* Moretti from Xinjiang, China. *J Arid Land* (2013) 5(3): 324-330.
- SCHINDLER, B. – HEINZMANN, B.M., 2017. *Piper gaudichaudianum* Kunth: Seasonal Characterization of the Essential Oil Chemical Composition of Leaves and Reproductive Organs. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60: e17160441.
- SKALICKA-WOŹNIAK, K. – GRZEGORCZYK, A. – ŚWIĄTEK, Ł. – WALASEK, M. – WIDELSKI, J. – RAJTAR, B. – POLZ-DACEWICZ, M. – MALM, A. – ELANSARY, H. O., 2017. Biological activity and safety profile of the essential oil from fruits of *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae). *Food and Chemical Toxicology*, 109(2): 820-826.
- STARFINGER, U. – KOWARIK, I., 2003. *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae), *Riesen-Barenklau*. In: *NeoFlora* (Ed., Bundesamt f. Naturschutz), <http://www.neophyten.de>.
- SZUMNY, A. – ADAMSKI, M. – WINSKA, K. – MACZKA, W. – NOWAKOWSKI, P., 2012. Chemical composition of volatile oils of giant-hogweed. *Przemysł Chemiczny*, 91(5): 1024-1027.
- TABAN, A. – SAHARKHIZ, M.J. – HADIAN, J., 2013. Allelopathic potential of essential oils from four *Satureja* spp. *Biological agriculture & horticulture*, 29 (4): 244-257.
- THIELE, J. – OTTE, A., 2007. Impact of *Heracleum mantegazzianum* on invaded vegetation and human activities. In: *Ecology and Management of Giant Hogweed (Heracleum mantegazzianum)* (Eds., P. Pyšek, M.J.W. Cock, W. Nentwig and H.P. Ravn), CAB International, Wallingford, U.K. , pp. 144-156.
- TKACHENKO, K., 1993. Constituents of essential oils from fruits of some *Heracleum* L. species. *Journal of essential oil research*, 5(6): 687-689.

-
- TSCHEDEL, K. (2005). Wenn Neophyten zum Problem werden (invasive Pflanzenarten in Ostsachsen). Naturschutzbehörde des Landeskreis Löbau-Zittau.
- VERMA, R.S. – PADALIA, R.C. – CHAUHAN, A.,2012. Variation in the volatile terpenoids of two industrially important basil *Ocimum basilicum* L. cultivars during plant ontogeny in two different cropping seasons from India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3): 626–631.
- WANG, H. – ZHOU, Y. – CHEN, Y. – WANG, Q. – JIANG, L. – LUO, Y., 2015. Allelopathic Potential of Invasive *Plantago virginica* on Four Lawn Species. *PLoS ONE* 10(4): e0125433.