

POROVNANIE KVALITY A KVANTITY SILICE *SOLIDAGO CANADENSIS* L. A JEJ ALELOPATICKEJ AKTIVITY Z TROCH LOKALÍT V ZÁVISLOSTI OD VZDIALENOSTI K PRIEMYSELNÉMU PARKU

COMPARISON OF THE QUALITY AND QUANTITY OF *SOLIDAGO CANADENSIS* L. ESSENTIAL OIL AND ITS ALLELOPATIC ACTIVITY FROM THREE LOCALITIES IN DEPENDENCE TO THE DISTANCE TO INDUSTRIAL PARK

Daniela GRUĽOVÁ^{1,*} – Patrícia KRAUSOVÁ² – Lenka DEMKOVÁ¹ – Lenka BOBULSKÁ¹ – Vincent SEDLÁK² – Mária KONEČNÁ² – Marta MYDLÁROVÁ BLAŠČÁKOVÁ² – Janka PORÁČOVÁ²

ABSTRACT

Goldenrod (*Solidago canadensis* L.) is considered to be invasive species in Slovakia. It belongs to the genus Asteraceae. Goldenrod is spreading fast in last decades, previously on non occupied lands and slowly participates in changing the original floristic composition. The aim of present study is to compare quantitative and qualitative characteristics of essential oil (EO) as well as its allelopathic activity depending on the distance to the important industrial zone in Eastern Slovakia. Based on the results, there was observed decreasing of the amount of the essential oil with the increasing the distance from industrial zone. Dominant components in EO were α -pinene, limonene, β -elemene, β -gurjunene, δ -kadinene in all samples. There was also confirmed slight phytotoxic activity on selected dicot model plants.

KEYWORDS

Solidago canadensis L. extract, phytotoxic effects, germination, radicle elongation

ÚVOD

Zlatobyl kanadskú možno jednoznačne zaradiť medzi invázne rastliny. Tento druh sa do strednej Európy dostal zo Severnej Ameriky ako medonosná a okrasná rastlina. Je to trvácia rastlina dorastajúca do výšky až 150 cm. Niekoľko bylí spoločne vyrastá z hlavného vretenovitého koreňa, z ktorého vyrastajú plazivé podzemky. Byl je drsná, chlpatá a husto olistená. Listy sú striedavé. Súkvetie tvorí chocholíkatá metlina, ktorú tvoria úbory drobných žltých kvetov na chlpatých vzpriamených stopkách. Kvitne koncom vegetačného obdobia (august až október). Keďže patrí medzi rastliny bohaté

1 Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, 17. novembra č. 1, SK-081 16 Prešov, Slovensko; e-mail: daniela.grulova@unipo.sk; lenka.demkova@unipo.sk; lenka.bobulska@unipo.sk

2 Katedra biológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, 17. novembra č. 1, SK-081 16 Prešov, Slovensko; e-mail: pat.krausova@gmail.com; vincent.sedlak@unipo.sk; maria.konecna@unipo.sk; marta.mydlarova@unipo.sk; janka.poracova@unipo.sk

* Autor pre korešpondenciu.

na peľ, značne vylepšuje neskoršie letné a jesenné znášky peľu u včiel medonosných. Nadprodukcia peľu v tomto období spôsobuje alergické reakcie u citlivých ľudí (CVACHOVÁ a GOJDIČOVÁ, 2003).

Význam sekundárnych metabolitov pre rastlinu bol dlhú dobu nejasný. Napriek tomu sa v súčasnosti vedci zhodujú na tom, že sú dôležitými faktormi na prežitie rastliny. Zúčastňujú sa na interakcii rastliny so živočíchmi, rastlinami navzájom, mikroorganizmami a ostatnými zložkami prostredia. Sekundárne metabolity slúžia rastline predovšetkým ako obrana napríklad pred bylinožravcami. Ako odpoveď na pôsobenie proteínov zo zvieracích slín vytvára rastlina horké látky alebo látky schopné denaturovať proteíny a poškodiť sliznicu ústnej dutiny či tráviaceho traktu. Tie chemické látky živočicha odradia od ďalšej konzumácie danej rastliny. Obranné látky, produkované rastlinou bývajú často veľmi toxické. Okrem toho, sekundárne metabolity slúžia ako obrana aj pred hmyzom a mikroorganizmami. Vylučovaním obranných látok do pôdy či ovzdušia bránia rastu iných druhov rastlín vo svojom bezprostrednom okolí. Tento jav nazývame alelopátia (NAGY a kol., 2017). Ako je všeobecne známe z rôznych štúdií, silice z rôznych rastlinných druhov ako aj ich jednotlivé terpenové komponenty, majú silné herbicídne účinky na klíčenie niektorých druhov rastlín a na rast ich korenkov (GRUOVÁ a kol., 2016; DUDAI a kol., 2000; DE MARTINO a kol., 2010; KALEMBA a THIEM, 2002; AMTMANN, 2010; ARECO a kol., 2014; IBRAHIM a kol., 2004; CHOWHAN a kol., 2013; BARNEY a kol., 2005). V minulosti už niekoľko autorov uviedlo, že 1,8-cineol a gáfor majú silné fytotoxické účinky proti rôznym druhom rastlín. Citronellal, citronellol, linallol (SINGH a kol., 2002), α -pinén (SINGH a kol., 2006) a limonén (ABRAHIM a kol., 2000) sú známe ako inhibítory klíčenia a rastu sadeníc. Mnohé publikácie vysvetľujú, že monoterpenové uhľovodíky majú nižšiu inhibičnú aktivitu ako oxigénové monoterpeny. DE MARTINO a kol. (2010) uvádzajú, že ako najúčinnnejšie zlúčeniny pôsobiace proti klíčeniu testovaných semien sa ukázali alkoholy (borneol, citronellol, geraniol, α -terpineol), ketóny (karvón, mentón, gáfor) a aldehydy. Ich štúdia konštatuje, že oksyložené monoterpeny majú v porovnaní s monoterpenovými uhľovodíkmi väčší vplyv na klíčenie testovaných semien. V súčasnosti sú známe výskumy z rôznych krajín, kde boli skúmané obsahové látky silice inváznej rastliny *Solidago canadensis* L. Čo sa týka obsahových látok silice extrahovanej z nadzemných častí tejto rastliny, prevládali monoterpeny a seskviterpeny. Z kvantitatívneho hľadiska, dominantné komponenty predstavujú α -pinén, limonén, germakrén D, β -elemén a iné (KALEMBA a THIEM, 2002; AMTMANN, 2010; MISHRA a kol., 2010; CHANOTTIYA a YADAV, 2008). Z fyziologického hľadiska majú rastlinné druhy tendenciu prispôbovať sa meniacim sa exogénnym faktorom a antropogénnemu vplyvu, ktoré taktiež môžu mať vplyv na produkciu sekundárnych metabolitov. Kvantitatívne a kvalitatívne vlastnosti silíc, sú ovplyvňované mnohými endogénnymi (genetická diverzita, druhová variabilita) či exogénnymi faktormi (meteorologické a klimatické podmienky na stanovišti a i.) (GRUOVÁ a kol., 2015).

V rámci hypotézy tejto vedeckej štúdie predpokladáme, že tuhé priemyselné emisie z priemyselného parku by mohli mať vplyv na produkciu množstva silice skúmaného druhu zlatobyle kanadskej ako aj na jej obsahové zloženie, z čoho môže vyplývať aj

rôzny alelopatický efekt na okolitú flóru.

Cieľom tejto práce bolo porovnanie kvantitatívneho a kvalitatívneho zloženia silice druhu *Solidago canadensis* L. ako aj jej potenciálnu alelopatickú aktivitu na iné druhy rastlín, vzhľadom na jej výskyt a vzdialenosti od veľkého priemyselného parku na Východnom Slovensku

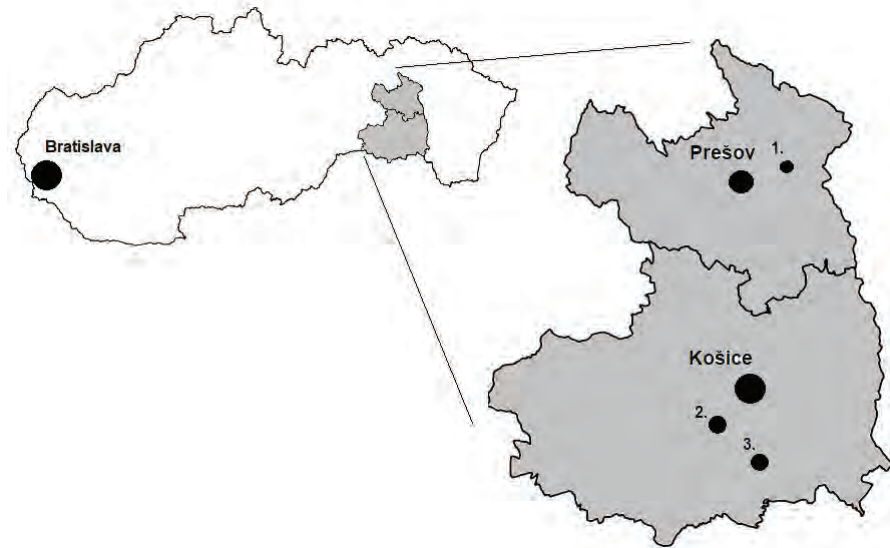
MATERIÁL A METÓDY

Charakteristika odberných miest

Priemyselný park U.S. Steel Košice je najväčší výrobca ocele v strednej Európe. Predstavuje integrovaný hutnícky podnik s vyše 50 ročnou tradíciou s výrobnou kapacitou 4,5 ton ocele ročne a zamestnáva takmer 11 000 ľudí. Okrem toho, že patrí k najväčším zamestnávateľom v regióne, bol tento priemyselný park hodnotený ako prvý z 10 najväčších znečisťovateľov na Slovensku podľa emisií tuhých znečisťujúcich látok. Hodnoty tuhých emisií sa za posledných 15 rokov pohybovali v priemere 1500 t ročne. Najvyššia hodnota bola zaznamenaná v roku 2014 a to až 2086,92 t a odvtedy bol zaznamenaný pokles na 1933,61 t v roku 2017 (NEIS, 2019).

Rastlinný materiál bol odobratý z troch rôznych vzdialeností od priemyselného parku U.S. Steel Košice: 1.) z okolia obce Vyšná Šebastová (>40 km), 2.) z okolia nákupného centra Optima Košice (>9 km), 3.) z okolia U.S. Steel Košice (2 km) (Obr. 1).

Súhrn informácií o odberových lokalitách je v tabuľke 1.



Obrázok 1. Mapa odberných lokalít.

Figure 1. Map of collection sites.

Tabuľka 1. Stručná charakteristika lokalít zberu rastlinného materiálu.

Table 1. Brief characteristics of local collection of plant material.

Lokalita	Názov	GPS súradnice	Vzdušná vzdialenosť od zdroja znečistenia
1	Vyšná Šebastová	49°00'30.4"N 21°20'09.5"E	45,75 km
2	Optima, Košice	48°41'26.7"N 21°15'12.0"E	9,33 km
3	Priemyselný park U.S. Steel Košice	48°37'07.3"N 21°13'45.4"E	2 km

Rastlinný materiál

V auguste 2017 boli odobraté nadzemné časti rastliny *Solidago canadensis* L. manuálne pomocou záhradníckych nožníc. Rastliny boli vo fáze plného kvetu. Z každej lokality sa odobralo niekoľko náhodných trsov. Následne bol rastlinný materiál v laboratóriu uložený v tenkých vrstvách na filtračný papier, kde sa sušil pri izbovej teplote (22°C) niekoľko dní. Takto vysušený rastlinný materiál bol pripravený na ďalšie analýzy.

Hydrodestilácia silice a kvantitatívna charakteristika silice

Hydrodestilácia silice prebiehala štandardnou metódou v destilačnej aparatúre Clevengerovho typu počas 3 hodín. Množstvo 20 g vysušeného rastlinného materiálu bolo nastrihané na menšie časti a vložené do 500 ml varnej banky. Do každej banky bolo pridaných cca 200 ml destilovanej vody. Po uplynutí troch hodín sme silicu vypustili do vialiek z hnedého skla. Hydrodestilácia silice sa robila v troch opakovaniach z každej lokality. Pripravené vzorky boli uskladnené v chladničke (pri 4°C) až do ďalších analýz. Množstvo hydrodestilovanej silice sme zväžili na analytických váhach a prepočítali jej množstvo na 100 g rastlinného materiálu.

GC/MS analýza – kvalitatívna charakteristika silice

Kvantitatívna a kvalitatívna analýza jednotlivých komponentov silice extrahovanej zo zlatobyle boli vykonané pomocou plynového chromatografu Varian 450-GC, ktorý bol pripojený k hmotnostnému spektrometru Varian 220-MS. Separácia jednotlivých komponentov bola dosiahnutá použitím kapilárnej kolóny BRUKER BR5ms (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 1,0 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 porovnaním retenčných indexov so štandardnými látkami. Hmotnostné spektrá jednotlivých komponentov boli porovnávané so spektrami z literatúry (ADAMS, 2007).

Modelové organizmy pre determináciu fytoxickej aktivity silíc

Semená na testovanie fytoxickej aktivity silíc boli od výrobcu ZELSEED spol. s.r.o. Použili sme semená dvoch druhov dvojklíčnolistových rastlín, a to a) reďkev siata (*Raphanus sativus*) a b) žerucha siata (*Lepidium sativum*).

Testovanie fytoxickej aktivity

Pre testovanie fytoxickej aktivity silíc na vybraných semenách modelových rastlín boli použité jednorazové plastové Petriho misky (PM) veľkosti vnútorného priemeru 90 mm, do ktorých sme umiestnili 3 vrstvy filtračného papiera (Papírny Perštejn s.r.o.). Do každej PM sme vložili 10 semien a následne sme na ne aplikovali 7 ml vodného roztoku silice. Silice boli nariadené do šiestich koncentráciách od 0,0625 µg/ml až po 2,5 µg/ml. Ako kontrolná vzorka bola použitá destilovaná voda. Experiment bol realizovaný v troch opakovaníach. Následne boli Petriho misky umiestnené do fytokomory, kde boli po dobu 5 dní vystavené teplote 22±1°C a svetelnému režimu 10 hodín svetlo, 14 hodín tma. Po 5 dňoch sa vyhodnotila klíčivosť semien a dĺžka koreňov. Klíčivosť semien sa vyhodnocovala ako počet vyklíčených semien v sérii PM, prepočítala sa na percento a porovнала s kontrolnou vzorkou. Dĺžka koreňov sa merala pravítkom a porovнала s kontrolnou vzorkou.

Štatistická analýza

Získané dáta popísané vyššie boli zaznamenávané do excelovského súboru a štatisticky spracované pomocou metódy Student T-test. Použila sa metóda, kde sa vyhodnocoval priemer z nameraných hodnôt, smerodajná odchýlka SD a porovnanie nameraných dát s kontrolnou vzorkou pre určenie pravdepodobnosti odchýlky.

VÝSLEDKY

Porovnanie množstva extrahovanej silice

Rastlinný materiál zlatobyle kanadskej z troch lokalít, z ktorých každá lokalita predstavovala rôznu vzdialenosť od priemyselného parku U.S. Steel Košice, bol použitý na porovnanie množstva vyprodukovanej silice.

Na základe vyhodnotených meraní, priemerné množstvo silice so vzrastajúcou vzdialenosťou od miesta potenciálnej kontaminácie sa znižovalo. Najvyššia hodnota silice na 100 g suchej biomasy (SB) rastlinného materiálu bola zaznamenaná vo vzorke odobratej z lokality najbližšie pri priemyselnom parku U.S. Steel Košice (0,87 g/100 g SB), potom nasledovala vzorka odobratá z lokality vzdialenej od priemyselného parku 9 km (Optima) s množstvom 0,70 g/100 g SB a najmenej silice sme determinovali vo vzorke z najvzdialenejšej lokality Vyšná Šebastová (>40 km od priemyselného parku), a to 0,45 g/100 g SB (tabuľka 2). Ak by sa najvzdialenejšia lokalita (Vyšná Šebastová)

považovala za kontrolnú lokalitu, je možné konštatovať signifikantný rozdiel v množstve produkovanej silice.

Tabuľka 2. Množstvo extrahovanej silice na 100 g suchej biomasy rastlinnej vzorky zlatobyľe.

Table 2. The amount of extracted essential oil per 100 g of dry biomass of the goldenrod plant sample.

Lokalita	Priemerné množstvo silice na 100 g sušeného rastlinného materiálu (g)
U.S. Steel	0,87
Optima	0,70
V. Šebastová	0,45

Kvantitatívna a kvalitatívna charakteristika obsahových látok v silici zlatobyľe

V extrahovanej silici *Solidago canadensis* L. z troch rôznych lokalít zberu, bolo pomocou GC/MS analýzy identifikovaných 10 dominantných komponentov (tabuľka 3).

Tabuľka 3. Kvantitatívne a kvalitatívne zloženie silice extrahovanej zo vzoriek *Solidago canadensis* L. z troch lokalít zberu.

Table 3. Quantitative and qualitative composition of essential oil extracted from samples of *Solidago canadensis* L. from three collection sites.

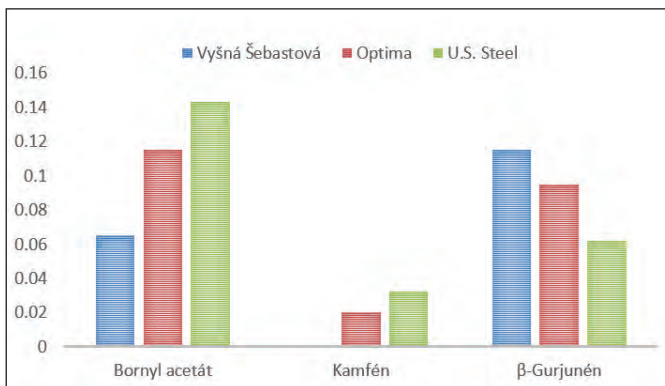
poradie	komponent	Ki*	vzorec	% obsahový látok		
				Vyšná Šebastová	Optima	US Steel
1.	α-pinén	936	C ₁₀ H ₁₆	17,3	21,5	12,0
2.	kamfén	950	C ₁₀ H ₁₆	0,1	2,0	3,2
3.	β-pinén	978	C ₁₀ H ₁₆	1,5	4,6	4,4
4.	limonén	1025	C ₁₀ H ₁₆	15,8	3,0	28,3
5.	bornyl acetát	1270	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	6,5	11,5	14,3
6.	β-elemén	1338	C ₁₅ H ₂₄	22,0	0,3	6,4
7.	longifolén	1387	C ₁₅ H ₂₄	9,3	0,5	4,4
8.	β-gurjunén	1472	C ₁₅ H ₂₄	11,5	9,5	6,2
9.	γ-kadinén	1507	C ₁₅ H ₂₄	1,0	2,7	1,1
10.	δ-kadinén	1520	C ₁₅ H ₂₄	2,8	10,0	5,2
SUMA				87,8	65,5	85,4
monoterpény				34,7	34,1	47,9
seskviterpény				46,6	23	23,3
acetátový ester				6,5	11,5	14,3

* Kovats index komponentu podľa literatúry.

Celkovo bolo identifikovaných 87,8 % obsahových zložiek vo vzorke silice z lokality V. Šebastová; 65,5 % vo vzorke z lokality Optima a 85,4 % vo vzorke z lokality U.S. Steel.

Vo vzorke z V. Šebastovej bol ako dominantný komponent identifikovaný β -elemén (22,0%), po ňom nasledovali α -pinén (17,3%), limonén (15,8 %) a β -gurjunén (11,5%). Ostatné zložky dosiahli menej ako 10 % z celkového množstva v silici. Z toho 34,7 % tvorili monoterpény, 46,6% seskviterpény a 6,5 % acetátový ester. Vo vzorke Optima bola ako dominantná zložka identifikovaný α -pinén (21,5 %), po ňom nasledoval bornyl acetát (11,5 %) a δ -kadinén (10,0 %). Ostatné zložky mali kvantitatívne zastúpenie nižšie ako 10 %. Vo vzorke US Steel bol ako dominantný komponent identifikovaný limonén (28,3 %) po ňom nasledovali bornyl acetát (14,3 %) a α -pinén (12,0 %). Ostatné zložky mali kvantitatívne zastúpenie nižšie ako 10 %.

Na základe identifikovaných komponentov, bola tiež hodnotená ich kvantita v závislosti od vzdialenosti od priemyselného parku. Pri komponentoch α -pinén, β -pinén, limonén, β -elemén, longifolén, γ -kadinén a δ -kadinén kvantitatívna závislosť od miesta potenciálneho znečistenia zistená nebola. Avšak so vzrastajúcou vzdialenosťou od priemyselného parku sa percentuálne zloženie mení u komponentov kamfén, bornyl acetát a β -gurjunén, kde sa prejavila takmer lineárna závislosť. Najvyššie percento v rámci obsahových látok silice dosiahol bornyl acetát (14,3 %), a to konkrétne vo vzorke U.S. Steel. Vo vzorke Optima komponent bornyl acetát dosiahol 11,5 %, pričom najnižšie percento tejto obsahovej látky bolo identifikované v kontrolnej vzorke Vyšná Šebastová (6,5 %). Komponent kamfén dosiahol najvyššie percento vo vzorke U.S. Steel, kde sa predpokladá najvyššie zaťaženie prostredia v dôsledku priemyselnej činnosti. Hodnota tohto komponentu vo vzorke U.S. Steel dosiahla 3,2 %. Druhé najvyššie percento tohto komponentu v rámci obsahových látok *Solidago canadensis* L. dosiahla vzorka Optima (2,0 %) a iba 0,1 % tohto komponentu bolo identifikovaných v kontrolnej vzorke Vyšná Šebastová. Naopak, komponent β -gurjunén prítomný v najvyššom percentuálnom zastúpení (11,5 %) vo vzorke Vyšná Šebastová sa so znižujúcou vzdialenosťou od priemyselného parku U.S. Steel Košice znižuje. Vo vzorke Optima bol komponent β -gurjunén identifikovaný v množstve 9,5 % a najnižšie percentuálne zastúpenie bolo identifikované vo vzorke U.S. Steel (6,2 %) (obrázok 3).



Obrázok 3. Vybrané komponenty silice *Solidago canadensis* L., pri ktorých sa prejavila závislosť so zväčšujúcou resp. znižujúcou sa vzdialenosťou od priemyselného parku.

Figure 3. Selected components of the essential oil *Solidago canadensis* L., which showed dependence with increasing resp. decreasing distance from the industrial park.

Odlíšny charakter zmien vo vzorkách z troch lokalít je možné pripísať rozdielnemu biochemickému metabolizmu jednotlivých komponentov ako aj iným doteraz nepreskúmaným faktorom. Objektívne nie je možné zhodnotiť príčiny (ne) lineárnej závislosti pribúdania, alebo úbytku jednotlivých komponentov v závislosti od vzdialenosti tzv. zdroja kontaminácie. Tento faktor si vyžaduje ďalšie podrobnejšie skúmanie.

Vplyv silice na klíčenie modelových rastlín

Na základe kvantitatívnych odlišností komponentov v siliciach zo skúmaných vzoriek, bolo možné porovnať fyto toxickú aktivitu každej vzorky osobitne len vzhľadom ku kontrole. Porovnali sa výsledky klíčenia modelových rastlín *Lepidium sativum* L. a *Raphanus sativus* L.

Klíčovosť semien *Lepidium sativum* v kontrolných vzorkách bola 96,7 %, 95,6 % a 96,7 %. Klíčivosť semien *Lepidium sativum* bola aj po aplikácii rôznych koncentrácií silíc viac ako 97,5; 92,2 resp. 92,5 %. Nebol zaznamenaný štatisticky významný inhibičný efekt. Avšak po aplikácii silice vzorky U.S. Steel pri koncentrácii 0,250 µg/ml bola pozorovaná 100%-ná klíčivosť, čo bolo v porovnaní s kontrolnou vzorkou signifikantné a tento jav možno pokladať za stimulačný efekt silice na klíčivosť daného druhu rastliny. Rovnaký jav bol zaznamenaný aj pri aplikácii silice Vyšná Šebastová pri koncentrácii 0,0625 µg/ml (tabuľka 4).

Tabuľka 4. Priemerná percentuálna hodnota vyklíčených semien *Lepidium sativum* L. \pm SD.

Table 4. Mean percentage of germinated seeds of *Lepidium sativum* L. \pm SD.

koncentrácia	U.S. Steel	Optima	Vyšná Šebastová
2,500 μ g/ml	98,3 \pm 0,4	94,4 \pm 0,7	98,3 \pm 0,4
1,250 μ g/ml	98,3 \pm 0,4	98,9 \pm 0,3	99,2 \pm 0,3
0,625 μ g/ml	97,5 \pm 0,4	96,7 \pm 0,5	92,5 \pm 0,9
0,250 μ g/ml	100,0 \pm 0,0*	95,6 \pm 0,7	99,2 \pm 0,3
0,125 μ g/ml	99,2 \pm 0,3	92,2 \pm 0,9	96,7 \pm 0,6
0,062 μ g/ml	97,5 \pm 0,4	97,8 \pm 0,4	100,0 \pm 0,0*
kontrola	96,7 \pm 0,5	95,6 \pm 0,5	96,7 \pm 0,5

Priemerné percentuálne hodnoty z troch opakovaní (pri hodnotení percenta vyklíčených semien \pm štandardná odchýlka; bola použitá štatistická analýza Student T-test (*= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ***= $p \leq 0,001$), čísla v kurzíve predstavujú štatisticky významný stimulačný efekt použitej silice.

Klíčivosť semien *Raphanus sativus* v kontrolných vzorkách bola 97,5%, 88,9% a 95,0%. Po aplikácii rôznych koncentrácií silíc zlatobyle kanadskej z lokalít U.S. Steel a Optima nebol zaznamenaný žiadny signifikantný efekt a klíčivosť semien bola viac ako 86,7 resp. 87,8%. Pri hodnotení klíčivosti semien *R. sativus* po aplikácii silice zo vzorky V. Šebastová bola pri koncentrácii 0,625 μ g/ml zaznamenaná znížená klíčivosť na 71,7%. Táto hodnota bola voči kontrolnej vzorke štatisticky signifikantná a môžeme ju považovať za inhibičný efekt silice voči danému druhu (tabuľka 5).

Tabuľka 5. Priemerná percentuálna hodnota vyklíčených semien *Raphanus sativus* L. \pm SD.

Table 5. Mean percentage of germinated seeds of *Raphanus sativus* L. \pm SD.

koncentrácia	U.S. Steel	Optima	Vyšná Šebastová
2,500 μ g/ml	96,7 \pm 0,5	87,8 \pm 2,7	90,0 \pm 0,9
1,250 μ g/ml	96,7 \pm 0,5	91,1 \pm 1,0	90,8 \pm 1,0
0,625 μ g/ml	95,8 \pm 0,6	96,7 \pm 0,5	71,7 \pm 3,6*
0,250 μ g/ml	94,2 \pm 0,5	93,3 \pm 0,5	98,3 \pm 0,4
0,125 μ g/ml	94,2 \pm 0,8	95,6 \pm 0,5	95,8 \pm 0,5
0,062 μ g/ml	86,7 \pm 2,6	95,6 \pm 0,5	94,2 \pm 0,8
kontrola	97,5 \pm 0,4	88,9 \pm 1,0	95,0 \pm 0,7

Priemerné percentuálne hodnoty z troch opakovaní (pri hodnotení percenta vyklíčených semien \pm štandardná odchýlka; bola použitá štatistická analýza Student T-test (*= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ***= $p \leq 0,001$), čísla označené tučným písmom predstavujú štatisticky významný inhibičný efekt použitej silice.

Vplyv silice na dĺžku korenkov modelových rastlín

Pri hodnotení dĺžky korenkov *L. sativum*, boli namerané kontrolné hodnoty 9,3 cm; 8,7 cm a 9,2 cm.

Štatisticky významný inhibičný efekt v hodnotení dĺžky korenkov bol zaznamenaný pri dvoch lokalitách: lokalita Optima, a to pri aplikácii silice v koncentrácii 0,062 µg/ml, kde bola priemerná dĺžka korenkov 7,7 cm, a pri aplikácii silice z lokality Vyšná Šebastová v koncentrácii 0,625 µg/ml, kde bola priemerná dĺžka korenkov 7,4 cm. V oboch prípadoch bola hodnota štatisticky významná (tabuľka 6). Okrem toho, po aplikácii silice z lokality U.S. Steel bol pozorovaný opačný efekt, a to namerané dlhšie koreňky pri porovnaní s kontrolou po aplikácii silice s koncentraciou 1,250 µg/ml a 0,250 µg/ml (10,3 a 10,6 cm). V oboch prípadoch bol rozdiel štatisticky významný a tento jav môžeme opísať ako stimulačný efekt na rast korenkov daného druhu.

Tabuľka 6. Priemerná dĺžka korenkov u *Lepidium sativum* L. ± SD (cm).

Table 6. Average root length for *Lepidium sativum* L. ± SD (cm).

koncentrácia	U.S. Steel	Optima	Vyšná Šebastová
2,500 µg/ml	9,9 ± 3,2	10,4 ± 14,2	9,7 ± 2,6
1,250 µg/ml	10,3 ± 2,8*	8,7 ± 3,2	9,3 ± 2,9
0,625 µg/ml	9,8 ± 3,1	9,6 ± 3,1	7,4 ± 4,8***
0,250 µg/ml	10,6 ± 3,2**	9,0 ± 3,4	9,6 ± 2,4
0,125 µg/ml	9,9 ± 2,9	7,7 ± 3,9	8,6 ± 3,1
0,062 µg/ml	10,1 ± 2,9	7,7 ± 3,3*	9,8 ± 2,6
kontrola	9,3 ± 3,7	8,7 ± 3,6	9,2 ± 2,8

Čísla predstavujú priemerné hodnoty z tridsať opakovaní (pri hodnotení dĺžky korenkov), bola použitá štatistická analýza Student T-test (= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ***= $p \leq 0,001$), čísla v kurzíve predstavujú štatisticky významný stimulačný efekt použitej silice; čísla označené tučným písmom predstavujú štatisticky významný inhibičný efekt použitej silice.

Dĺžky korenkov *R. sativus* pri kontrolných vzorkách dosahovali hodnoty 5,4 cm; 3,9 cm a 5,3 cm. V rámci hodnotenia dĺžky korenkov *Raphanus sativus* L., bol zaznamenaný významný inhibičný efekt výhradne po aplikácii silice z lokality Vyšná Šebastová, a to v koncentráciách 2,5 µg/ml, 0,625 µg/ml a 0,250 µg/ml, kde dosahovali dĺžky korenkov 4,2 cm, 3,1 cm a 4,7 cm, čo boli hodnoty nižšie ako pri kontrolnej vzorke. Naopak, štatisticky významný stimulačný efekt bol zistený po aplikácii silice z lokality Optima pri koncentráciách 1,250 µg/ml a 0,062 µg/ml, kde dosahovali dĺžky korenkov 4,9 cm a 4,3 cm, čo boli hodnoty vyššie ako pri kontrolnej vzorke (tabuľka 7).

Tabuľka 7. Priemerná dĺžka korenkov u *Raphanus sativus* L. \pm SD (cm).

Table 7. Average root length for *Raphanus sativus* L. \pm SD (cm).

koncentrácia	U.S. Steel	Optima	Vyšná Šebastová
2,500	5,6 \pm 2,5	4,5 \pm 2,0	4,2 \pm 2,3***
1,250	5,4 \pm 2,3	4,9 \pm 3,0*	4,7 \pm 2,4
0,625	5,7 \pm 2,3	4,5 \pm 2,2	3,1 \pm 2,8***
0,250	5,5 \pm 2,8	4,7 \pm 2,0	4,7 \pm 2,1**
0,125	5,8 \pm 2,7	4,2 \pm 1,8	5,4 \pm 2,6
0,062	5,3 \pm 2,8	4,3 \pm 2,2*	5,1 \pm 2,5
kontrola	5,4 \pm 2,6	3,9 \pm 2,5	5,3 \pm 2,6

Čísla predstavujú priemerné hodnoty z tridsať opakovaní (pri hodnotení dĺžky korenkov), bola použitá štatistická analýza Student T-test (= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ***= $p \leq 0,001$),

čísla v kurzíve predstavujú štatisticky významný stimulačný efekt použitej silice; čísla označené tučným písmom predstavujú štatisticky významný inhibičný efekt použitej silice.

Štatisticky významný inhibičný ani stimulačný efekt v hodnotení dĺžky korenkov nebol spozorovaný pri pôsobení vzorky z lokality U.S. Steel, a to ani na semenách *Lepidium sativum* L., ani na semenách *Raphanus sativus* L. (tabuľky 6, 7).

Vplyv silice na rast korenkov testovaných semien *Lepidium sativum* L. sa prejavil inhibíciou v lokalitách Optima a Vyšná Šebastová pri aplikovaných koncentráciách 0,062 $\mu\text{g/ml}$ a 0,625 $\mu\text{g/ml}$. Stimulačný účinok nebol spozorovaný ani pri jednej vzorke. Naopak, na testovaných semenách *Raphanus sativus* L. sa stimulačný účinok prejavil dvakrát, a to vo vzorke Optima pri aplikovaní koncentrácií 1,25 $\mu\text{g/ml}$ a 0,062 $\mu\text{g/ml}$. Inhibičný efekt pri raste korenkov rovnakého druhu sa prejavil iba pri kontrolnej vzorke Vyšná Šebastová pri troch aplikovaných koncentráciách 2,5 $\mu\text{g/ml}$, 0,625 $\mu\text{g/ml}$, 0,250 $\mu\text{g/ml}$. V jednej zo skúmaných vzoriek U.S. Steel nebol spozorovaný žiaden účinok, a to ani pri jednom z testovaných semien. V rámci porovnania biologickej aktivity silice so zväčšujúcou sa vzdialenosťou od priemyselného parku hodnotíme nasledovne – silica získaná z rastlín z bezprostrednej blízkosti priemyselného parku nevykazovala negatívny/inhibičný aleopatický efekt na testovaných modelových organizmoch. Na testovanom organizme *L. sativum* bol hodnotený stimulačný efekt na rast korenkov aj na predlžovanie korenkov. Na modelovom organizme *R. sativus* nebol potvrdený žiadny štatisticky významný vplyv silice z lokality U.S. Steel.

Silica získaná z rastlín vzdialených od priemyselného parku do 10km nemala štatisticky významný vplyv na klíčivosť rastlín a pri hodnotení vplyvu na rast korenkov sa preukázal stimulačný vplyv pre modelový organizmus *R. sativus* a inhibičný vplyv *L. sativum*.

Silica získaná z najvzdialenejšej (kontrolnej lokality) preukázala štatisticky významný stimulačný efekt na klíčivosť *L. sativum* a inhibičný vplyv na *R. sativus* a taktiež inhibičný vplyv na rast korenkov oboch testovaných modelových rastlín.

DISKUSIA

Vo všeobecnosti je známe, že u mnohých rastlín je množstvo a kvalita silice ovplyvnená genetickými (HOSNI a kol., 2010, 2013), ale aj environmentálnymi faktormi ako je salinita, vlhkosť, teplota, fotoperiódna, nutričné látky v pôde a iné (BANCHIO a kol., 2005; HARRATHI a kol., 2012). Oveľa menej poznatkov je o tom, ako vplýva znečistenie ovzdušia či pôdy na kvalitu a kvantitu silice. Tieto faktory súvisia zvyčajne s narušením fyziologických procesov pri biosyntéze sekundárnych metabolitov (KUPCINSKIENE a kol., 2008; DZIRI a HOSNI, 2012). Štúdia, ktorá skúmala vplyv znečisteného ovzdušia blízko cementárne, dospela k rovnakým výsledkom pri hodnotení množstva silice produkovanej rastlinami *Cupressus sempervirens*. U rastlín v bezprostrednej blízkosti bolo determinované väčšie množstvo silice ako u rastlín zo vzdialenejších lokalít od cementárne (HOSNI a kol., 2019). Tá istá štúdia zaznamenala rozdiely aj v kvalitatívnom zložení silice *C. sempervirens*.

Na základe výsledkov našich GC/MS analýz možno konštatovať, že nie všetky komponenty identifikované v silici *Solidago canadensis* L. mali rovnaké tendencie na kvantitatívnu zmenu. U komponentov ako sú α -pinén, β -pinén, limonén, β -elemén, longifolén, γ -kadinén a δ -kadinén nebola zistená závislosť na vzdialenosti výskytu od potenciálneho zdroja znečistenia. Avšak nárast, resp. pokles množstva bol zaznamenaný u troch komponentov: bornyl acetát, kamfén a β -gurjunén. Odlišné zastúpenie komponentov v silici *Solidago canadensis* L. a jej kvantita v jednotlivých vzorkách rôzne vzdialených od priemyselného parku môže potvrdzovať hypotézu, že emisia tuhých častíc môže vplývať na kvantitatívnu a kvalitatívnu charakteristiku silice *Solidago canadensis* L.

K danému faktoru sa môže pridružovať aj vplyv ďalších exogénnych faktorov ako je vlhkosť resp. sucho, teplota či svetlo. Na základe vyššie spomenutej štúdie sa domnievame, že na tvorbu obsahových látok v silici a jej kvantitu môže vplývať aj znečistené prostredie v okolí priemyselného podniku.

Výsledky GC/MS analýzy a identifikácia hlavných komponentov limonén, α -pinén a β -elemén, ktoré dosiahli najvyššie percentuálne zastúpenie v rámci obsahových zložiek silice *Solidago canadensis* L. je možné porovnať s podobnými štúdiami. K rovnakým výsledkom, čiže k identifikácii najvyššieho percentuálneho zastúpenia komponentov limonén a α -pinén sa dopracovali aj vo výskume z Poľska KALEMBA a THIEM (2002). V inej štúdii z Maďarska sa uvádza ako dominantný komponent β -elemén (AMTMANN, 2010). Porovnateľnosť týchto výsledkov mohla byť spôsobená vplyvom podobných klimatických podmienok susedných stredoeurópskych krajín, v ktorých bol rastlinný materiál odobraný a skúmaný.

Podobne ako aj vplyv na klíčenie semien, tak aj vplyv silice na predlžovania koreňov testovaných semien sa vyznačuje dvojakým účinkom. Ide buď o účinok stimulačný alebo inhibičný. Tento fenomén sa nazýva horméza alebo hormetický efekt. Pri horméze sa prechodne stimuluje predlžovanie koreňov, po ktorom nasleduje inhibícia ich rastu. Je to všeobecný efekt, pri ktorom sa prostredníctvom toxického faktora a naštartovania obrany organizmu zmierni reakcia na ostatné stresové faktory. Podľa dostupnej literatúry môžu byť rozličné dávky rovnakej silice inhibičné alebo stimulačné (STEBBING, 1982).

Silica extrahovaná z troch rôznych vzoriek *Solidago* spp. vo výskume GRUŠOVEJ a kol. (2016) stimulovala predlžovanie koreňkov testovaných semien *Raphanus sativus* L. a *Lepidium sativum* L. Naopak, iba v jedinej vzorke bola spozorovaná inhibícia rastu koreňkov na rovnakom druhu testovaných semien. Ako v predchádzajúcom prípade, aj pri priemernej dĺžke koreňkov nebol ani v jedinej ich vzorke spozorovaný stimulačný alebo inhibičný účinok. Fytotoxická aktivita silíc bola stanovená aj vo výskume GRUŠOVEJ a kol. (2016) na rovnakých testovaných modelových semenách. Aplikácia silice v troch rôznych koncentráciách z dvoch odlišných lokalít stimulovala klíčenie semien *Raphanus sativus* L. Naopak, aplikácia silice z inej vzorky pri koncentrácii 0,625 µg/ml spôsobila inhibíciu klíčenia testovaných semien *Raphanus sativus* L. Na inom druhu testovaných semien *Lepidium sativum* L. bola spozorovaná výrazná inhibícia pri dávke 0,625 µg/ml a 0,025 µg/ml v dvoch odlišných vzorkách. Navyše, v jednej zo skúmaných vzoriek nebol spozorovaný žiaden významný účinok. DUDAI a kol. (2000) uviedol, že monoterpény pôsobia na testované semená už vo veľmi nízkych hladinách. Mnoho rastlinných druhov uvoľňuje fytotoxické monoterpény ako β-pinén či limonén. Práve β-pinén podľa ARECO a kol. (2014) znižuje rýchlosť klíčenia a rastu sadeníc *Zea mays* L. V dostupnej literatúre sú uvedené aj inhibičné účinky limonénu na rast a primárnu fyziológiu *Brassica oleracea* L. a *Daucus carota* L. (IBRAHIM a kol., 2004). CHOWHAN a kol. (2013) vo svojej štúdií uviedli, že monoterpény α-pinén, gáfor a citrnela inhibovali bunkové delenie v rastúcich koreňových špičkách a β-pinén inhiboval klíčenie. Naopak, v niektorých výskumoch bolo preukázané, že žiadny z jednotlivých monoterpénov nespôsobil fytotoxicitu. Prítomnosť bioaktívnych terpenoidov naznačuje ich potenciálnu úlohu pri vzniku a šírení rastlín v rôznych biotopoch (BARNEY a kol., 2005).

DE MARTINO a kol. (2010) popísali vo svojej štúdií monoterpény ako hlavné zložky silíc, ktoré sú známe svojimi biologickými vlastnosťami. Zamerali sa na skúmanie 27 monoterpénov, vrátane monoterpénových uhľovodíkov proti klíčeniu semien a následnému rastu koreňkov testovaných semien *Lepidium sativum* L. a *Raphanus sativus* L. Inhibičná aktivita bola preukázaná v závislosti od dávky, avšak všeobecne platí, že práve semená *Raphanus sativus* L. sú citlivejšie ako *Lepidium sativum* L. a ich klíčenie je pravdepodobne viac inhibované alkoholmi. Pri najvyššej testovanej koncentrácii boli účinnejšie látky geraniol, borneol, (±) -p-citronello a α-terpineol. Geraniol a karvón značne inhibovali klíčenie *Lepidium sativum* L. pri najvyššej testovanej koncentrácii.

V ďalšom výskume KEEGE a PIERIK (2010) popísali vlastnosti α-pinénu emitovaného z dubu (*Quercus ilex* L.) a šalvie (*Salvia leucophylla* L.). Následne zistili, že α-pinén inhiboval klíčenie semien a rast koreňov u mnohých druhov rastlín.

ZÁVER

Súhrnne môžeme konštatovať, že monoterpény s najvyšším percentuálnym zastúpením v silici inváznej rastliny *Solidago canadensis* L., ktorými sú komponenty limonén, α-pinén a β-elemén majú alelopatický účinok a mohli by byť v praxi využívané ako biologické / ekologické herbicidy. V nami skúmanom rastlinnom materiáli totiž tieto komponenty dosiahli porovnateľné hodnoty ako v iných

spomínaných výskumoch, v ktorých autori na konkrétnych prípadoch demonštrovali ich herbicídny účinok tým, že spozorovali inhibičný účinok pri klíčivosti testovaných semien a raste ich korenkov.

POĎAKOVANIE

Výskumné aktivity boli realizované na základe podpory projektov: KEGA 018PU-4/2018, VEGA 1/0783/18, VEGA 2/0018/20 a VEGA 1/0087/20.

LITERATÚRA

- ABRAHIM, D. – BRAGUINI, W.L. – KELMER-BRACHT, A. M. – ISHII-IWAMOTO E.L., 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *J. Chem. Ecol.* 26: 611-624.
- ADAMS, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, (4th Ed.). Carol Stream, Illinois, USA. č. 66. s. 2329-2339.
- AMTMANN, M., 2010. The chemical relationship between the scent features of goldenrod (*Solidago canadensis* L.) flower and its unifloral honey. *J. Food Compos. Anal.*, 23: 122-129.
- ARECO, V.A. – FIGUERO, S. – COSA, M.T. – DAMBOLENA, J.S. – ZYGADLO, J.A. – ZUNINO, M.P., 2014. Effects of pinene isomers on germination and growth of maize. *Biochem. Syst. Ecol.*, 55: 27-33.
- BANCHIO, E. – ZYGALDO, J. – VALLADARES, G.R., 2005. Quantitative variations in the essential oil of *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. in response to insects with different feeding habits. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 6903-6906.
- BARNEY, J.N. – HAY, A.G. – WESTON, L.A., 2005. Isolation and characterization of allelopathic volatiles from mugwort (*Artemisia vulgaris*). *J. Chem. Ecol.*, 31(2): 247-265.
- BENČAĽ, F., 1982. Atlas rozšírenia cudzokrajných drevín na Slovensku a rajonizácia ich pestovania. Veda, Bratislava ISBN 71-059-82.
- CVACHOVÁ, A. – GOJDIČOVÁ, E., 2003. Usmernenie na odstraňovanie invázných druhov rastlín. 1. Vyd. Banská Bystrica: ŠOP SR. 68s. ISBN 80 – 89035 – 25 – 6.
- DE MARTINO, L. – MANCINI, E. – DE ALMEIDA, L.F. – DE FEO, V., 2010. The Antigerminative Activity of Twenty-Seven Monoterpenes. *Molecules*. č. 15(9): 6630-6637.
- DUDAI, N. – LARKOV, O. – PUTIEVSKY, E. – LERNER, H.R. – RAVID, U. – LEWINSOHN, E. – MAYER, A.M., 2000. Biotransformation of constituents of essential oils by germinating wheat seed. *Phytochemistry*. č. 55(5): 375-382.
- DZIRI, S. – HOSNI, K., 2012. Effects of cement dust on volatile oil constituents and antioxidative metabolism of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) needles. *Acta Physiol. Plant.* 34, 1669-1678.
- GRULOVA, D. – DE MARTINO, L. – MANCINI, E. – SALAMON, I. – DE FEO, V., 2015. Seasonal variability of the main components in essential oil of *Mentha x piperita* L. *J. Sci. Food Agric.* 95(3):621-627.
- GRULOVÁ, D. – BARANOVÁ, B. – IVANOVA, V. – DE MARTINO, L. – MANCINI, E. – DE FEO, V. 2016. Composition and bio activity of essential oils of *Solidago* spp. And their impact on radish and garden cress. *Allelopathy J.*, 39(2): 129-142.
- HARRATHI, J. – HOSNI, K. – KARRAY-BOURAOUI, N. – ATTIA, H. – MARZOUK, B. – MAGNE, C., – LACHAAL, M., 2012. Effect of salt stress on growth, fatty acids and essential oils in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Acta Physiol. Plant.*, 34, 129-137.
- HOSNI, K. – HASEN, I. – M'RABET, Y. – SEBEI, H. – CASABIANCA, H., 2013. Genetic relationships between some Tunisian Citrus species based on their leaf volatile oil constituents. *Biochem. Syst. Ecol.*, 50, 65-71.
- HOSNI, K. – ZAHED, N. – CHRIF, R. – ABID, I. – MEDFEI, W. – KALLEL, M. – BEN BRAHIM, N. – SEBEI, H., 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: evidence for the genotypic influence. *Food Chem.*, 123, 1098-1104.
- CHANOTYIA, S. – YADAV, A., 2008. Natural variability in enantiomeric composition of bioactive chiral terpenoids in essential oil of *Solidago canadensis* L. from Uttarakhand, India. *Nat. Prod. Com.*, 3 (2): 263-266.

- CHOWHAN, N. – SINGH, H.P. – BATISH, D.R. – KAUR, S. – AHUJA, N. – KOHLI, R.K., 2013. β -pinene inhibited germination and early growth involves membrane peroxidation. *Protoplasma*, 250(3): 691-700.
- IBRAHIM, M.A. – OKSANEN, E.J. – HOLOPAINEN, J.K., 2004. Effects of limonene on the growth and physiology of cabbage (*Brassica oleracea* L.) and carrot (*Daucus carota* L.) plants. *J. Sci. Food Agric.*, 84(11): 1319-1326.
- KALEMBA, D. – THIEM, B., 2002. Constituents of the essential oil of four micropropagated *Solidago* species. *Flavour Fragr. J.*, 19(1): 40-43.
- HOSNI K. – HASSEN, I. – M'RABET, Y. – CASABIANCA, H., 2019. Biochemical response of *Cupressus sempervirens* to cement dust: Yields and chemical composition of its essential oil. *Arab. J. Chem.*, 12: 1308–1314.
- KEGGE, W. – PIERIK, R. 2010. Biogenic volatile organic compounds and plant competition. *Trends Plant Sci.*, 15: 126 - 132.
- KUPCINSKIENE, E. – STIKLIENE, A. – JUDZENTIENE, A., 2008. The essential oil qualitative and quantitative composition in the needles of *Pinus sylvestris* L. growing along industrial transects. *Environ. Pollut.*, 155, 481–491.
- MISHRA, D. – JOSHI, S. – BISHT, G. – PILKHWAL, S., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of *Solidago canadensis* Linn. Root essential oil. *J. Basic. Clin. Pharm.*, 1 (3):187-190.
- NAGY, M. – MUČAJI, P. – GRANČAI, D., 2017. Farmakognózia. Biologicky aktívne rastlinné metabolity a ich zdroje. 2. slovenské vydanie. HERBA. ISBN: 978-80-89631-64-3.
- NEIS (*Národný emisný informačný systém*), údaje publikované v roku 2019 [<http://www.air.sk/emissions.php>]
- RICHARDSON, D. – PYŠEK P., 2006. Plant invasion: Merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Prog Physi Geog.*, 30: 409 - 431.
- SINGH, H.P. – BATISH, D.R. – KAUR, S. – RAMEZANI, H. – KOHLI, R.K., 2002. Comparative phytotoxicity of four monoterpenes against *Cassia occidentalis*. *Ann. Appl. Biol.*, 141: 111-116.
- SINGH, H.P. – BATISH, D.R. – KAUR, S. – ARORA, K. – KOHLI, R.K., 2006. α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Ann. Bot.*, 98: 1261-1269.
- STEBBING, A.R.D., 1982. Hormesis – The stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Sci. Tot. Envir.*, 22: 213-23.