

**ALELOPATSKI UČINAK PAJASENA (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle)  
NA POČETNI PORAST KOROVNE VRSTE KOŠTAN (*Echinochloa crus-galli*  
(L.) P. Beauv.)**

Maja NOVAK, Nenad NOVAK  
Centar za zaštitu bilja, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu,  
Gorice 68 b, 10 000 Zagreb  
maja.novak@hapih.hr  
Prihvaćeno: 16-12-2019

**SAŽETAK**

Istraživan je alelopatski učinak kompleksa alelokemikalija iz vodene otopine korijena pajasena (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) i iste količine izoliranog ailantona, kao najznačajnije alelokemikalije, na početni porast koštana (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.). Vodena otopina korijena pajasena pripremljena je od korijena mladih biljaka. Identifikacija i kvantifikacija ailantona iz vodene otopine korijena pajasena napravljena je na tekućinskom kromatografu. Koncentracija ailantona u vodenoj otopini korijena iznosila je 0,48 mg/ml. Nakon kvantifikacije provedena je izolacija ailantona diklormetanom. Vodena otopina korijena pajasena i vodena otopina izoliranog ailantona primijenjeni su na sjeme koštana u šest različitih razrjeđenja koja su ekvivalent određenoj koncentraciji ailantona iz vodene otopine korijena (0,48; 0,32; 0,24; 0,12; 0,06 i 0,03 mg/ml ailantona). Statistički značajan učinak na početni porast koštana dokazan je kod obiju varijanta istraživanja i kod svih istraživanih koncentracija. Kompleks alelokemikalija iz vodene otopine korijena pajasena imao je jače djelovanje u odnosu na vodenu otopinu izoliranog ailantona kod većine istraživanih svojstava. Najniža srednja učinkovita koncentracija (EC<sub>50</sub>) iznosila je 0,0075 mg/ml ailantona, a ustanovljena je na tretmanu s vodenom otopinom korijena pajasena kod učinka na duljinu izdanka klice.

**Ključne riječi:** ailanton, alelopatija, koštan, pajasen, vodeni ekstrakti

**ALLELOPATHIC EFFECT OF TREE OF HEAVEN (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) ON INITIAL GROWTH OF THE BARNYARD GRASS (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.)**

**SUMMARY**

The objective of this study was to determine a difference between the allelopathic effects of the aqueous solution of tree of heaven's (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) root, as a complex of allelochemicals, and the same amount of isolated ailanthone, as its most potent allelochemical, on germination and the initial growth of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.). Freshly collected roots cut from the young plants were used for the preparation of root aqueous solution. Identification and quantification of ailanthone from the root aqueous solution was made on HPLC. The concentration of 0.48 mg/ml of ailanthone was determined. After quantification, isolation of ailanthone with dichloromethane was performed. Root aqueous solution and aqueous solution of isolated ailanthone were applied to the barnyard grass seeds at 6 dilutions which were equivalent to the determinate concentration of ailanthone (0.48; 0.32; 0.24; 0.12; 0.06 and 0.03 mg/ml of ailanthone). A statistically significant effect on initial growth of barnyard grass was determined in all variants of the study. The root aqueous solution with a complex of allelochemicals showed a stronger effect compared to the aqueous solution of isolated ailanthone at most investigated parameters. The strongest effect was determined on the barnyard grass shoot length in the trial with the root aqueous solution. The mean effective concentration ( $EC_{50}$ ) of 0.0075 mg/ml ailanthone was determined for the shoot length in the trial with the root aqueous solution.

**Key words:** ailanthone, allelopathy, aqueous solution, barnyard grass, tree of heaven

**UVOD**

Pajasen (*Ailanthus altissima*) jedna je od najinvazivnijih drvenastih biljnih vrsta na svijetu. Zabilježen je na svim kontinentima osim na Antarktici (Weber, 2005). U Republici Hrvatskoj pajasen je invazivna strana vrsta koja potiskuje autohtone biljne vrste te pokazuje tendenciju intenzivnog širenja i potiskivanja autohtone flore (Novak i Kravaršćan, 2014). Vrsta je zabilježena u svim županijama Republike Hrvatske, a najveću agresivnost iskazuje u obalnom dijelu te na otocima. Posebnu opasnost predstavlja u zaštićenim područjima (Novak i Novak, 2017).

Pajasen pripada porodici Simaroubaceae kojoj je svojstven visok sadržaj kvazinoida, sekundarnih metabolita koji su odgovorni za širok spektar bioloških aktivnosti, kao što su antitumori, antimalarici, antivirusi, insekticidi, herbicidi,

antiparaziti i dr. (Alvesa i sur., 2014). Budući da invazivne biljne vrste, a među njima i pajasen, izravnim ili neizravnim djelovanjem na kemijska svojstva tla imaju višestruki učinak na biljne zajednice i odnose u ekosustavu, logičan su izbor u potrazi za vrstama visokog alelopatskog potencijala.

Alelokemikalije, ovisno o biljnoj vrsti, mogu biti izlučene iz listova, cvjetova, sjemena, stabljike i korijena živog biljnog materijala ili materijala u raspadanju te mogu djelovati inhibitorno na razvoj klijanaca korova (Weston, 1996). Izlučevine korijena invazivnih biljnih vrsta mogu mijenjati kemijske odnose u tlu, odnosno utjecati na nutritivna svojstva tla i na taj način ostvariti nadmoć nad ostalim vrstama nekog staništa (Weidenhamer i Callway, 2010). Brojni primjeri alelopatskih interakcija između različitih biljnih vrsta (kultiviranih i korovnih) sugeriraju da je alelopatija izravno ili neizravno uključena u interakcije između biljaka tijekom poljoprivredne proizvodnje (Miller, 1996; Weston, 1996; Moradi i sur., 2013).

Alelopatski učinak pajasena prvi je zapazio Mergen (1959) testirajući vodene ekstrakte listova pajasena na 46 drvenastih vrsta (35 golosjemenjača i 11 kritosjemenjača). Heisey (1990a), koristeći se usmjerenim biološkim testom frakcioniranja, izolirao je fitotoksični sastojak pajasena te ga identificirao kao ailanton. Ustanovio je da su diklormetan i etil-acetat najučinkovitija otapala za ekstrakciju ailantona iz kore korijena. Kasnije to potvrđuju i Pedersini i sur. (2011). Ailanton je alelokemikalija koja pripada skupini kvazinoida, koncentriran je u korijenu i kori pajasena, polaran je te se lako premješta. Saxena (2002) zaključuje da bi upravo taj spoj u budućnosti mogao zamijeniti u svijetu najpoznatiji herbicid glifosat. Heisey (1990b) je dokazao herbicidnu aktivnost ailantona na korovne vrste oštrodlakavi šćir (*Amaranthus retroflexus* L.), europski mračnjak (*Abutilon theophrasti* Medik.), zeleni muhar (*Setaria glauca* L.) i koštan (*Echinochloa crus-galli* L.) primjenom na sjeme (*pre-emergence*) i list (*post-emergence*). Vodena otopina korijena pajasena ima snažan herbicidni učinak i prije i nakon nicanja biljaka (Heisey, 1996). Iz vodenih ekstrakata korijena pajasena izolirano je više aktivnih sastojaka od kojih De Feo i sur. (2003) izdvajaju ailanton kao najaktivniji spoj i navode mogućnost njegove uporabe kao alternativnog herbicida. Alelokemikalije pajasena djeluju inhibirajuće na drvenaste biljne vrste crni javor (*Acer rubrum* L.), šećerni javor (*Acer saccharum* L.) i crveni hrast (*Quercus rubra* L.) (Gómez-Aparicio i Canham, 2008). Isti autori navode da je alelopatsko djelovanje proporcionalno gustoći biljaka pajasena te da razvojni stadij pajasena ne utječe na stupanj djelovanja. Pedersini i sur. (2011) ustanovljuju herbicidnu aktivnost ekstrakata kore pajasena na klijanje i nicanje korovnih vrsta oštrodlakavog šćira, bijele lobode (*Chenopodium album* L.) i crvene vlasulje (*Festuca rubra* L.) te navode da je jačina alelopatskog učinka ovisna o koncentraciji ailantona. Povezanost koncentracija vodene otopine listova pajasena i dinamike klijanja sjemena test-biljnih vrsta dokazuju i Sladonja i sur. (2014).

Ciljevi rada bili su odrediti razlike između alelopatskog učinka različitih koncentracija ailantona iz vodene otopine korijena pajasena (kompleks alelokemikalija) i vodene otopine izoliranog ailantona te odrediti minimalno učinkovitu koncentraciju ( $EC_{50}$ ) za svako istraživano svojstvo na korovnoj vrsti koštanu.

## MATERIJALI I METODE RADA

U istraživanje su bile uključene dvije biljne vrste, pjasen kao donor vrsta i koštan kao test-biljna vrsta (akceptor). Biljni materijal pajasena prikupljen je prije cvatnje, potkraj proljeća (13. lipnja 2015.). Korijeni mladih izboja pajasena prikupljeni su na nepoljoprivrednoj površini (između napuštenih zgrada u Zagrebu, N 45.804529, E 16.009786) kako bi se izbjegli mogući ostatci herbicida i utjecaj na rezultate istraživanja. Za pripremu reprezentativnog uzorka prikupljeno je 10 jedinka s iste lokacije. Sjeme koštana također je prikupljeno na nepoljoprivrednoj površini na području grada Zagreba (N 45.789477, E 15.991778) 2. listopada 2015. Prikupljanje biljnog materijala, priprema i primjena vodenih otopina napravljeni su prema prilagođenoj metodi Kazinczi et al. (2004a); Takács et al. (2004); Kazinczi et al. (2013).

Svježa masa korijena pajasena usitnjena je na duljinu 0,5 - 1 cm i potopljena u vodu u omjeru 1 : 4 (250 g korijena u litri vode). Suspenzija je macerirana u staklenoj boci 24 sata na sobnoj temperaturi, nakon čega je filtrirana na filterpapiru (wrinkled 21/N, Munktel & Filtrak).

Filtrirana otopina podijeljena je u dva dijela. U prvom dijelu vodene otopine korijena pajasena određivan je sadržaj ailantona. Iz drugog dijela vodene otopine korijena pajasena ekstrakcijom je izoliran čisti ailanton.

Izolacija ailantona obavljena je diklormetanom (DCM) u lijevku za odjeljivanje po metodi Pedersini i sur. (2011). Ekstrahiranje je ponavljano četiri puta, a nakon odvajanja organske od vodene faze uzorak je dodatno pročišćen natrijevim sulfatom u formi anhidrida. Nakon toga u rotaaparivaču je uparen na 50 °C do suhog ostatka (GENEVAC EZ-2-PLUS HCl COMPATIBLE, Fisher Scientific, SAD). Suhi ostatak otopljen je u 1 ml acetonitrila te analiziran primjenom visokorazdjelne tekućinske kromatografije detektora u vidljivom i ultraljubičastom dijelu zračenja (HPLC - DAD, Agilent, SAD). Potvrda identiteta i kvantifikacija ailantona iz uzorka određena je linearnom regresijom na temelju kalibracijske krivulje otopine standarda ailantona (čistoća > 98 %). Uzorak je određen metodom standardnog dodatka ailantona. Tip kolone bio je ZORBAX ECLIPSE C18 ili PHENOMENEX C18, izokratna mobilna faza (50 % metanol, 50 % voda) uz protok 0,8 ml/min, volumen injektiranja od 10 µl, na valnoj duljini 240 nm i temperaturi 25 °C.

Prije primjene vodene otopine korijena pajasena (iz prvog dijela suspenzije) i izoliranog ailantona (iz drugog dijela suspenzije) priređeno je šest razrjeđenja (1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 2/3 doze i puna doza) koja su ekvivalent određenoj

koncentraciji ailantona od 0,03; 0,06; 0,12; 0,24; 0,32 i 0,48 mg/ml kod obiju istraživanih vodenih otopina.

Istraživanje alelopatskog učinka na klijavost i početni porast koštana (duljina izdanka klice i duljina korijena klice) provedeno je u Petrijevim zdjelicama. U svaku steriliziranu Petrijevu zdjelicu, na dva sloja filter-papira, aplicirano je po 4 ml istraživanih vodenih otopina te je stavljeno 25 sjemenka koštana u četiri ponavljanja. Kontrola je vlažena jednakom količinom destilirane vode. Zbog sprječavanja gubitka vlage, Petrijeve zdjelice zatvorene su u plastične vrećice i smještene u klima komoru u tamu na temperaturu  $25 \pm 2$  °C i relativnu vlagu zraka 70 %.

Istraživanje je provedeno u Laboratoriju za herbologiju u Hrvatskoj agenciji za poljoprivredu i hranu - Centru za zaštitu bilja.

## REZULTATI I RASPRAVA

### **Alelopatski učinak vodenih otopina korijena pajasena na klijanje i početni porast koštana**

Provedenim istraživanjem u vodenoj otopini korijena pajasena ustanovljeno je 0,48 mg/ml ailantona. Za alelopatski učinak pajasena najviše je odgovoran ailanton kojeg autori smatraju najznačajnijim herbicidnim spojem u vodenim ekstraktima pajasena (Heisey, 1990a, 1996; Saxena, 2002). Aktivnost alelokemikalija pajasena viša je u korijenu nego u listovima pajasena (Heisey, 1990a, 1996). Brojni autori navode korijen kao dio biljke s najvišom koncentracijom alelokemikalija (Bendall, 1975; Steenhagen i Zimdal, 1979 i Kazinczi i sur., 2004b). Novak (2017) je također ustanovio da se najveće koncentracije ailantona nalaze u vodenoj otopini korijena pajasena (0,35 mg/ml). Također je ustanovio da se u čitavoj biljci nalazi 0,19 mg/ml, u stabljici 0,15 mg/ml i u listu pajasena 0,12 mg/ml. Novak (2017) je ustanovio manju koncentraciju ailantona u vodenoj otopini korijena pajasena u odnosu na koncentraciju ustanovljenu ovim istraživanjem. Razliku je moguće pripisati različitom dobu godine u kojem su biljke prikupljene. Naime isti je autor biljni materijal prikupio u jesen, a za potrebe ovoga istraživanja biljke su prikupljene u proljeće. Budući da je uzorak biljnog materijala pajasena u istraživanju Novaka (2017) prikupljen na istoj lokaciji kao i u ovom istraživanju te da su ekstrakti pripremljeni prema istoj prilagođenoj metodi Takács i sur. (2004) i Kazinczi i sur. (2004), može se isključiti razlika u varijabilnosti između populacija istraživanih vrsta. Razliku u koncentracijama ailantona u istraživanjima mogu uzrokovati i različite vremenske prilike u godinama prikupljanja biljnog materijala. Heisey (1990b) je dokazao da je koncentracija ailantona najveća u korijenu u proljeće, što potvrđuje dobivene rezultate o koncentraciji ailantona ovog istraživanja. Suprotno spomenutim autorima, Rice (1984), Reinhardt i sur. (2004), Xuan i sur. (2004), Vrchatová i Šerá (2008),

Sisodia i Siddiqui (2010) i Tanveer i sur. (2010) navode list kao najvažniji izvor alelokemikalija kod većine biljnih donor-vrsta.

Rezultati alelopatskog učinka istraživanih koncentracija vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena pajasena na klijanje i početni porast koštana prikazani su prema ustanovljenim svojstvima na temelju statističke analize u tablicama 1 i 2.

**Tablica 1.** Učinak vodene otopine izoliranog ailantona na početni porast koštana (*Echinochloa crus-galli*)

**Table 1.** The effect of the isolated ailanthone aqueous solution on initial growth of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*)

Konzentracija ailantona (mg/ml) The concentration of ailanthone (mg/ml)	Vodena otopina izoliranog ailantona The isolated ailanthone aqueous solution					
	Klijavost (%) Germination (%)	Odstupanje od klijavosti (%) Deviation of germination (%)	Duljina korijena klice (mm) Radicle length (mm)	Odstupanje od duljine korijena klice (%) Deviation of radicle length (%)	Duljina izdanka klice (mm) Shoot length (mm)	Odstupanje od duljine izdanka klice (%) Deviation of shoot length (%)
0.48	0a	-100	0a	-100	0a	-100
0.32	0a	-100	0a	-100	0a	-100
0.24	3a	-94	0a	-100	0.12ab	-99.12
0.12	7a	-86	0a	-100	0.26ab	-88.49
0.06	22b	-56	0a	-100	1.64ab	-88.49
0.03	29b	-42	0a	-100	3.09ab	-78.36
Kontrola Control	50c		12,08b		14.3c	

The values in column that differ significantly between each other at the  $P < 0.05$  level are indicated in different letters (Tukey's test). Vrijednosti u kolonama koje se međusobno značajno razlikuju na razini  $P < 0.05$  označene su različitim slovima (Tukey's test)

**Tablica 2.** Učinak vodene otopine korijena na početni porast koštana (*Echinochloa crus-galli*)**Table 2.** The effect of the root aqueous solution on initial growth of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*)

Konzentracija ailantona (mg/ml) The concentration of ailanthone (mg/ml)	Vodena otopina korijena pajasena The root aqueous solution					
	Klijavost (%) Germination (%)	Odstupanje od klijavosti (%) Deviation of germination (%)	Duljina korijena klice (mm) Radicle length (mm)	Odstupanje od duljine korijena klice (%) Deviation of radicle length (%)	Duljina izdanka klice (mm) Shoot length (mm)	Odstupanje od duljine izdanka klice (%) Deviation of shoot length (%)
0.48	0a	-100	0a	-100	0a	-100
0.32	1a	-98	0a	-100	0.07a	-99.47
0.24	3ab	-94	0a	-100	0.10a	-99.26
0.12	7ab	-86	0a	-100	0.19a	-98.63
0.06	15bc	-70	0a	-100	0.52a	-96.32
0.03	28c	-44	0a	-100	1.60a	-88.77
Kontrola Control	50d		12,08b		14.3b	

The values in column that differ significantly between each other at the  $P < 0.05$  level are indicated in different letters (Tukey's test). Vrijednosti u kolonama koje se međusobno značajno razlikuju na razini  $P < 0.05$  označene su različitim slovima (Tukey's test)

Na pokusu s obje vodene otopine (vodena otopina izoliranog ailantona i vodena otopina korijena), kod svih istraživanih koncentracija ailantona, dokazan je inhibitorni učinak za sva istraživana svojstva koštana (klijavost, duljina korijena i duljina izdanka klice). Dobiveni rezultati o inhibitornom učinku u skladu su s brojnim literaturnim navodima u kojima je također ustanovljen isključivo negativan alelopatski učinak vodenih ekstrakata pajasena i drugih invazivnih biljnih vrsta na početni porast test-biljnih vrsta (Heisey, 1990a; Heisey, 1996; Heisey, 1997; Lawrence i sur., 1991; Heisey i Heisey, 2003; Csiszár, 2009; Csiszár i sur., 2013; Pisula i Meiners, 2010; Sladonja i sur., 2014).

Sve istraživane koncentracije ailantona iz vodene otopine izoliranog ailantona statistički su značajno smanjile klijavost koštana. Smanjenje klijavosti bilo je 42 % kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml) do 100 % kod najveće istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml) (tablica 1). Statistički značajna razlika u redukciji klijavosti nije ustanovljena između koncentracija 0,48; 0,32; 0,24 i 0,12 mg/ml ailantona kao ni između 0,06 i 0,03 mg/ml ailantona. Na pokusu s vodenom otopinom korijena pajasena također je dokazano statistički značajno smanjenje klijavosti kod svih istraživanih koncentracija. Smanjenje klijavosti bilo je od 44 % kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml ailantona) do 100 % kod najveće primijenjene koncentracije ailantona (0,48 mg/ml), (tablica 2). Jedino se učinak kod najniže istraživane koncentracije od 0,03 mg/ml ailantona statistički značajno razlikovao od učinka na redukciju klijavosti koji su imale ostale istraživane koncentracije. Pokusima s obje istraživane vodene otopine najslabiji inhibitorni učinak dokazan je kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml), a najjači kod najveće istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml). Rezultati o inhibitornom učinku vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena pajasena na klijavost koštana u skladu su s rezultatima Heiseya (1996) koji dokazuje jako inhibitorno djelovanje vodenih ekstrakata korijena pajasena na klijavost i početni porast test-biljne vrste iz roda *Setaria* koja je iz porodice trava kao i koštan. Saxena (2002) i Hesity i Heisey (2003) također dokazuju da izolirani ailanton primijenjen na sjeme ima herbicidno djelovanje na vrste iz roda muhara. Suprotno dobivenim rezultatima o inhibitornom učinku na klijanje koštana jesu rezultati Novaka i sur. (2018). Navedeni autori ne ustanovljuju statistički značajan učinak na klijanje test-biljnih vrsta, već ustanovljuju da je intenzitet učinka na razini netretirane (kontrolne) varijante. Autori utvrđuju da je učinak na klijavost test-biljnih vrsta puno manje izražen u odnosu na druga istraživana svojstva što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja.

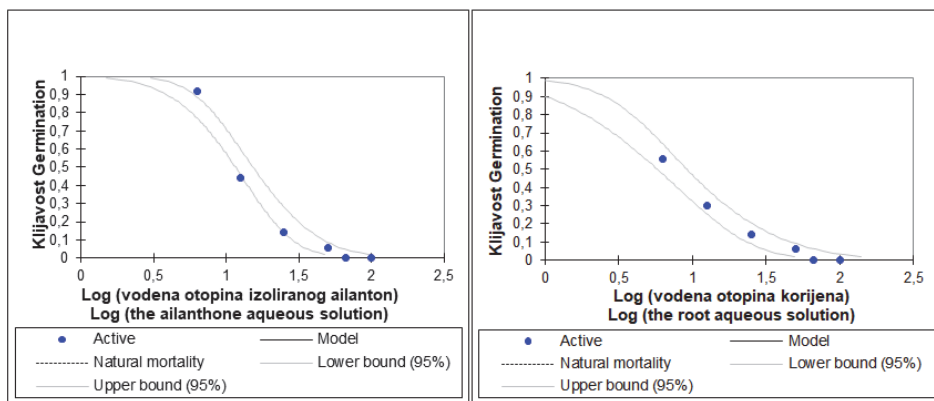
Kod svih istraživanih koncentracija ailantona u objema vodenim otopinama (kompleksa alelokemikalija i izoliranog ailantona) dokazana je 100-postotna redukcija duljine korijena klice koštana. Za razliku od potpune redukcije korijena klice, redukcija izdanka klice kod vodene otopine izoliranog ailantona bila je od 78,36 % kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml) do 100 % kod najveće istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml), (tablica 1). Nije dokazana statistički značajna razlika u učinku između istraživanih koncentracija ailantona. Sve istraživane koncentracije ailantona statistički su značajno reducirale duljinu izdanka klice. Pokusom s vodenom otopinom korijena pajasena također je ustanovljena statistički značajna redukcija izdanka klice kod svih istraživanih koncentracija. Smanjenje duljine izdanka klice bilo je od 88,77 % kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml) do 100 % kod najveće istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml), (tablica 2). U provedenom istraživanju također nije



ustanovljena statistički značajna razlika u učinku između istraživanih koncentracija ailantona. Pokusima s obje istraživane vodene otopine najslabiji inhibitorski učinak ustanovljen je kod najmanje istraživane koncentracije ailantona (0,03 mg/ml), a najjači kod najveće istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml). Catalan i sur. (2013) navode da vodeni ekstrakti pajasena imaju važan inhibitorski učinak na brzinu klijanja i rast korijena klice kod istraživanih test-biljnih vrsta, dok učinak na klijavost nije toliko izražen. Navedeno je u skladu s rezultatima ovog istraživanja o učinku na duljinu korijena klice i duljinu izdanka klice. Pedersini i sur. (2011) ustanovili su znatnu herbicidnu aktivnost na korijenu klice i izdanku klice oštrodlakavog ščira i bijele lobode primjenom na sjeme za većinu istraživanih ekstrakata, što je u skladu s dobivenim rezultatima. Ovisnost alelopatskog učinka o koncentraciji ailantona također je u skladu s brojnim literaturnim navodima (Heisey, 1990b; Heisey, 1996; Heisey i Heisey, 2003; Pedersini i sur., 2011; Sladonja, 2014).

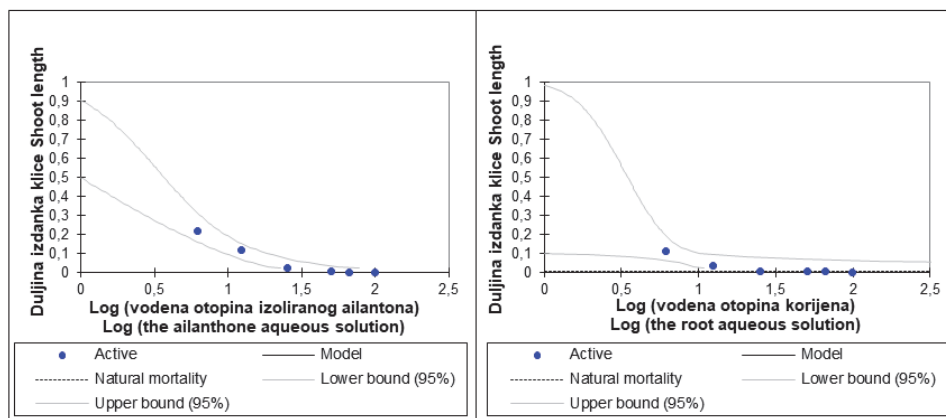
### Koncentracije istraživanih tretmana na razini 50-postotne redukcije (EC<sub>50</sub>) istraživanih parametara

Za istraživana svojstva (klijavost i duljina izdanka klice) u kojima je ustanovljeno djelovanje istraživanih koncentracija vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena pajasena napravljena je krivulja učinka istraživanih koncentracija (grafikoni 1 – 4). Također su ustanovljene koncentracije istraživanih vodenih otopina kojima je postignut alelopatski učinak od 50 % (EC<sub>50</sub>). U tablici 3. prikazane su određene EC<sub>50</sub> vrijednosti izražene u obliku koncentracija ailantona (mg/ml), a ekvivalent su koncentracijama vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena pajasena.



**Grafikon 1. i 2.** Krivulja učinka istraživanih koncentracija vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena na klijavost koštana (*Echinochloa crus-galli*)

**Figure 1 and 2.** The effect curve of investigated concentrations of isolated ailanthone aqueous solution and root aqueous solution on germination of the barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*)



**Grafikon 3. i 4.** Krivulja učinka istraživanih koncentracija vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena na duljinu izdanka klice koštana (*Echinochloa crus-galli*)

**Figure 3 and 4.** The effect curve of investigated concentrations of isolated ailanthone aqueous solution and root aqueous solution on shoot length of the barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*)

**Tablica 3.** Koncentracije ailantona (mg/ml) iz vodenih otopina kojima se postigao alelopatski učinak od 50 % na istraživane parametre ( $EC_{50}$ )

**Table 3.** Concentrations of ailanthone (mg/ml) from aqueous solution which cause allelopathic effect of 50 % on investigated parameters ( $EC_{50}$ )

Vodena otopina Aqueous solution	Vodena otopina izoliranog ailantona The aqueous solution of isolated ailanthone		Vodena otopina korijena The root aqueous solution			
	Klijavost (%) Germination (%)	Duljina korijena klice (mm) Radicle length (mm)	Duljina izdanka klice (mm) Shoot length (mm)	Klijavost (%) Germination (%)	Duljina korijena klice (mm) Radicle length (mm)	Duljina izdanka klice (mm) Shoot length (mm)
$EC_{50}$	0.063	n.a./n.p.	0.011	0.036	n.p./ n.a.	<b>0.0075</b>

n.p.-nije primjenjivo; n.a.-not applicable

Najniža  $EC_{50}$  vrijednost iznosila je 0,0075 mg/ml ailantona, a određena je pokusom s vodenom otopinom korijena pajasena kod učinka na duljinu izdanka klice (tablica 3). Određena  $EC_{50}$  vrijednost jednaka je koncentraciji vodene otopine korijena pajasena od 0,0156 (grafikon 4). Određena  $EC_{50}$  vrijednost 64 puta je niža od najviše istraživane koncentracije ailantona (0,48 mg/ml), odnosno za 1,47 puta niža od koncentracije 0,023 (grafikon 3) kojom se

postigao učinak od 50 % za isto istraživano svojstvo u pokusu s vodenom otopinom izoliranog ailantona, a ekvivalent je koncentraciji ailantona od 0,011 mg/ml (tablica 3).

Učinak na klijavost koštana također je bio jači u tretmanu vodenom otopinom korijena pajasena. Ustanovljena  $EC_{50}$  vrijednost na pokusu s vodenom otopinom korijena pajasena iznosila je 0,036 mg/ml ailantona, a ekvivalent je koncentraciji 0,075 (tablica 3, grafikon 2). Dobivena  $EC_{50}$  vrijednost za 1,75 puta je niža od  $EC_{50}$  vrijednosti ustanovljene u tretmanu vodenom otopinom izoliranog ailantona (tablica 3, grafikon 1). Dobiveni se rezultati o  $EC_{50}$  vrijednostima za koštan i o razlici u djelovanju između istraživanih vodenih otopina (izolirani ailanton i kompleks alelokemikalija) ne mogu usporediti s literaturnim navodima jer pregledom literature nije pronađen ni jedan rad u kojem je istraživana razlika u djelovanju između izoliranog ailantona i kompleksa alelokemikalija iz vodene otopine korijena pajasena, stoga su određivane  $EC_{50}$  vrijednosti.

#### Razlika u alelopatskom učinku između vodene otopine izoliranog ailantona i korijena pajasena (kompleks alelokemikalija)

Istraživanjem su ustanovljene razlike u prosječnom učinku svih istraživanih koncentracija ailantona iz vodene otopine izoliranog ailantona i vodene otopine korijena pajasena za istraživana svojstva (tablica 4).

**Tablica 4.** Usporedni prikaz razlika u učincima između dviju istraživanih vodenih otopina

**Table 4.** A comparison of differences in effects between the two investigated extracts

Istraživana svojstva Investigated parameters	Klijavost (%) Germination (%)	Duljina korijena klice (mm) Radicle length (mm)	Duljina izdanka klice (mm) Shoot length (mm)
Vodena otopina izoliranog ailantona The isolated ailanthone aqueous solution	79.66%*	n.p./n.a.	92.41%*
Vodena otopina korijena pajasena The root aqueous solution	82%*	n.p./n.a.	97.07%*
Razina razlike Level of difference	P=0.03%	P=100.00%	P=0.01%

\*Vrijednosti se međusobno značajno razlikuju na razini  $P < 0.05$  (Wilcoxon signed-rank test), n.p.-nije primjenjivo \*The values differ significantly between each other at the  $P < 0.05$  level (Wilcoxon signed-rank test), n.a.-not applicable.

Međusobnom usporedbom prosječnih vrijednosti učinaka istraživanih koncentracija ailantona iz vodenih otopina dokazano je da kompleks

alelokemikalija, tj. vodena otopina korijena pajasena ima statistički značajno veći alelopatski učinak na klijavost i duljinu izdanka klice koštana od vodene otopine izoliranog ailantona (tablica 4).

Za razliku od klijavosti i duljine izdanka klice, učinak na duljinu korijena klice bio je 100-postotni pri izloženosti objema istraživanim vodenim otopinama (kompleksu alelokemikalija i izoliranom ailantonu), tj. nije dokazana statistički značajna razlika u učinku između istraživanih vodenih otopina (tablica 4).

Dokazano je da kompleks alelokemikalija iz vodene otopine korijena pajasena ima jače djelovanje za većinu istraživanih svojstava od vodene otopine izoliranog ailantona. Dobiveni se rezultati o razlici u djelovanju između vodenih otopina (izolirani ailanton i kompleks alelokemikalija) ne mogu usporediti s literaturnim navodima jer pregledom literature nije pronađen ni jedan rad u kojem je istraživana razlika u djelovanju između izoliranog ailantona i kompleksa alelokemikalija. Međutim može se zaključiti da ailanton nije jedina alelokemikalija u biljnom materijalu pajasena što je potvrđeno i literaturnim navodima (Casinovi i Grandolini 1963; Polonsky i Fourrey, 1964; Casinovi i sur., 1965; Polonsky, 1973; Ishibashi i sur., 1981; Casinovi i sur., 1983; Polonsky, 1985. cit. Heisey, 1996), ali je svakako najvažnija i biološki najaktivnija (Heisey, 1990a; Heisey i Heisey, 2003; Pedersini i sur., 2011; Bostan i sur., 2014). Dobiveni rezultati koji potvrđuju jači alelopatski učinak vodene otopine kompleksa alelokemikalija također idu u prilog navodima Heiseya i Heisey (2003) koji tvrde da u kombinaciji s drugim alelokemikalijama ailanton djeluje sinergistički i postiže bolje djelovanje na test-biljne vrste.

## ZAKLJUČCI

Provedenim istraživanjem određena je koncentracija ailantona od 0,48 mg/ml ailantona u vodenoj otopini korijena pajasena. Vodena otopina izoliranog ailantona i vodena otopina korijena pajasena primjenom na sjeme koštana iskazuju herbicidni učinak na klijavost, duljinu korijena klice i duljinu izdanka klice. Učinak na klijanje koštana slabiji je od učinka na duljinu izdanka i korijena klice. Vodena otopina korijena pajasena, odnosno kompleks alelokemikalija ima jači učinak na klijanje i duljinu izdanka klice od vodene otopine izoliranog ailantona. Obje istraživane vodene otopine imale su 100-postotni inhibitorski učinak na duljinu korijena klice. Najniža  $EC_{50}$  vrijednost određena je za duljinu izdanka klice koštana pri izloženosti vodenoj otopini korijena pajasena i iznosila je 0,0075 mg/ml ailantona.

## LITERATURA

ALVES, I. A. B. S., MIRANDAB, H. M., SOARES, L.A.L., RANDAUA, K. P. (2014). Simaroubaceae family: botany, chemical composition and biological activities. Brazilian

Journal of Pharmacognosy, Vol. 24, 481-501. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.021>

BENDALL, G. M. (1975). The allelopathic activity of Californian thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop) in Tasmania. Weed Research, Vol. 15, 77-81.

BOSTAN, C., BORLEA, F., MIHOC, C., SELESAN, M. (2014). *Ailanthus Altissima* species - Invasion on biodiversity caused by potential allelopathy. Research Journal of Agricultural Science, Vol. 46 (1), 95-103.

CATALÁN, P., VÁZQUEZ-DE-ALDANA, B. R., HERAS, P., FERNÁNDEZ-SERAL, A., PÉREZ-

CSISZÁR, Á. (2009). Allelopathic effects of invasive woody plant species in Hungary. Acta Silvatica et Lignaria Hungarica, Vol. 5, 9-17. Available at: [http://nyme.hu/fileadmin/dokumentumok/fmk/acta\\_silvatica/cikkek/Vol05-2009/01\\_csiszar\\_p.pdf](http://nyme.hu/fileadmin/dokumentumok/fmk/acta_silvatica/cikkek/Vol05-2009/01_csiszar_p.pdf)

CSISZÁR, Á., KORDA, M., SCHMIDT, D., ŠPORČIĆ, D., TELEKI, B., TIBORCZ, V., ZAGYVAI, G., BARTHA, D. (2013). Allelopathic potential of some invasive plant species occurring in Hungary. Allelopathy Journal, Vol. 31 (2), 309-318.

DE FEO, V., DE MARTINO, L., QUARANTA, E., PIZZA, C. (2003). Isolation of phytotoxic compounds from tree-of-Heaven (*Ailanthus altissima* Swingle). Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51 (5), 1177-1180. DOI: 10.1021/jf020686+

GÓMEZ-APARICIO, L., CANHAM, C. D. (2008). Neighbourhood analyses of the allelopathic effects of the invasive tree *Ailanthus altissima* in temperate forests. Journal of Ecology, Vol. 96 (3), 447-458. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01352.x>

HEISEY, R. M. (1990a). Evidence for allelopathy by tree-of-heaven (*Ailanthus altissima*). Journal of Chemical Ecology, Vol. 16 (6), 2039-2055. Dostupno na: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01020515#citeas>

HEISEY, R. M. (1990b). Allelopathic and herbicidal effect of extracts from tree of heaven (*Ailanthus altissima*). American Journal of Botany, Vol. 77 (5), 662-670. DOI: 10.2307/2444812

HEISEY, R. M. (1996). Identification of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) and characterization of its herbicidal activity. American Journal of Botany, Vol. 83 (2), 192-200. DOI: 10.2307/2445938

HEISEY, R. M. (1997). Allelopathy and the Secret Life of *Ailanthus altissima*. The Magazine of the Arnold Arboretum, Vol. 57 (3), 28-36. Dostupno na: <http://arnoldia.arboretum.harvard.edu/pdf/issues/1997-57-3-Arnoldia.pdf>

HEISEY, R. M., HEISEY, T. K. (2003). Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract, which contains ailanthone. Plant and Soil, Vol. 256 (1), 85-99. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:10262096>

KAZINCZI, G., BÉRES, I., MIKULÁS, J., NÁDASY, E. (2004a). Allelopathic effect of *Cirsium arvense* and *Asclepias syriaca*. Journal of Plant Diseases and Protection, Vol. 19 (1), 301-308.

KAZINCZI, G., BERES, I., HORVATH, A. P. (2004b). Sunflower (*Helianthus annuus*) as recipient species in allelopathic research. Herbologia, Vol. 5 (2), 1-9.

KAZINCZI, G., PÁL-FÁM, F., NÁDASY, E., TAKÁCS, A., HORVÁTH, J. (2013). Allelopathy of some important weeds in Hungary. ed. Trdan, S., Maček, J., Zbornik predavanj in referatov 11. Slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo.

Bled, Slovenia, 5-6 March 2013, Plant Protection Society of Slovenia, 5-6. 3. 2013., pp. 410-415. Dostupno na: <http://dvrs.bf.uni-lj.si/spvr/2013/71Kazinczi.pdf>

LAWRENCE, J. G., COLWELL, A., SEXTON O. J. (1991). The ecological impact of allelopathy in *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae). American Journal of Botany, Vol. 78 (7), 948-958. Dostupno na: [http://waingerlab.cbl.umces.edu/FreeMindMaps/FreeMind\\_Papers/Trees/Lawrence\\_et\\_al\\_1991.pdf](http://waingerlab.cbl.umces.edu/FreeMindMaps/FreeMind_Papers/Trees/Lawrence_et_al_1991.pdf)

MERGEN, F. (1959). A toxic principle in the leaves of *Ailanthus*. Botanical Gazette, Vol. 121, 32-3.

MORADI, H., SHEIKHPOUR, S., FAHRAMAND, M., KESHTEHGAR, A., RIGI, K. (2013). Effect of allelopathy on crop weeds control. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, Vol. 6 (21), 1426-1428.

NOVAK, N. (2017). Alelopatski potencijal segetalnih i ruderalnih invazivnih alohtonih biljnih vrsta. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet

NOVAK, N., KRAVARŠČAN, M. (2014). Tree of heaven (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) - invasive alien plant species in Croatia. Glasilo biljne zaštite, Vol. 3, 254-261. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/169188>

NOVAK, M., NOVAK, N. (2017). Distribution of invasive alien species tree of heaven (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) by the Croatian counties. Glasilo biljne zaštite, Vol. 3 (17), 329-337. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/189200>

NOVAK, N., NOVAK, M., BARIĆ, K., ŠĆEPANOVIĆ, M., IVIĆ, D. (2018). Allelopathic potential of segetal and ruderal invasive alien plants. Journal of Central European Agriculture, Vol. 19 (2), 408-422. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.2.2116>

PEDERSINI, C., BERGAMIN, M., AROULMOJI, V., BALDINI, S., PICCHIO, R., GUTIERREZ PESCE, P., BALLARIN, L., MURANO, E. (2011). Herbicide Activity of Extracts from *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae). Natural product communications, Vol. 6 (5), 593-596. Dostupno na: [https://www.researchgate.net/publication/260989398\\_NPC\\_Herbicides\\_Ailantus\\_2011](https://www.researchgate.net/publication/260989398_NPC_Herbicides_Ailantus_2011)

PISULA, N. L., MEINERS, S. J. (2010). Relative allelopathic potential of invasive plant species in a young disturbed woodland. Journal of the Torrey Botanical Society, Vol. 137 (1), 81-87. Dostupno na: [http://thekeep.eiu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1014&context=bio\\_fac](http://thekeep.eiu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1014&context=bio_fac)

REINHARDT, C., KRAUS, S., WALKER, F., FOXCROFT, L., ROBBERTSE, P., HURLE, K. (2004). The allelochemical parthenin is sequestered at high level in capitate-sessile trichomes on leaf surfaces of *Parthenium hysterophorus*. ed. Nordmeyer, H., Proceedings of 22<sup>nd</sup> German Conference on Weed Biology and Weed Control, Stuttgart-Hohenheim, 2-4. 3 2004., pp. 253-261.

RICE, E.L. (1984). Allelopathy, Orlando, Florida: Academic Press Inc.

SAXENA, D. B. (2002). Utilization of allelopathy in weed management. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi-110 012.

SISODIA, S., SIDDIQUI, M. B. (2010). Allelopathic effect by aqueous extracts of different parts of *Croton bonplandianum* Baill. on some crop and weed plants. Journal of Agricultural Extension and Rural Development, Vol. 2 (1), 22-28. Dostupno na: [http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379753642\\_Sisodia%20and%20Siddiqui.pdf](http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379753642_Sisodia%20and%20Siddiqui.pdf)

SLADONJA, B., POHULJA, D., SUŠEK, M., DUDAŠ, S. (2014). Herbicidal effect of *Ailanthus altissima* leaves water extracts on *Medicago sativa* seeds germination. ed. Maček, M., 3<sup>rd</sup> Conference with International Participation Conference VIVUS - on

Agriculture, Environmentalism, Horticulture and Floristics, Food Production and Processing and Nutrition. »Transmission of Innovations, Knowledge and Practical Experience into Everyday Practice«, Naklo, 14-15. 11. 2014., pp. 476-481. Dostupno na: [https://bib.irb.hr/datoteka/784172.54-Sladonja-Poljuha-Susek-Dudas-NAKLO\\_2014.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/784172.54-Sladonja-Poljuha-Susek-Dudas-NAKLO_2014.pdf)

STEENHAGEN, D. A., ZIMDAL R. L. (1979). Allelopaty of leafy spurge (*Euphorbia esula*). Weed Science, Vol. 27, 1-3.

TAKÁCS, A. P., HORVÁTH, J., MIKULÁS, J. (2004). Inhibitory effect of *Chelidonium majus* extracts. Journal of Plant Diseases and Protection, Vol. 19 (1), 285-292.

TANVEER, A., REHMAN, A., JAVAID, M. M., ABBAS, R. N., SIBTAIN, M., AHMAD, A. U. H.,

VRCHOTOVÁ, N., ŠERÁ, B. (2008). Allelopathic properties of knotweed rhizome extracts. Plant Soil and Environment Journal, Vol. 54 (7), 301-303. Dostupno na: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/01716.pdf>

WEBER E. (2005). Invasive Plant Species of the World: A Reference Guide to Environmental Weeds, Oxon, CABI Publishing.

WEIDENHAMER, J. D., CALLAWAY, R. M. (2010). Direct and Indirect Effects of Invasive Plants on Soil Chemistry and Ecosystem Function. Journal of Chemical Ecology, Vol. 36, 59-69. DOI: 10.1007/s10886-009-9735-0

WESTON, L. A. (1996). Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. Agronomy Journal, Vol. 88, 860-866. DOI: 10.2134/agronj1996.00021962003600060004x

XUAN, T. D., SHINKICHI, T., HONG, N. H., KHANH, T. D., MIN, C. I. (2004). Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds. Crop Protection, Vol. 23, 915-922.