3. VAJE: ALELOPATIJA 2026/2027

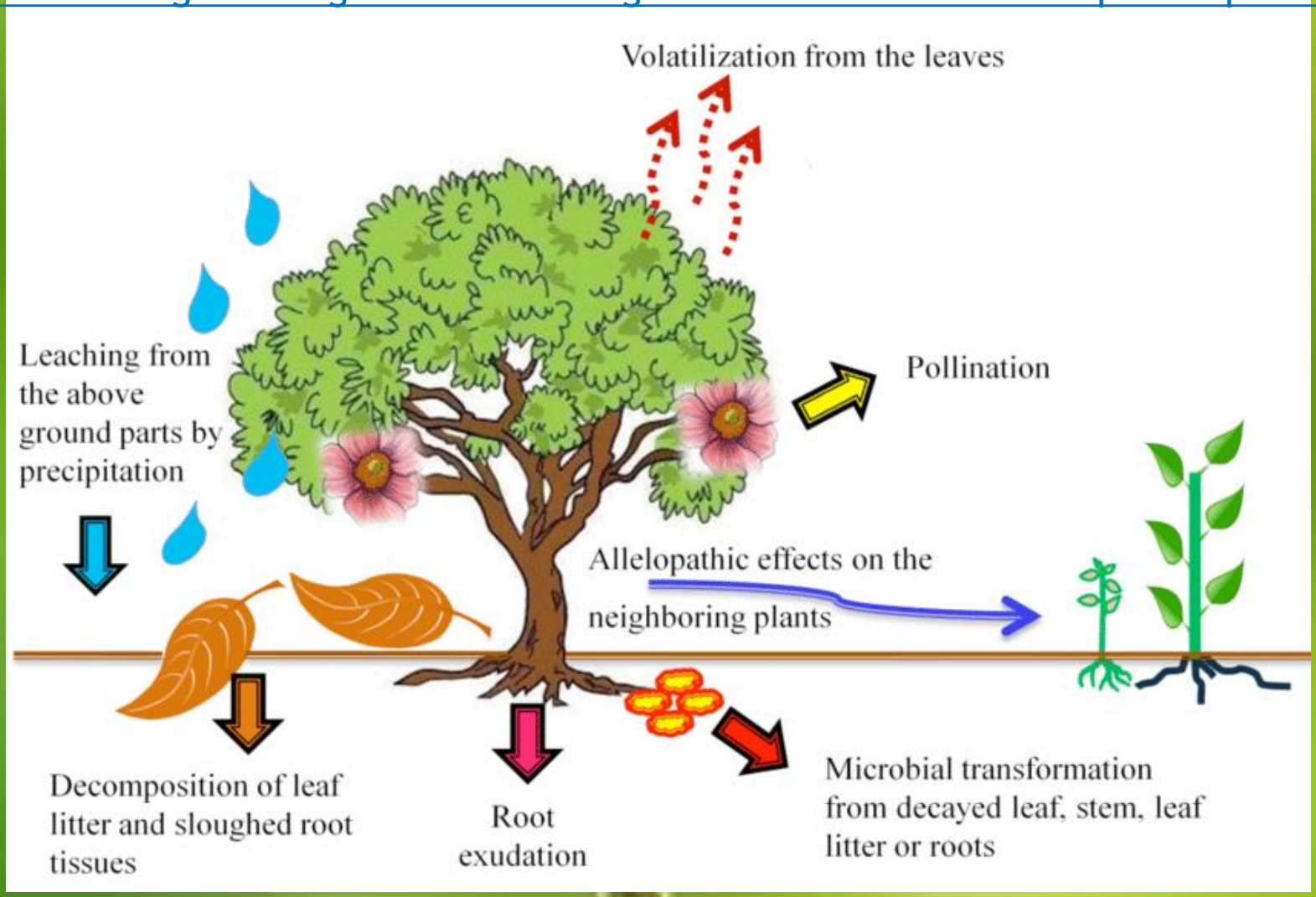
LABORATORIJSKI PRAKTIKUM

Asist. Aja Bončina

Kaj je alelopatija?

- Izhaja iz besed „*allelon*“ kar pomeni „medsebojno", in „*pathos*“ kar pomeni „trpeti„.
- Alelopatija je **biološki pojav**, s katerim nek organizem **proizvaja eno ali več biokemikalij**, ki vplivajo na kalitev, rast, preživetje in razmnoževanje drugih organizmov.
- Je oblika preživetja vrst v naravi; zmanjšuje kompeticijo ostalih vrst.
- Te biokemikalije so znane kot **alelokemikalije** in lahko ugodno (pozitivna alelopatija) ali negativno (negativna alelopatija) učinkujejo na ciljne organizme in združbe. Alelokemikalije so podskupina **sekundarnih metabolitov**, ki niso potrebni za presnovo (tj rast, razvoj in razmnoževanje) v alelopatskih organizmih.

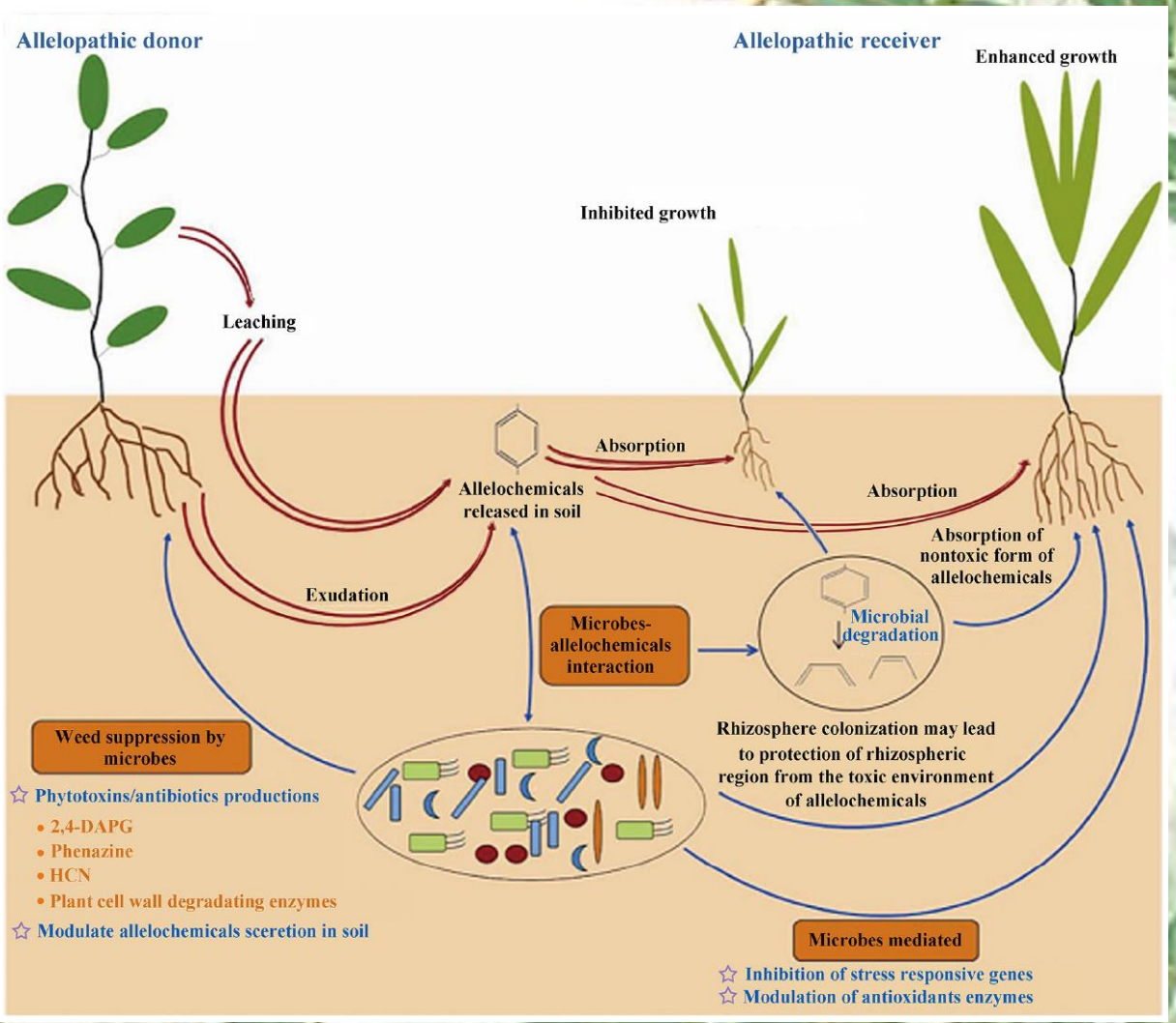
https://www.gardeningknowhow.com/garden-how-to/info/allelopathic-plants.htm



- Alelopatske kemikalije so lahko prisotne v vsakem delu rastline.
- Najti jih je mogoče v listih, cvetovih, koreninah, plodu ali steblu. Lahko se nahajajo tudi v okoliški prsti.

Chen in sod. 2015

- Alelopatija je značilna za nekatere rastline, alge, bakterije, korale in glive.
- Alelopatske interakcije so pomemben dejavnik pri določanju porazdelitve vrst in številčnosti v rastlinskih združbah.
- Najverjetneje je pomembna strategija za uspeh veliko invazivnih rastlin.



Kaj je alelopatija? Kompeticija ali…?

- Procesi, s katerimi rastlina pridobi več razpoložljivih virov (kot so hranila, voda ali svetloba) iz okolja, **brez vsakršnega kemičnega delovanja** na okoliške rastline se **imenuje kompeticija** (tekmovanje za vire). Ta proces ni negativna alelopatija, čeprav lahko oba procesa delujeta skupaj za povečanje stopnje preživetja rastlinskih vrst. Kljub temu je mnogo interpretacij, kaj je alelopatija.
- Trenutno: **alelopatija je opredeljena kot širok nabor kemično izpeljanih negativnih interakcij** (*Hierro in sod. 2021*)

Table 1 Alternative views of allelopathy, the type of interaction that those views represent, the nature of effects exerted by species on each other, and examples of references in which different views have been adopted

View	Interaction	Effects	References
Original	Chemical communication	+, −, 0	Molisch 2001 (1937), Rice 1984, Reigosa et al. 2002, this review
A type of competition	Interference competition—as an alternative to exploitative competition	−	Jackson & Buss 1975, Begon et al. 2006, Gurevitch et al. 2006, Lankau et al. 2011, Aschehoug et al. 2016
A type of interference	Allelopathy interference—as an alternative to competition interference	−	Muller 1966, Harper 1977, Wardle et al. 1998, Schenk et al. 1999, Ridenour & Callaway 2001

Mehanizem delovanja

- Veliko alelopatskih kemikalij imajo bolj dramatične posledice na kalitev semen, kot na rast in vitalnost odrasle rastline.
- Eden izmed mehanizmov za inhibicijo kaljenja semen je **MOTNJA "TEMOTNE FAZE" ALI MITOHONDRIJSKEGA DIHANJA.**
- Drugi je **proizvodnja ROS (vpleteni v signalizacijo in obrambni mehanizem rastlin)** ➔ prosti radikali – oksidativni stres – celična smrt.
- Ali motnje presnove aminokislin (genetski material)
- Vpliv tudi na sestavo in aktivnost talnih organizmov

- *Weir, T. L., Park, S. W., & Vivanco, J. M. (2004). Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Current opinion in plant biology, 7(4), 472-479.*

Alelopatske snovi v rastlinah

1. **FENOLNE SPOJINE, FLAVONOIDI in DRUGE AROMATSKE SPOJINE** (vanillic, p-coumeric, p-hydroxybenzoic and protochatechuic acid) – vplivajo predvsem na **presnovne encime** v fazi glikolize
2. **(MONO)TERPENI** (camphor, a-pinene, and limonene) - močno vplivajo na **dihalno verigo**

3. QUINONI IN FENOLI – nastanek **ROS** – nastanek semiquinon radikalov, ki oddajo elektrone molekularnemu kisiku iz katerega nastane superoksid (anion O_2^-), v nadaljnih reakcijah nastanejo reaktivni hidroksilni (OH) ali hidroksiperoksil (HO_2) radikali (radikali vplivajo na prepustnost membrane, poškodujejo DNA, proteine, lipidne perokside)

4. GLIFOSAT IN DERIVATI SULFONILURE - **Motnja presnove aminokislin** (tudi mehanizem delovanja komercialnih herbicidov)

Uporaba alelopatije

Za uničevanje plevela v kmetijstvu in gozdarstvu.

- Možnosti za uporabo alelopatije v kmetijstvu, je predmet številnih raziskav. Trenutne raziskave se osredotočajo na učinke **plevela na poljščine, poljščin na plevel**, in poljščin na poljščine. Raziskave proučujejo možnosti uporabe alelokemikalij **kot regulatorjev rasti ali naravnih herbicidov**, za spodbujanje trajnostnega kmetijstva

- Chen et all. (2015). Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. *Front. Plant Sci.* 6:1020. doi: 10.3389/fpls.2015.01020
- Aslam, F., Khaliq, A., Matloob, A., Tanveer, A., Hussain, S., & Zahir, Z. A. (2017). Allelopathy in agro-ecosystems: a critical review of wheat allelopathy-concepts and implications. *Chemoecology*, 1-24.

Uporaba alelopatije

Za obnovo gozdnih habitatov

- Kompeticija zgodnjih sukcesijskih vrst in/ali agresivnih invazivnih tujerodnih rastlinskih vrst
- Oviranje vzpostavitve avtohtonih vrst in obnovo
- potencial domorodnih alelopatskih vrst za zatiranje rasti invazivnih tujerodnih vrst
- Alelopatija je lahko ključni mehanizem za zmanjševanje številčnosti in vpliv invazivnih tujerodnih vrst.



Alianthus altissima (veliki pajesen)

??

Quercus sp. (hrasti)
Vpliv na kalitev semen hrastov

Cummings, J. A., Parker, I. M., & Gilbert, G. S. (2012). Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration. *Plant Ecology*, *213*(12), 1975-1989

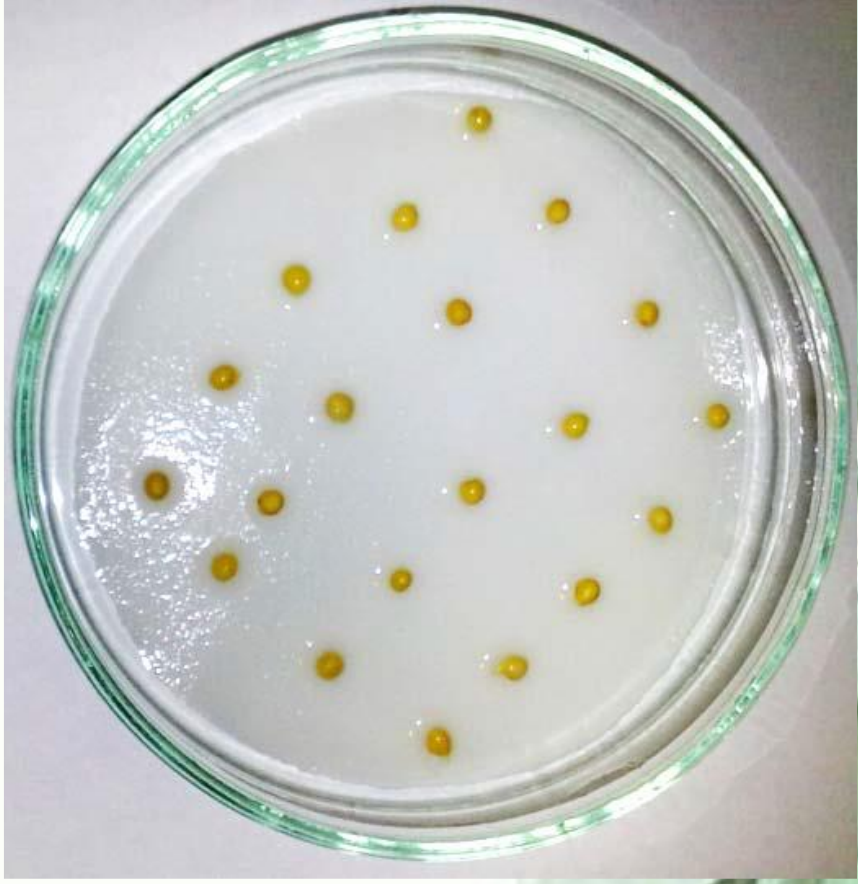
Naš načrt raziskave

V poskusu bomo obravnavali vprašanja:

- Ali imajo ekstrakti listov zdravilnih zelišč (**kamilica, melisa, pelin, rman, timijan**) in invazivna vrsta zlate rozge (***Solidago altissima***) negativen učinek na rast in kalitev semen *Sinapis alba* (bela gorčica)?
- Ali v enaki meri **zavirajo prirast koreninic** in kalitev **semen?**
- Kakšen je ta vpliv pri različnih koncentracijah?



Material



- Petrijevke
- Kapalke plastične
- Pipete
- Parafilm
- Pincete
- Filter papir
- Deionizirana voda
- Semena (*Sinapis alba*)
- Vodni ekstrakti (5 različnih koncentracij)
- Temperatura: 21 ± 2 °C

Koncentracije pripravkov

- Vodni ekstrakti listov rastlin s koncentracijo 100 g/L (100%)
- Razredčeni vodni ekstrakti s koncentracijami

  75 g/L (75%)

  50 g/L (50%)

  25 g/L (25%)

  10 g/L (10%)
- Kontrola – deionizirana voda

  0 g/L (0%)

Protokol

PRIPRAVI KONCENTRACIJE (redčitev 100% ekstrakta) V ČAŠE:

- **Konc. 1 = 100 % vodni ekstrakt**
- **Konc. 2 = 75% vodni ekstrakt**
- (za 20 ml = 15 ml 100% + 5 ml d-vode)
- **Konc. 3 = 50% vodni ekstrakt**
- (za 20 ml = 10 ml 100% + 10 ml d-vode)
- **Konc. 4 = 25% vodni ekstrakt**
- (za 20 ml = 5 ml 100% + 15 ml d-vode)
- **Konc. 5 = 10% vodni ekstrakt**
- (za 20 ml = 2 ml 100% + 18 ml d-vode)

SKUPINA 1: Zlata rozga

SKUPINA 2: Rman

SKUPINA 3: Timijan

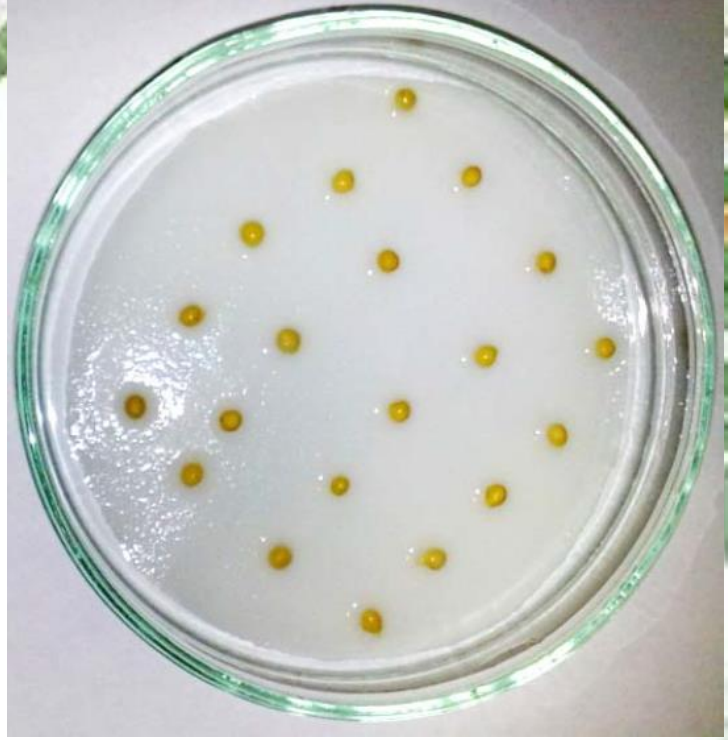
SKUPINA 4: Pelin

SKUPINA 5: Kamilica

SKUPINA 6: Timijan

Protokol

- V vsako petrijevko položimo: filter papir, navlažimo **z 3.5 ml ekstrakta**, 20 semen (4 x 5 vrst)

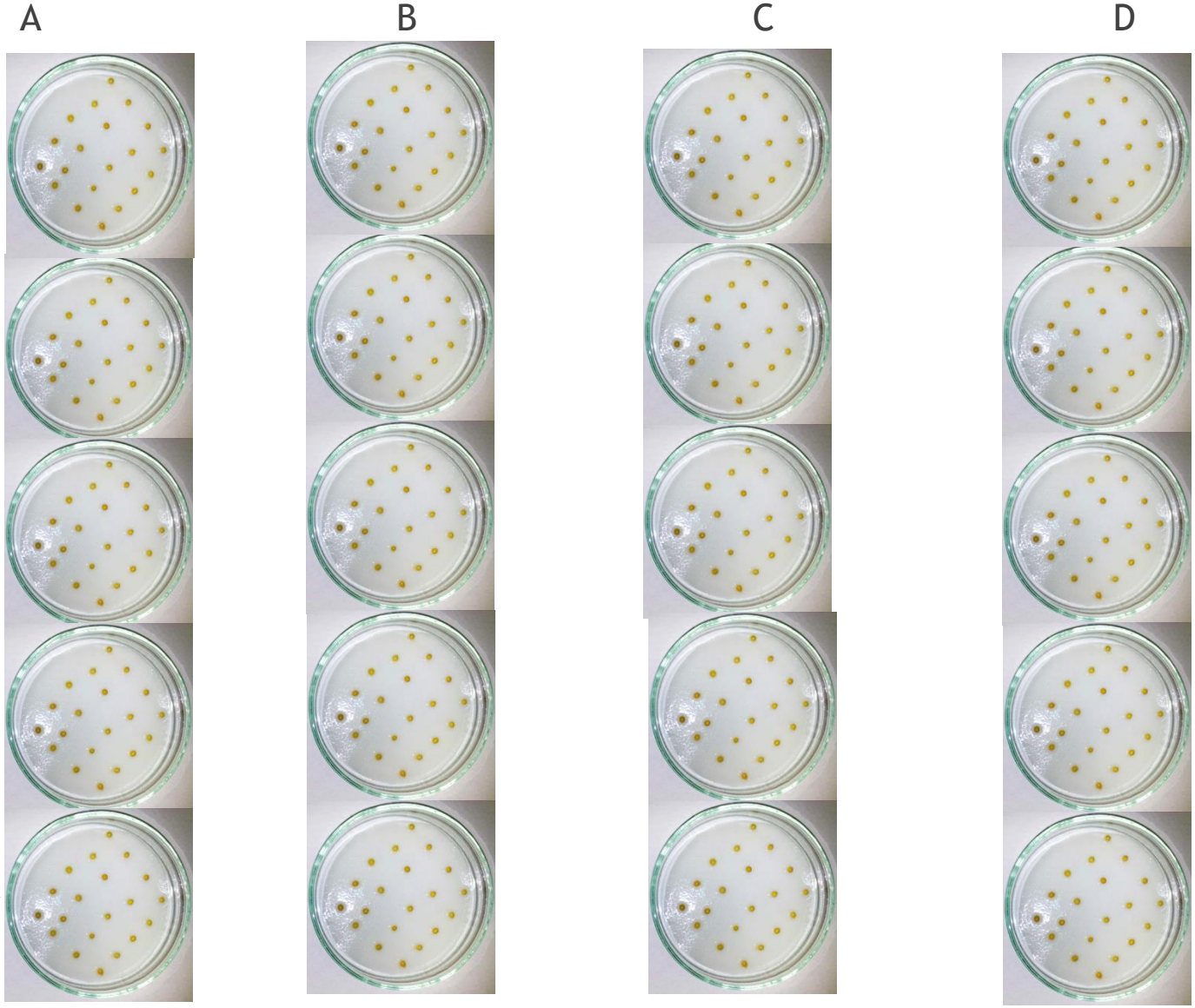


Protokol

- Za vsako koncentracijo pripravimo 4 paralelke (4 petrijevke) A, B, C, D
- V petrijevko najprej položimo izrezan filter papir. Nato dodamo 3.5 ml raztopine vodnega ekstrakta
- S pinceto nastavimo semena, kot prikazuje slika.
- **Petrijevko označimo** (vrsta, **koncentracija, paralelka**) in ovijemo ob robu s parafilmom
- Nato celotno petrijevko ovijemo v alu folijo in še na folijo zapišemo podatke.

Protokol (za vsako rastlino)

- 10%
- 25%
- 50%
- 75%
- 100%



Protokol

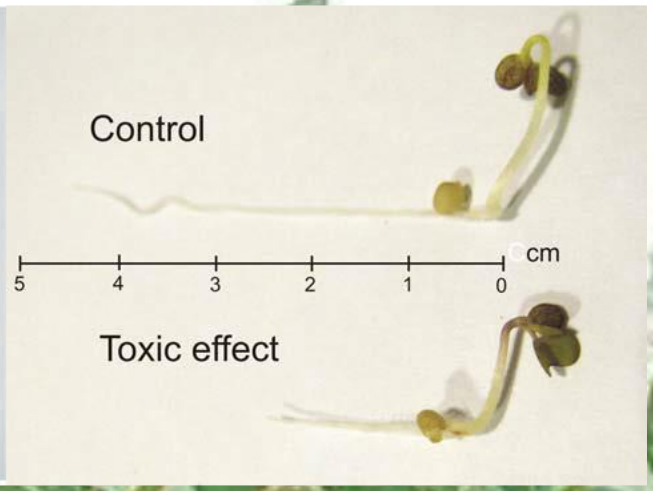
- Kalitev semen opazujemo (štejemo) po:

  24 in 48 h

- Rast koreninic opazujemo (merimo dolžino): ➔ PROGRAM ImageJ

  48 in 72 h

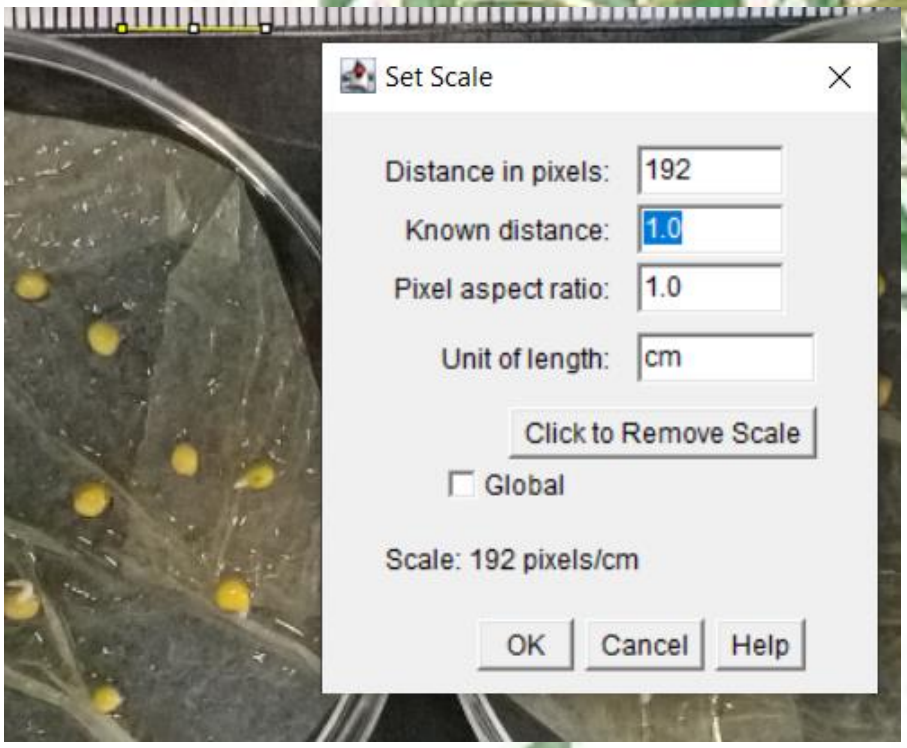




Protokol

- **Po 24 in 48 urah preštejemo semena**, ki so kalila.
- **Petrijevke slikamo po 48 in 72 urah**, slike služijo za merjenje dolžine koreninic. Dolžine merimo s pomočjo **programa „ImageJ“(e-učilnica)**
- **Rezultate analize boste pred vajami naložili na skupno One drive preglednico, povezava je objavljena na eučilnici (najkasneje do srede, 9.10.2024 - 12.00)**
- Na naslednje vaje prinesite s seboj računalnik, doma inštalirajte program **ImageJ**, je prosto dostopen.


ImageJ
File Edit Image Process Analyze Plugins Window
Wand (tracing) tool
Measure Ctrl+M
Analyze Particles...
Summarize
Distribution...
Label
Clear Results
Set Measurements...
Set Scale...
Calibrate...
Histogram Ctrl+H
Plot Profile Ctrl+K
Surface Plot...
Gels
Tools


Set Scale
Distance in pixels: 192
Known distance: 1.0
Pixel aspect ratio: 1.0
Unit of length: cm
Click to Remove Scale
Global
Scale: 192 pixels/cm
OK
Cancel
Help

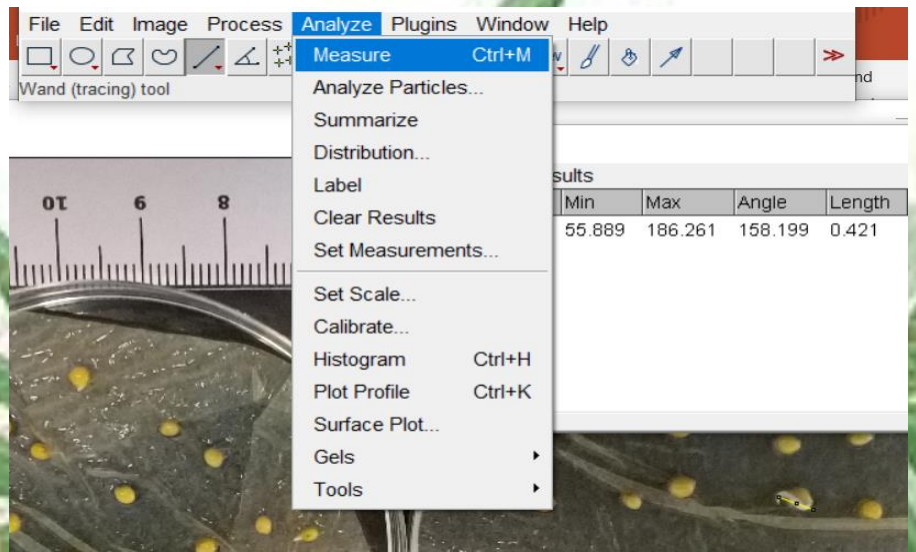

File Edit Image Process Analyze Plugins Window Help
Wand (tracing) tool
Measure Ctrl+M
Analyze Particles...
Summarize
Distribution...
Label
Clear Results
Set Measurements...
Set Scale...
Calibrate...
Histogram Ctrl+H
Plot Profile Ctrl+K
Surface Plot...
Gels
Tools
Min Max Angle Length
55.889 186.261 158.199 0.421

Image J

- PRENOS: https://imagej.nih.gov/ij/download.html

(naložen tudi na eučilnico)

1. **SLIKATE PETRIJEVKE (max. 2-3/sliko) NUJNO OB RAVNILU!**
2. Naložite sliko v ImageJ (File➔ Open)
3. Narišite črto na ravnilo za točno 1 cm
4. Analyse ➔ **Set scale** (prvo okno ne spreminjajte! Drugo okno označite 1.0, in spremenite enoto v cm) ➔ OK
5. Označite s črto rast koreninic ➔ Analyse ➔ Measure ➔ pojavi se rezultat (pod Length imate sedaj npr. 0,552 cm). Vsakič naredite novo črtico in izmerite z orodjem „Measure“. Pomerite tako vse dolžine koreninic, v skupno tabelo naložite rezultate POVPREČNIH VREDNOSTI VSEH po POSAMEZNIH KONCENTRACIJAH.

PO 24 URAH

Konc	Zlata rozga		Rman		Timijan		Pelin	
	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	št. vzklitih semen	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	t. vzklitih seme	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	zklitih ser	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	št. vzklitih semen
100% (50 g/L)	/	0	/	1	/	0	/	0
75% (37,5 g/L)	/	2	/	1	/	1	/	1
50% (25 g/L)	/	5	/	2	/	2	/	3
25% (12,5 g/L)	/	12	/	15	/	5	/	10
10% (5 g/L)	/	16	/	16	/	12	/	16

PO 48 URAH

Konc	Zlata rozga		Rman		Timijan		Pelin	
	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	št. vzklitih semen	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	t. vzklitih seme	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	zklitih ser	Povprečni dolžinski priprast koreninic obeh paralelk (cm)	št. vzklitih semen
100% (50 g/L)	0	0		1		0	/	0
75% (37,5 g/L)	0,01	2		1		1	/	1
50% (25 g/L)	0,03	5		2		2	/	3
25% (12,5 g/L)	0,05	12		15		5	/	10
10% (5 g/L)	0,1	16		16		12	/	16

Uporabite Average vseh izmerjenih dolžin v IMageJ za posamezno koncentracijo

Parametri

- **Kaljivost semen**

$$\mathrm{K}\ (\%) = \frac{\text{št. vzklilih semen}}{\text{št. } vseh\ semen}\ x\ 100$$

- **Inhibicija rasti koreninic**

$$\mathrm{I}\ (\%) = \frac{(PDK\ k - PDK\ n)}{(PDK\ k)}\ x\ 100$$

- **PDV – povprečna dolžina koreninic**

Vprašanja

- Ali ste že opazili vplive alelopatije v vaši okolici? Drugod? Na kratko opiši!
- Zakaj menite, da je proučevanje alelopatije pomembno?
- Naštej nekatere koristne posledice alelopatije! Kako jih lahko uporabimo za izboljševanje ekologije?
- Izberi si eno znanstveno študijo in jo na kratko komentiraj (največ 15 stavkov)!