

GLUKOZYNOLANY – WYSTĘPOWANIE I ZNACZENIE EKOLOGICZNE

Glucosinolates – occurrence and ecological significance

Wiesław OLESZEK

Summary. Interest in glucosinolates and the associated degradation products has been generated due to their antinutritional effects, but also because of the possibility of using plant residues as a substitute for synthetic organic pesticides. Trends in modern agriculture aimed at the reduction of pesticide application create favorable conditions for pathogens and insect development. This in turn may cause severe changes in plant metabolism and in the accumulation of secondary metabolites eg. glucosinolates. These pest induced changes in glucosinolate metabolism can be important for plant breeders when selecting brassicas for increased nutritional value and for pest resistance. On the other hand allelochemical properties of *Brassica* may be exploited against soil-born pests. Incorporation of *Brassica* tissue into the plow zone can initiate production of isothiocyanates, and may lead to lethal and/or sublethal (eg., repellency and inhibition of feeding) effects on pest and weed population, thus conferring protection to the following crop.

This work summarizes recent developments and trends in the major research areas concerning glucosinolates in brassicas including their occurrence and ecological significance.

Key words: glucosinolates, glucosides, secondary metabolites, allelopathy

Doc. dr hab. Wiesław Oleszek, Zakład Biochemii i Jakości Plonów Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa, Osada Pałacowa, 24–100 Puławy

WSTĘP

Występowanie glukozynolanów w roślinach uprawnych ma szereg ważnych konsekwencji gospodarczych. Po pierwsze glukozynolany mają znaczenie jako substancje antyżywieniowe, obniżające wartość paszową wysokobiałkowych wyłoków lub śruty poekstrakcyjnej, uzyskanej z nasion rzepaku [52]. Dlatego też począwszy od roku 1967, kiedy okazało się, że polska odmiana „Bronowski” posiada znacznie niższą zawartość glukozynolanów niż inne uprawne odmiany [30], rozpoczęto intensywne prace genetyczne mające na celu wyhodowanie odmian tzw. dwuzerowych, lub poprawniej mówiąc o znacznie obniżonej (10–30 mmoli/kg), lub bardzo niskiej (2–5 mmoli/kg) zawartości tych związków. W wyniku tych prac uzyskano szereg

lepszonych odmian, dzięki czemu produkcja rzepaku w krajach europejskich wzrosła w ostatnim dziesięcioleciu około dziesięciokrotnie, a próg zawartości glukozynolanów w nasionach obniżył się do 20–30 mmoli/kg. Na podstawie licznych doświadczeń żywieniowych ustalono dopuszczalne dawki śruty rzepakowej w zależności od zawartości glukozynolanów, gatunku i wieku zwierząt, jak również ich preferencji smakowych [44].

Po drugie, specyficzny smak i zapach niektórych gatunków roślin krzyżowych stosowanych powszechnie jako warzywa lub przyprawy (kapusta, rzodkiew, gorczyca) wynika z obecności izotiocyanianów, będących produktami katabolizmu glukozynolanów. Ich wpływ na zdrowie konsumenta był szeroko badany i opisywany [39, 20]. Na tej podstawie amerykański National Re-

search Council on Diet, Nutrition and Cancer zalecił zwiększenie spożywania warzyw zawierających glukobrasycynę (indolylometylo-glukozy-nolan) wykazującą właściwości antyrakowe.

Po trzecie, produkty katabolizmu glukozynolanów wykazują znaczną toksyczność w stosunku do szeregu grzybów patogennych, bakterii, wirusów, owadów oraz roślin wyższych. Te same związki spełniają często funkcje repelantów, atraktantów lub związków modyfikujących zachowanie szkodników, jak również odgrywają rolę w oddziaływaniach allelopatycznych. Jednocześnie warunki środowiskowe i czynniki biotyczne modyfikują zawartość glukozynolanów w roślinach. Zjawiska te mają olbrzymie znaczenie w warunkach rolnictwa zintegrowanego lub ekologicznego, gdzie zredukowane stosowanie chemicznych środków ochrony roślin zwiększa możliwość inwazji patogenów. Zatem poznanie mechanizmów i skutków z tego wynikających ma znaczenie zasadnicze. Z drugiej strony, obniżenie dawek pestycydów musi prowadzić do poszukiwania odporności w samych roślinach, co często ma konsekwencje w

zmianie ich metabolizmu. Z modelem rolnictwa zintegrowanego lub ekologicznego wiąże się również konieczność poszukiwania naturalnych metod ochrony upraw i rośliny krzyżowe w niektórych przypadkach zdają się stwarzać taką alternatywę.

Obecne opracowanie ma na celu zasygnalizowanie czytelnikowi aktualnych trendów badawczych nad glukozynolanami w roślinach krzyżowych, a przede wszystkim w najszerzej uprawianym rzepaku, zagrożeń jakie niesie zaniedbanie ochrony roślin oraz możliwości praktycznego wykorzystania tych związków jako naturalnych pestycydów.

SKŁAD CHEMICZNY GLUKOZYNOŁANÓW I LOKALIZACJA W STRUKTURACH SUBKOMÓRKOWYCH

Glukozynolany są anionami organicznymi posiadającymi cząsteczkę β -D-glukozy, sulfonowany oksym i łańcuch boczny o strukturze alifatycznej lub aromatycznej. Różnorodność występujących kombinacji łańcucha bocznego

Tabela 1. Główne glukozynolany występujące w roślinach krzyżowych.

Table 1. Main glucosinolates occurring in cruciferous plants.

Nr	Łańcuch boczny R*	Nazwa potoczna	Występowanie**
1	2-propenilo-	Synigryna	<i>Brassica nigra</i>
2	butylo-3-enilo-	Glukonapina	<i>B. napus</i>
3	2-OH-butylo-3-enilo-	Progoitryna	<i>B. napus</i>
4	pentylo-4-enilo-	Glukobrasylanapina	<i>B. napus</i>
5	2-OH-pentylo-4-enilo-	Glukonapoleiferyna	<i>B. napus</i>
6	2-feniloetylo-	Glukonasturcyna	<i>Nasturtium officinalis</i>
7	benzylo-	Glukotropaeolina	<i>Lepidium sativa</i>
8	p-hydroksybenzylo-	Synalbina	<i>Sinapis alba</i>
9	indolilo-3-ylmetylo-	Glukobrasycyna	<i>B. oleracea</i>
10	4-OH-indolilo-3-	4-OH Glukobrasycyna	<i>B. napus</i>
11	4-OCH ₃ -indolilo-3-ylmetylo-	4-OCH ₃ Glukobrasycyna	<i>B. napus</i>
12	N-OCH ₃ -indolilo-3-ylmetylo-	Neoglukobrasycyna	<i>B. napus</i>

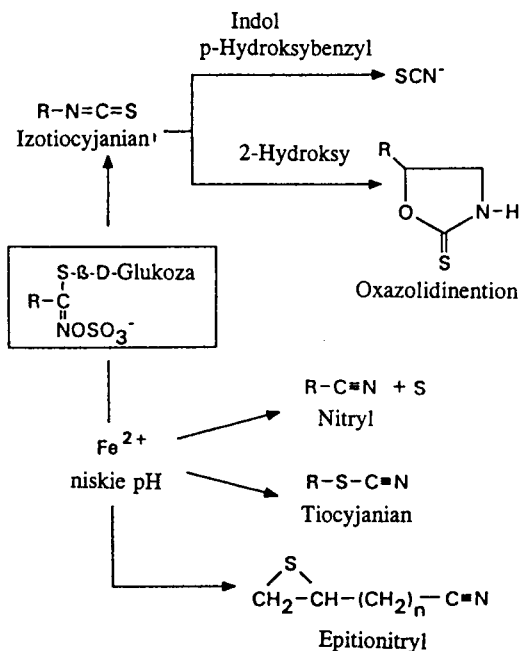
* Wzór strukturalny przedstawiono na rysunku 1 (structural formula is given in Fig. 1).

** Rośliny, w których glukozynolany występują w największych ilościach (plants in which glucosinolates occur with highest amounts).

sprawa, że w chwili obecnej znanych jest około 100 różnych związków [15]. Niektóre z nich, najczęściej spotykane w roślinach przedstawiono w Tabeli 1. Bezpośrednimi prekursorami w biosyntezie glukozynolanów są aminokwasy, zarówno białkowe jak i niebiałkowe, lecz w przeważającej liczbie przypadków są to tryptofan (pierścien indolowy), metionina (łańcuch alifatyczny) i fenyloalanina (pierścien aromatyczny) [24]. Biosynteza obejmuje następujące etapy: (1) aminokwas → (2) N-hydroksyaminokwas → (3) aldoksym → (4) tiohydroksymian → (5) desulfoglukozynolan → (6) glukozynolan [21, 27].

W roślinach glukozynolany występują w postaci glikozydowej i połączenia te nie wykazują toksyczności w stosunku do roślin, zwierząt jak i patogenów [20, 2, 62, 12]. Jednakże wszystkie rośliny zawierające glukozynolany posiadają również enzym mirozynazę (tioglukozydazę) zdolną do degradacji tych związków do form prostszych. Podczas hydrolizy enzymatycznej powstaje glukoza, jon siarczanowy oraz w zależności od warunków, głównie od pH, szereg produktów degradacji. Możliwe produkty degradacji przedstawia Ryc. 1. Cechą charakterystyczną produktów degradacji jest ich wysoka aktywność biologiczna i jak sugerują Buchwald i in. [12], są one znacznie ważniejsze niż glukozynolany w oddziaływaniach szkodnik-roślina.

W samej roślinie mirozynaza jest przestrzennie odizolowana od glikozydów. Istnieją zróżnicowane poglądy co do lokalizacji enzymu i substratu w strukturach subkomórkowych. Badania przeprowadzone na korzeniach *Sinapis alba* wskazywały, że glukozynolany znajdują się w wakuolach [22, 66] i pogląd ten został kilkakrotnie potwierdzony i jest uznawany do dzisiaj. Natomiast lokalizacja enzymu do chwili obecnej nie jest do końca jasna. Grob i Matile [22] sugerowali, że mirozynaza znajduje się w wakuolach w stanie nieczynnym razem z glukozynolanami. Jej aktywacja następuje w momencie uszkodzenia wakuoli. Wei i in. [66] proponowali lokalizację enzymu w retikulum endoplazmatycznym. Niektórzy autorzy sugerowali istnienie tzw. ciał mirozynowych lub komórek mirozynowych, jednakże Bones i Suppheng [7] i Bones [8] wy-



Ryc. 1. Schemat powstawania produktów degradacji glukozynolanów

Fig. 1. Degradation of glucosinolates.

kazali, że obecność tych struktur nie jest konieczna aby uzyskać aktywność mirozynazy, która według tych autorów jest najwyższa podczas kiełkowania nasion, szczególnie w hypokotylu. Ta wysoka aktywność podczas kiełkowania koreluje znakomicie z doniesieniami Classais-Besnard i Larher [16] wskazującymi na szybką degradację glukozynolanów podczas kiełkowania co obserwowano zarówno w nisko- jak i wysokoglukozynolanowych odmianach. Fakt ten sugeruje, że glukozynolany w nasionach pełnią rolę zapasowych związków węgla, azotu a przede wszystkim siarki. W momencie osiągnięcia przez siewkę zdolności fotosyntetycznej następuje dynamiczna synteza i nagromadzanie tych związków w łodygach. Dynamika ta wyraźnie załamuje się w fazie kwitnienia kiedy obserwuje się gwałtowny spadek zawartości, co może być związane z wykorzystaniem reszty indolowej do syntezy fitohormonów. Ponowny wzrost zawartości w korzeniach i nasionach następuje w fazie generatywnej, przy czym ich po-

ziom w nasionach osiąga wartości 5–10 krotnie wyższe niż w organach zielonych. Nie udowodniono do tej pory, czy ta wysoka zawartość w nasionach w stosunku do części zielonych wynika z transportu glukozynolanów do organów generatywnych, czy raczej z syntezy *in situ*. Istnieje raczej pogląd, że zawartość w częściach zielonych jest niewystarczająca aby pokryć zapotrzebowanie nasion, które ponadto zawierają specyficzne związki takie jak butylo-3-enylo- i pentylo-4-enyloglukozynolany. Zatem w samych nasionach i w strąku zachodzi synteza tych związków, a z części zielonych mogą być transportowane głównie prekursorzy do biosyntezy [17]. Natomiast regułą jest, że odmiany zawierające więcej glukozynolanów w częściach zielonych wytwarzają nasiona również o wyższej zawartości tych związków.

Wyraźne zmiany w zawartości w różnych fazach rozwojowych świadczą o dynamicznych procesach metabolicznych i katabolicznych glukozynolanów, jednak nie jest całkowicie jasne czy bierze w tym udział mirozynaza czy też inne zespoły enzymatyczne. Działanie układu glukozynolany/mirozynaza pozostaje w dalszym ciągu niewyjaśnione, pomimo znacznego postępu w poznaniu struktury białkowej enzymu [25, 36, 69]. Zagadnienie komplikuje się jeszcze bardziej jeśli uwzględnić badania Hoglund i in. [26], w których wykazano metodą immunocytochemiczną, że w dojrzałym ziarnie rzepaku jedynie 2–5% komórek zawiera enzym. Nie stwierdzono żadnych preferencji odnośnie rozlokowania tych komórek w poszczególnych tkankach; były one rozrzucone w ziarniaku, jednakże nie stwierdzono obecności enzymu w epidermie i komórkach merystematycznych zarodka. Natomiast w młodej siewce rozkład ten wyglądał bardziej uporządkowanie i skoncentrowaną zawartość enzymu w liścieniach stwierdzono w parenchymie, komórkach okrywowych i w tkankach przyległych do floemu. W łodydze enzym występował głównie w tkankach ksylemu i w korze korzenia. To zagęszczenie w określonych „strategicznych” tkankach nie wydaje się być przypadkowe, jako że wymienione tkanki są najbardziej narażone na działanie patogenów lub owadów. Wskazuje to zatem na pewien

mechanizm ochronny rośliny i potwierdza hipotezę Luthy i Matile [37] zakładającą, że układ glukozynolany/mirozynaza stanowi przykład niespecyficznego systemu ochronnego roślin.

ABIOTYCZNE CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE A ZAWARTOŚĆ GLUKOZYNOANÓW

Wieloletnie badania polowe wykazały, że rzepak wykazuje dużą zmienność pod względem składu chemicznego [40], a w szczególności w zawartości glukozynolanów w zależności od zabiegów uprawowych i zmiennych czynników środowiskowych [19, 46, 23, 57, 59]. Spośród czynników środowiskowych jedynie temperatura nie wydaje się mieć znacznego wpływu na zawartość glukozynolanów w rzepaku [41], jednakże wzrost temperatury powoduje znaczne obniżenie plonu i zawartości oleju oraz zmiany w składzie kwasów tłuszczowych. Podobnie obniżona temperatura (0–12°C) nie powodowała zmian w zawartości glukozynolanów w rzodkwi [57].

Duży wpływ ma natomiast dostępność wody. Zawartość glukozynolanów w warunkach niedoboru, lub nadmiaru wody obniża się. Współzależność ta nie jest do końca zrozumiała, ale wydaje się, że jest ona związana z pobieraniem i translokacją siarki. Jest bardzo prawdopodobne, że w warunkach suszy, pobieranie siarki przez roślinę jest bardzo ograniczone, czego efektem jest obniżenie syntezy glukozynolanów. Poprawa warunków wilgotnościowych powoduje zwykle wzmożoną syntezę, ale nadmiar wody powoduje bujniejszy wzrost roślin i w efekcie obserwuje się obniżenie zawartości glukozynolanów, co jest prawdopodobnie związane z efektem rozcieńczenia tych związków lub też wymywaniem siarki z korzeni [42].

Znaczenie siarki w biosyntezie glukozynolanów jest w literaturze szeroko omawiane [60, 9, 29]. Zawartość glukozynolanów w roślinach wzrastała wskutek zastosowania nawożenia siarką. Jednakże wpływ siarki ujawniał się dopiero po 6 tygodniach od zastosowania; najwyraźniej jest to okres niezbędny aby siarka stała się dostępna dla rośliny i została włączona do metabolizmu. Nie wszystkie jednak glukozynolany wykazują proporcjonalny wzrost zawar-

tości w reakcji na nawożenie siarką. Największą reakcję wykazywała glukobrassikonapina, a ponieważ związek ten wykazuje znaczną aktywność antygrzybową, dostępność siarki może mieć wpływ na odporność roślin.

WPLYW CZYNNIKÓW BIOTYCZNYCH NA ZAWARTOŚĆ GLUKOZYNOŁANÓW

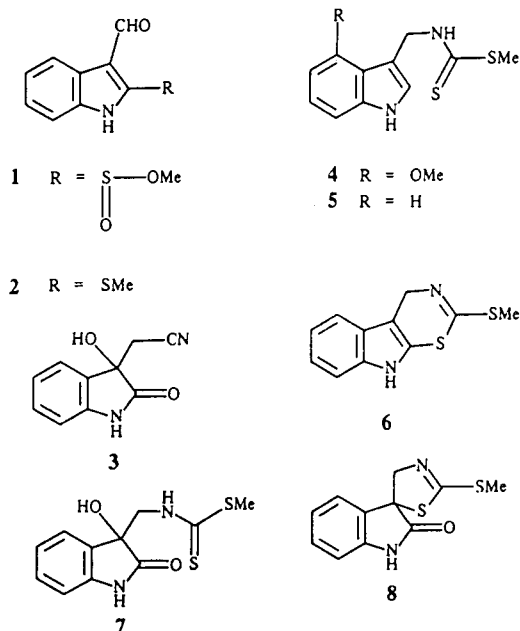
Zagadnienia wpływu czynników biotycznych (patogenów, owadów, zwierząt) na zawartość i skład glukozynolanów w roślinie muszą być rozpatrywane w połączeniu z odpornością na te same czynniki, jako że zachodzą równolegle, w tym samym miejscu i czasie. Jak wspomniano powyżej, produkty degradacji glukozynolanów, a w szczególności izotiocyjaniiny uważane są przez wielu autorów za czynniki odpornościowe. Poglądy te uzyskiwały wsparcie w badaniach *in vitro*, w których wykazywano zahamowanie wzrostu i rozwoju patogenów w zależności od struktury chemicznej związków, stężenia substancji itp. [20, 54, 62, 48]. Teoretyczne przeliczenia zawartości produktów degradacji enzymatycznej, dokonywane na podstawie oznaczeń zawartości glukozynolanów w roślinie wskazywały, że są one wystarczające a często nawet przewyższające poziom niezbędny do zahamowania wzrostu patogena. Dodatkowym argumentem świadczącym o ich odpornościowej funkcji, podobnie jak w przypadku szeregu innych grup metabolitów wtórnych, było występowanie odporności w gatunkach dzikich, co zwykle korelowało z wysoką zawartością glukozynolanów. Typowym przykładem takiego postępowania są prace Mithen i Magrath [49] z liniami *Brassica napus* zawierającymi genomy odpornego na *Leptosphaeria maculans* gatunku *Brassica atlantica* i wrażliwego gatunku *Brassica oleracea* var. *albograbra*. Odporność linii z genomem *B. atlantica* korelowała z wysoką zawartością glukozynolanów o łańcuchu alkenylowym, ale w pokoleniu F2 nastąpiła segregacja cech i nie znaleziono żadnej korelacji pomiędzy odpornością a zawartością glukozynolanów. Natomiast wskutek infekcji obserwowano nieznaczne obniżenie zawartości glukozynolanów

w roślinach, co mogło świadczyć o ich częściowej degradacji.

Podobnie nie stwierdzono korelacji pomiędzy zawartością glukozynolanów a odpornością na *Delia floralis* [4], *Brevicoryne brassicae* [65] i *Phyllotreta cruciferae* [5]. Jednakże uszkodzenia powodowane przez larwy, owady, żujące, a nawet mechaniczne nakłucia symulujące żerowanie mszycy, powodowały podobne reakcje rośliny. Przykłady testowanych ostatnio organizmów przedstawia Tabela 2. Bez względu na początkowy profil, działanie wymienionych czynników powodowało wzmożoną syntezę glukozynolanów z resztą indolową lub aromatyczną [3, 4, 31, 32, 38]. Poziom tych glukozynolanów w zależności od natężenia czynnika wzrastał 2–5 krotnie a czasem nawet 17-krotnie. W tym samym czasie obserwowano nieznaczny spadek zawartości glukozynolanów o łańcuchu alifatycznym, ale nie była to reguła, gdyż w niektórych przypadkach obserwowano 8-krotny wzrost zawartości tych związków [32]. Szczególnie w gatunkach *Brassica nigra* i *B. juncea* uszkodzenia powodują wzrost zawartości glukozynolanów o łańcuchu alifatycznym.

Wymienione zmiany w zawartości glukozynolanów mają charakter w dużej mierze lokalny. Jeśli zaatakowany jest system korzeniowy, w nim następuje wzmożona biosynteza, a zmiany w częściach nadziemnych są niewielkie. Podobnie jeśli czynnik działa na części zielone, zmiany zawartości w systemie korzeniowym są nieznaczne, ale zauważalne. Jednakże żerowanie mszycy przez 10 dni na częściach zielonych w fazie kwitnienia, powodowało wzrost zawartości glukozynolanów w nasionach odmiany niskoglukozynolanowej „Tower” średnio o 25% w stosunku do kontroli, w której zastosowano chemiczną ochronę w postaci disulfotonu [34].

Trudno wyjaśnić dlaczego roślina reaguje na uszkodzenia wzmożoną syntezą glukozynolanów. Wydaje się jednak, że jest to związane z uruchomieniem systemu obronnego działającego poprzez fitoaleksyny o strukturze indolowej, a glukozynolany mogą być produktami ubocznymi syntezy fitoaleksyn lub ich substratami. Takie fitoaleksyny, strukturalnie podobne do glukozynolanów indolowych, wyizolowano



Ryc. 2. Fitoaleksyny strukturalnie podobne do glukozynolanów indolowych: 1 – brasykanal C, 2 – brasykanal A, 3 – dioksyindol, 4 – 4 metoksybrasyнина, 5 – brasyнина, 6 – cyklobrasyнина, 7 – dioksybrasyнина, 8 – spirobrasyнина.

Fig. 2. Phytoalexins structurally related to the indol glucosinolates: 1 – brassicanal C, 2 – brassicanal A, 3 – dioxindol, 4 – 4 metoxybrassinin, 5 – brassinin, 6 – cyclobrassinin, 7 – dioxibrassinin, 8 – spirobrassinin.

ostatnio z *B. campestris* subsp. *pekinensis*, *Raphanus sativum*, *B. napus* i *B. juncea* inokulowanych *Pseudomonas cichorii* [51] (Ryc. 2). Inną, alternatywną hipotezę przedstawili Koristas i in. [32]. Sugerują oni, że to owad poprzez stymulację syntezy glukozynolanów indolowych zmienia równowagę hormonalną rośliny, przez co uzyskuje łatwy dostęp do metabolitów wykorzystywanych przez niego jako pokarm. *Psylliodes hystocephala* chętniej żerowała na młodych tkankach syntezujących więcej glukozynolanów niż tkanki starsze. Jednakże mogło to być również związane z ogólnym składem chemicznym, a głównie z zawartością celulozy i ligniny. Podobne jednak obserwacje poczynili Birch i in. [4], wykazując największy przyrost biomasy *Delia floralis* na rzepaku reagującym najbardziej wzmożoną syntezą glukozynolanów.

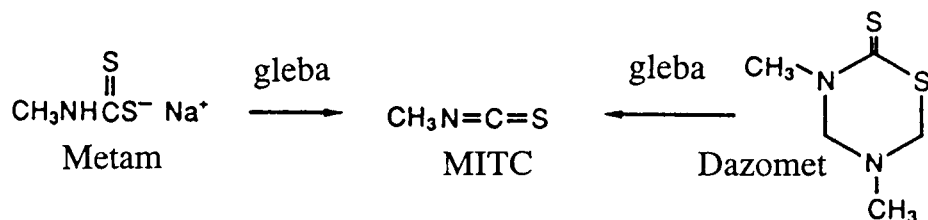
Wzmożona synteza glukozynolanów pod wpływem uszkodzeń nie wydaje się mieć decy-

dującego znaczenia w odporności roślin. Jednakże wiele aspektów tego zjawiska wymaga wyjaśnienia. Należą do nich przede wszystkim czasokres trwania wzmożonej syntezy po ataku, jak również wpływ podwyższonej zawartości na następne pokolenia patogenów lub owadów. Wzmożona synteza glukozynolanów w roślinach krzyżowych może być jednym z przykładów rozpowszechnionego w przyrodzie zjawiska wzrostu zawartości toksycznych metabolitów wtórnych w roślinach zaatakowanych. Prowadzi to do obniżenia smakowitości i wzrostu toksyczności [45], co w konsekwencji zmusza owady do poszukiwania bardziej smakowitych i mniej toksycznych źródeł pokarmu. W ten sposób próbuje się tłumaczyć na przykład cyklizność występowania szarańczy w obszarach leśnych.

Z drugiej jednak strony obecne trendy w rolnictwie, zmierzające do obniżenia chemicznej ochrony roślin, mogą prowadzić do zwiększenia inwazji patogenów a w efekcie do niekorzystnych zmian w składzie chemicznym roślin uprawnych. Znajomość tych zagadnień ma znaczenie pierwszoplanowe, gdyż wysiłki hodowlane, zmierzające do obniżenia zawartości niepożądanych substancji, mogą być całkowicie zniweczone poprzez zaniedbania w uprawie.

GLUKOZYNOOLANY A ODDZIAŁYWANIA ALLELOPATYCZNE

Doniesienia w literaturze na temat wydzielania przez rośliny glukozynolanów są nieliczne. Tang i Takenaka [64] donosili, że dwumiesięczna sadzonka *Carica papaya* wydzielą poprzez system korzeniowy 2–3 µg izotiocyjanianu (ITC) benzylu na dzień. Nie wydaje się aby była to ilość mająca znaczenie ekologiczne. Niemniej Muller i in. [47] obserwowali zahamowanie wzrostu w pobliżu roślin *Brassica nigra*, sugerując udział lotnych substancji wydzielanych przez tę roślinę. Podobnie Yamane i in. [70] donosili, że w otoczeniu *Rorippa indica* (*Cruciferae*) praktycznie nie występują inne rośliny, co sugeruje, że gatunek ten wydzielą do środowiska substancje allelopatyczne. Lotne substancje hamujące kiełkowanie i wzrost innych roślin wydzielają się ze



Ryc. 3. Rozkład fumigantów Metamu i Dazometu do aktywnego izotiocyanianu metylowego (MITC) w glebie.

Fig. 3. Degradation of fumigants Metham and Dazomet to the active methyl isothiocyanate in soil conditions.

zmiażdżonych tkanek niektórych roślin krzyżowych [55]. W badaniach modelowych *in vitro* wykazano brak wpływu glikozydów na inne rośliny, jednakże niektóre izotiocyaniany jak ITC allilu lub ITC 2-feniloetylu wykazują znaczną toksyczność [2]. Zatem występowanie w korzeniach rzepaku właśnie glukonasturcyny, wytwarzającej w wyniku hydrolizy ITC 2-feniloetylu, może mieć znaczenie allelopatyczne [16].

Toksyczność izotiocyanianów znalazła zastosowanie praktyczne w postaci przemysłowej produkcji fumigantów takich jak Metam, Dazomet czy Vorlex (MITC), stosowanych do zwalczania chwastów, grzybów glebowych, owadów i nematod (Ryc. 3). Zarówno Metam jak i Dazomet w warunkach glebowych uwalniają izotiocyanian metylu (MITC) jako substancję czynną [56, 33]. Zalecane dawki w przeliczeniu na substancję czynną wahają się w granicach 20–40 Kg MITC ha^{-1} , co odpowiada stężeniu 517–1294 nmoli MITC g^{-1} gleby. Taką samą ilość substancji czynnej (1600 nmoli g^{-1} gleby) można otrzymać stosując odtłuszczonego rzepaka w dawce 30 g kg^{-1} gleby [10] czyli około 6.5 T ha^{-1} . W doświadczeniach przeprowadzonych w Szwecji zastosowano dawki 1000 i 2000 kg ha^{-1} odtłuszczonego siewki z nasion *Sinapis alba* [1, 53, 28]. Zabieg ten pozwolił zredukować liczebność chwastów w szeregu upraw o około 85%, jednakże efektywność dawki bardzo zależała od warunków glebowych i atmosferycznych. Ponadto okres efektywnego działania wynosił 2–3 tygodnie, po czym ujawniał się efekt nawozowy wprowadzonej substancji organicznej. Ten czasokres oddziaływania nie koreluje z doświadczeniami Williamsa i in. [67] i Browna i in. [10], w których wykazano, że wprowadzenie

śruty rzepakowej do gleby spowodowało bardzo szybkie uwalnianie izotiocyanianów w ciągu pierwszych dwóch godzin. Po 24 godzinach wytwarzanie glukozynolanów obniżyło się o 90%. Natomiast maksimum zawartości jonu tiocianowego (SCN^-) stwierdzono po 8 godzinach i poziom ten utrzymywał się znacznie dłużej. Potwierdza to wyniki wcześniejszych prac Van Ettena i Tookeya [68] wskazujące, że uwalniane w glebie izotiocyaniany są niestabilne i są szybko przekształcane do SCN^- . Jon tiocianowy wykazuje znacznie niższą aktywność niż izotiocyaniany i ulega dalszej degradacji pod wpływem mikroflory glebowej [11]. Zatem czasokres toksycznego działania produktów degradacji glukozynolanów jest stosunkowo krótki, a wykazany trzytygodniowy okres w doświadczeniach szwedzkich może wynikać z obecności innych fitotoksycznych substancji [43].

Pomimo tych rozbieżności, zainteresowanie roślinami krzyżowymi wzrasta. Williams i in. [67] donoszą o wzroście popularności tych roślin w północno-zachodnich regionach USA. Są one uprawiane w rotacji z roślinami zbożowymi i motylkowymi, lub też w postaci przedplonów i międzyplonów. Rośliny krzyżowe są stosunkowo odporne na chłody, wykazują szybki przyrost masy oraz wytwarzają dużą powierzchnię liściową, przez co ograniczają erozję gleby i straty wody. Przyorana zielona masa uwalniając izotiocyaniany ogranicza rozwój organizmów chorobotwórczych np. *Apharomyces euteiches* Drechs. w uprawie grochu [13], hamuje rozwój szkodników [67], ogranicza rozwój i odstrasza nematody [50, 35].

Wspomniane powyżej próby stosowania siewki poekstrakcyjnej nie wydadają się znaleźć szero-

Tabela 2. Przykłady badań reakcji niektórych roślin krzyżowych na inwazję wirusów, patogenów, owadów, szkodników.

Table 2. Examples of reaction of some cruciferous plant to invasion of viruses, pathogenes, insects, parasites.

Wektor	Gatunek rośliny	Literatura
<i>Brevicoryne brassicae</i>	<i>Brassica napus</i>	Lammerink i in. 1984 Weber i in. 1986
TuMV	<i>Brassica napus</i> ssp. <i>rapifera</i>	Stobbs i in. 1991
TuMV	<i>Brassica campestris</i>	Shattuck 1993
<i>Delia floralis</i>	<i>Brassica napus</i>	Birch i in. 1990
<i>Plasmodiophora brassicae</i>	<i>Brassica oleracea</i>	Chang C. i in. 1989
<i>Leptosphaeria maculans</i>	<i>Brassica</i> spp.	Mithen i Magrath 1992
<i>Mamestra configurata</i>	<i>Brassica juncea</i> <i>Brassica napus</i> <i>Brassica campestris</i> <i>Sinapis alba</i>	McCloskey i Isman 1993
<i>Psylliodes chrysocephala</i>	<i>Brassica napus</i> <i>Brassica juncea</i> <i>Sinapis alba</i>	Korister i in. 1989 Korister i in. 1991
<i>Phyllotreta cruciferae</i>	<i>Brassica napus</i> <i>Brassica juncea</i>	Bondaryk, Palaniswamy 1990
<i>Alternaria brassica</i>	<i>Brassica napus</i>	Doughty i in. 1991
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	<i>Brassica napus</i>	MacFarlane Smith i in. 1991
Mechaniczne nakłucia	<i>Brassica napus</i>	Bondaryk 1992

kiego zastosowania w wielkoobszarowej uprawie polowej, natomiast w specjalistycznych uprawach warzyw, krzewów, w sadach mogą okazać się bardzo cenne jako naturalne pestycydy. Oczywiście zastosowanie odtłuszczonej śruty może również przyciągnąć szereg owadów. Dlatego w modelu naturalnej ochrony roślin te zagadnienia muszą być dobrze poznane.

LITERATURA

- [1] ASCARD J., JONASSON T. 1991. White mustard meal interesting for weed control. *32nd Swedish Crop Prot. Conf. Uppsala*. ss. 139–155.
- [2] BIAŁY Z., OLESZEK W., LEWIS J., FENWICK G. R. 1990. Allelopathic potential of glucosinolates (mustard oil glycosides) and their degradation products against wheat. *Plant and Soil*. **129**: 277–281.
- [3] BIRCH A. N. E., GRIFFITHS D. W., MACFARLANE SMITH W. H. 1990. Changes in forage and oilseed rape (*Brassica napus*) root glucosinolates in response to attack by turnip root fly (*Delia floralis*). *J. Sci. Food Agric.* **51**: 309–320.
- [4] BIRCH A. N. E., GRIFFITHS D. W., HOPKINS R. J., MACFARLANE SMITH W. H., MCKINLAY R. G. 1992. Glucosinolates responses to swedge, kale, forage and oilseed rape to root damage by turnip root fly (*Delia floralis*) larvae. *J. Sci. Food Agric.* **60**: 1–9.
- [5] BONDARYK R. P., PALANISWAMY P. 1990. Glucosinolates levels in cotyledons of mustard *Brassica juncea* L. and rape *Brassica napus* do not determine feeding rates of flea beetle *Phyllotreta cruciferae* (Gueze). *J. Chem. Ecol.* **16**: 2735–2746.
- [6] BONDARYK R. P. 1992. Effects of wounding on glucosinolates in the cotyledons of oil seed rape and mustard. *Phytochemistry* **38**: 2671–2677.
- [7] BONES A. M., SUPPHENG G. 1987. Affinity chromatography purification of betathiolglucosidase from rapeseed. *Proc. 7th Int. Rapeseed Congress, Poznań*, **7**: 1498–1502.
- [8] BONES A. M. 1990. Distribution of – glucosidase activity in intact plants, cell and tissue cultures and regenerating plants of *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* **41**: 737–744.
- [9] BOOTH E. J., WALKER K. C. 1991. A time-course study of the effect of sulphur on glucosinolates in oilseed ra-

- pe (*Brassica napus*) from the vegetative stage to maturity. *J. Sci. Food Agric.* **56**: 479–493.
- [10] BROWN P. D., MORRA M. J., MCCAFFREY J. P., AULD D. L., WILLIAMS L. 1991. Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *J. Chem. Ecol.* **17**: 2021–2034.
 - [11] BROWN P. D., MORRA M. J. 1993. Fate of ionic thiocyanate (SCN⁻) in soil. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 978–982.
 - [12] BUCHWALD L., NIELSEN J. K., SORESENSEN H. 1985. Preliminary investigations on the effect of sinigrin on in vitro growth of three fungal pathogens of oilseed rape. W: SORESENSEN H. (red.), *Advances in the production and utilization of Cruciferous crops*. ss. 260–267. Martinus Nijhoff, Amsterdam.
 - [13] CHAN M. K. Y., CLOSE R. C. 1987. Aphanomyces root rot of peas. 3. Control by the use of cruciferous amendments. *N. Z. J. Agric. Res.* **30**: 225–233.
 - [14] CHIANG M. S., CHONG C., CHEVRIER G., CRETE R. 1989. Glucosinolates in clubroot – resistant and susceptible selections of broccoli. *Hort Sci.* **24**: 665–666.
 - [15] CHEW F. S. 1988. Biological effects of glucosinolates.. W: HG Cutler (red.), *Biologically active natural products: potential use in agriculture*. ACS, WASHINGTON D. C. ss. 155–181.
 - [16] CLASSAIS-BESNARD N., LARHER F. 1991. Physiological role of glucosinolates in *Brassica napus*. Concentration and distribution pattern of glucosinolates among plant organs during a complete life cycle. *J. Sci. Food Agric.* **56**: 25–38.
 - [17] DE MARCH G., MCGREGOR D. I., SEGUIN-SHWARTZ G. 1989. Glucosinolate content of maturing pods and seeds of high and low glucosinolate summer rape. *Can. J. Plant Sci.* **69**: 929–932.
 - [18] DOUGHTY K. J., PORTER A. J. R., MORTON A. M., KIDDLE G., BOCK C. H., WALLSGROWE R. 1991. Variation in the glucosinolates content in oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. II. Response to infection by *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. *Ann. Appl. Biol.* **118**: 469–477.
 - [19] EVANS E. J., BILLSBOROW P. E., LUDEKE F. H., MILFORD G. F. J., FIELDS J. K., RAWLINSON C. J., SPINKS J. 1989. Variation in seed glucosinolate levels as influenced by agronomic inputs. *Aspects Appl. Biol.* **23**: 109–116.
 - [20] FENWICK G. R., HEANEY R. K., MULLIN W. J. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **18**: 123–201.
 - [21] GLUDENING T. M., POULTON J. E. 1988. Glucosinolate biosynthesis: sulfation of desulfobenzylglucosinolates by cell free extracts of crest seedling. *Plant Physiol.* **86**: 322–324.
 - [22] GROB K., MATILE P. H. 1979. Vacuolar localization of glucosinolates in horseshoe root cells. *Plant Sci. Lett.* **14**: 327–335.
 - [23] GUSTINE D. L., JUNG G. A. 1985. Influence of some management parameters on glucosinolate level in *Brassica* forage. *Agronomy Journal.* **77**: 593–597.
 - [24] HAUGH G. W., DAVIN L., GIBLIN M., UNDERHILL E. W. 1991. Biochemical genetics of plant secondary metabolites in *Arabidopsis thaliana*. The glucosinolates. *Plant Physiol.* **97**: 217–226.
 - [25] HOGLUND A. S., LENMAN M., FALK A., RASK L. 1990. Distribution of myrosinase in rapeseed tissues. *Physiol. Plant.* **79**: abstract 85.
 - [26] HOGLUND A. S., LENMAN M., FALK A., RASK L. 1991. Distribution of myrosinase in rapeseed tissue. *Plant Physiol.* **95**: 213–221.
 - [27] JAIN J. C., REED D. W., GROOT WASSINK J. W. D., UNDERHILL E. W. 1989. A radioassay of enzymes catalysing the glucosylation and sulfation steps of glucosinolate biosynthesis in *Brassica* species. *Anal. Biochem.* **178**: 137–140.
 - [28] JOHANSSON H. 1992. Weed control in vegetable with white mustard cake – a natural herbicide. *SLU Info/Tradgard reporter*. ss. 371.
 - [29] KAUR S., GUPTA S. K., SUKHIA P. S., MUNSHI S. K. 1990. Accumulation of glucosinolates in developing mustard (*Brassica juncea* L.) seeds in response to sulphur application. *Plant Sci.* **66**: 181–184.
 - [30] KONDRA Z. P., STEFANSON B. R. 1970. Inheritance of major glucosinolates of rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Can. J. Plant Sci.* **50**: 643–647.
 - [31] KORISTAS V. M., LEWIS J. A., FENWICK G. R. 1989. Accumulation of indole glucosinolates in *Psylliodes hystrocephala* L. infested or damaged tissue of oilseed rape (*Brassica napus* L.) *Experimentia* **45**: 493–495.
 - [32] KORISTAS V. M., LEWIS J. A., FENWICK G. R. 1991. Glucosinolate responses of oilseed rape, mustard and kale to mechanical wounding, and infestation by cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*). *Ann. Appl. Biol.* **118**: 209–221.
 - [33] LAM W. W., KIM J. H., SPARKS S. E., QUISTAD G. B., CASIDA J. E. 1993. Metabolism in rats and mice of soil fumigants Metham, Methyl Isothiocyanate, and Dazomet. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 1497–1502.
 - [34] LAMMERINK J., MACGIBBON D. B., WALLACE A. R. 1984. Effect of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) on total glucosinolate in the seed of oilseed rape (*Brassica napus*). *New Zeal. J. Agric. Res.* **27**: 89–92.
 - [35] LAZZERI L., TACEONI R., PALMIERI S. 1993. In vitro activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 825–829.
 - [36] LENMAN M., RODIN J., JOSEFFSON L. G., RASK L. 1990. Immunological characterization of rapeseed myrosinase. *Physiol. Plant.* **79**: abstract 84.
 - [37] LUTHY B., MATILE P. 1984. The mustard oil bomb; Rectified analysis of subcellular organization of myrosinase system. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **179**: 5–12.
 - [38] MAC FARLANE SMITH W. H., GRIFFITHS D. W., BOAG B. 1991. Overwinter variation in glucosinolate content of green tissue of rape (*Brassica napus*) in response to grazing by wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Sci. Food Agric.* **56**: 511–521.
 - [39] MACLEOD A. J. 1976. Volatile flavour compounds of the Cruciferae. W: J. G. Vanghan, A. J. MacLeod, M. C. Jones (red.), *The biology and chemistry of Cruciferae*. Academic Press, New York. ss. 307–330.
 - [40] MAILER R. J., WRATTEN N. 1987. Glucosinolate variability in rapeseed in Australia. *Proc. 7th Int. Rapeseed Congress*, Poznań, **3**: 671–675.

- [41] MAILER R. J. 1988. Environmental influences on rape-seed quality with emphasis on glucosinolate concentration. M. Sc. Thesis, Australian National University, Canberra, Australia. ss. 1–65.
- [42] MAILER R. J., PRATLEY J. E. 1990. Field studies on moisture availability effects on glucosinolate and oil concentration in the seed of rape (*Brassica napus*) and turnip rape (*Brassica rapa* L. var. *silvestris* (Lam.) Briggs). *Can. J. Plant Sci.* **70**: 399–407.
- [43] MASON-SEDUN W., JESSOP R. S. 1988. Differential toxicity among species and cultivars in the genus *Brassica* to wheat. II. Activity and persistence of water-soluble phytotoxins from residues of the genus *Brassica*. *Plant and Soil*. **107**: 69–80.
- [44] MAWSON R., HEANEY R.K., ZDUŃCZYK K., KOZŁOWSKA H. 1993. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. 2. Flavour and palatability. *Nahrung-Food*. **37**: 336–344.
- [45] MCCLOSKEY C., ISMAN M. 1993. Influence of foliar glucosinolates in oilseed rape and mustard on feeding and growth of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* Walker. *J. Chem. Ecol.* **19**: 249–266.
- [46] MERRIEN A. 1989. Double low oilseed rape in France: factors affecting glucosinolate levels. *Aspects Appl. Biol.* **23**: 109–116.
- [47] MULLER C. H., MULLER W. H., HAINES B. L. 1964. Volatile growth inhibitors produced by shrubs. *Science* **143**: 471–473.
- [48] MITHEN R. F., LEWIS B. G., FENWICK G. R. 1986. *In vitro* activity of glucosinolates and their products against *Leptosphaeria maculans*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **87**: 433–440.
- [49] MITHEN R. F., MAGRATH R. 1992. Glucosinolates and resistance to *Leptosphaeria maculans* in wild and cultivated *Brassica* species. *Plant Breeding* **108**: 60–68.
- [50] MOJTACHEDI H., SANTO G. S., HANG A. N., WILLSON J. H. 1991. Suppression of root-knot nematode population with selected rapeseed cultivars as green manure. *J. Nematol.* **23**: 170–174.
- [51] MONDE K., SASAKI K., SHIRATA A., TAKASUGI M. 1991. Brassicanal C and two dioxindoles from cabbage. *Phytochemistry*. **30**: 2915–2917.
- [52] NIEWIADOMSKI H. 1990. Rapeseed. Chemistry and technology. Elsevier Sci. Publ. Amsterdam. ss. 60–65.
- [53] NILLSON H., HALLGREN E. 1991. White mustard meal as a herbicide for control of *Matricaria inodora*. A greenhouse experiment. *32nd Swedish Crop Prot. Conf. Uppsala*. ss. 157–161.
- [54] NOTTINGHAM S. F., COAKER T. H. 1985. The olfactory response of cabbage root fly *Delia radicum* to the host plant volatile allylisothiocyanate. *Entomologia Exp. Appl.* **39**: 307–316.
- [55] OLESZEK W. 1987. Allelopathic effect of volatiles from some Cruciferae species on lettuce, barnyard grass, and wheat growth. *Plant and Soil*. **102**: 271–273.
- [56] PHIPPS P. M. 1990. Control of cylindrocladium black rot of peanut with soil fumigants having methyl isothiocyanate as active ingredient. *Plant Disease*. **74**: 438–441.
- [57] SHATTUCK V. I., KAKUDA Y., SHELPS B. J., KAKUDA N. 1991. Chemical composition of turnip roots stored or intermittently grown at low temperature. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **116**: 818–822.
- [58] SHATTUCK V. I. 1993. Glucosinolates and glucosinolate degradation in seeds from Turnip Mosaic Virus-infected rapid cycle *Brassica campestris* L. plants. *J. Exp. Bot.* **44**: 963–970.
- [59] SHELPS B. J., SHATTUCK V. I., MCLELLAN D., LIN L. 1992. Boron nutrition and the composition of glucosinolates and soluble nitrogen compounds in two broccolis (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivars. *Can. J. Plant Sci.* **72**: 889–899.
- [60] SHUNG E. 1989. Double low oilseed rape in West Germany: sulfur nutrition and glucosinolate level. *Aspects Appl. Biol.* **23**: 67–82.
- [61] SPARK J. 1988. The effect of the glucosinolate sinigrin and of allyl isothiocyanate on the infectivity of Turnip Mosaic Virus. *Biologia Plantarum*. **60**: 465–470.
- [62] SPARK J., KORALOVA L., LEWIS J., FENWICK G. R. 1993. The effect of glucosinolates and products of their enzymatic degradation on the infectivity of Turnip Mosaic Virus. *Biol. Plantarum*. **35**: 73–80.
- [63] STOBBS L. W., SHATTUCK V. I., SHELPS B. J. 1991. Effect of Turnip Mosaic Virus infection on the development, virus titer, glucosinolate concentration and storability of rutabaga roots. *Plant Disease*. **75**: 575–579.
- [64] TANG C. S., TAKENAKA T. 1983. Quantitation of a bioactive metabolite in undisturbed rhizosphere – benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* L. *J. Chem. Ecol.* **9**: 1247–1253.
- [65] WEBER G., OSWALD S., ZOLNER U. 1986. Suitability of rape cultivars with different glucosinolate content for *Brevicoryne brassicae* (L.) and *Myzus persicae* Sulzer Hemiptera, Aphididae. *Z. Pflanzenkr Pflanzenschutz*. **93**: 113–124.
- [66] WEI X., ROOMANS G. M., SEVENS L., PIHAKASKI K. 1981. Localization of glucosinolates in roots of *Sinapis alba* using X-ray microanalysis. *Scanning Electron Microscopy*. **2**: 481–488.
- [67] WILLIAMS L., MORRA M. J., BROWN P. D., MCCAFFREY J. P. 1993. Toxicity of allyl isothiocyanate – amended soil to *Limonius californicus* (Menn.) (Coleoptera, Elateridae) wireworms. *J. Chem. Ecol.* **19**: 1033–1046.
- [68] VAN ETEN C. H., TOOKEY H. L. 1979. Chemistry and biological effects of glucosinolates. W: ROSENTHAL GA and JENZEN D. H., (red.), *Herbivores, their interaction with secondary metabolites*. Academic Press, New York. pp. 471–500.
- [69] XUE J., FALK A., LENMAN M., RASK L. 1990. The glucosinolate degrading enzyme myrosinase in *Brassica* is encoded by a gene family. *Physiol. Plant*. **79**: abstract 223.
- [70] YAMANE A., FUJIKURA J., OGAWA H., MIZUTANI J. 1992. Isothiocyanates as allelopathic compounds from *Rorippa indica* Hiern. (Cruciferae) roots. *J. Chem. Ecol.* **18**: 1941–1944.