

Projekt badawczy nr 2011/03/B/NZ9/04763 pt. „Ograniczanie występowania roślin inwazyjnych z rodzajów *Solidago* i *Reynoutria* z wykorzystaniem biomasy do pozyskiwania biologicznie czynnych metabolitów” finansowany Przez Narodowe Centrum Nauki

Realizowany przez:

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, lubelskie
Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli, Orzechowa 61, 50-540 Wrocław
Zakład Biochemii i Jakości Plonu, Krańcowa 8, 24-100 Puławy

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Borowska 211, 50-556 Wrocław

Kierownik projektu:

Prof. dr hab. Krzysztof Domaradzki

Cel naukowy projektu

Opracowanie metod ograniczania wzrostu, rozwoju i rozprzestrzeniania się gatunków inwazyjnych z rodzajów *Solidago* (*S. gigantea* i *S. canadensis*) i *Reynoutria* (*R. japonica*, *R. sachalinensis* i *R. x bohemica*). Przywrócenie naturalnej bioróżnorodności siedlisk opanowanych przez te gatunki. Określenie możliwości wykorzystania metabolitów biologicznie czynnych wytwarzanych przez wyżej wymienione gatunki. Zbadanie ich właściwości przeciwutleniających, antyglukacyjnych i przeciwzapalnych oraz hamujących mutagenność czynników chemicznych i stresu oksydacyjnego. Badania potencjału allelopatycznego metabolitów wtórnych stosunku do wybranych gatunków chwastów. Określenie zasięgu, nasilenie występowania oraz zasobów surowca *S. gigantea*, *S. canadensis*, *R. japonica*, *R. sachalinensis* i *R. x bohemica* w różnych typach siedlisk.

Uzyskane wyniki

Badania jakościowe i ilościowe metabolitów wtórnych

W ramach badań wstępnych, stosując klasyczną metodę ekstrakcji automatycznej, przygotowano ekstrakty z suszu materiału roślinnego dwóch gatunków rdestowca: *Reynoutria japonica* i *R. sachalinensis* oraz dwóch gatunków nawłoci: *Solidago canadensis* i *S. gigantea*. Za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) stwierdzono, że w ramach gatunków profil jakościowy badanych roślin jest niezmienny, różnią się one natomiast pod względem ilości poszczególnych związków. Do dalszych badań izolacyjnych, jako najbardziej zasobny materiał roślinny, wybrano *Reynoutria sachalinensis* oraz *Solidago canadensis*.

Przeprowadzone analizy pozwoliły na izolację 8 związków z rdestowca (*R. sachalinensis*) i 13 głównych związków z nawłoci (*S. canadensis*). Wykorzystanie metod jądrowego rezonansu magnetycznego, spektrometrii mas oraz analiz spektroskopowych UV-Vis, w połączeniu z analizą danych literaturowych pozwoliły na identyfikację oraz ustalenie struktur otrzymanych związków. Związkami wyizolowanymi z rdestowca były:

glukuropiranozyd 3-*O*-13-*D*-kwercetyny, galaktopiranozyd 3-*O*-13-*D* kwercetyny, arabinofuranozyd 3-*O*-*L*-kwercetyny, glukopiranozyd 8-*O*-*D*-emodyny, glukopiranozyd 8-*O*-*D*-fiziocionu, emodyna, fiziocion i cytreorezyna. Z nawłoci wyizolowano i zidentyfikowano 13 związków: kwasy chlorogenowy, neochlorogenowy i kawowy, rutynozyd kwercetyny, ramnozyd kwercetyny oraz saponiny-*canadensis* I – VIII.

W celu określenia zawartości związków w poszczególnych częściach wegetacyjnych (kłączach i częściach nadziemnych) rdestowca i nawłoci wykorzystano wyizolowane wzorce. Analiza ilościowa dla frakcji fenolowych i antrachinonowej wykonana została za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Kłącza rdestowca sachalińskiego charakteryzowały się najwyższą zawartością galaktopiranozydu 3-*O*-13-*D* kwercetyny i arabinofuranozydu 3-*O*-*L*-kwercetyny. W przypadku części nadziemnych nie wykryto flawonoidów i cytreorezyny, która występowała tylko w kłączach, natomiast zawierały one dużą ilość emodyny i fiziocionu.

Analiza ilościowa wykazała, że w kłączach rdestowca japońskiego dominującymi związkami były rezweratrol i plecid, natomiast w częściach nadziemnych glukopiranozyd 8-*O*-*D*-emodyny i glukopiranozyd 8-*O*-*D*-fiziocionu.

Nawłóć kanadyjska zawierała w częściach nadziemnych dużą ilość kwasów fenolowych, głównie chlorogenowego i neochlorogenowego. W kłączach występują śladowe ilości kwasu kawowego oraz chlorogenowego, natomiast dominującymi związkami są saponiny II, III i IV. Występują one w porównywalnej ilości we wszystkich przebadanych próbkach.

Badania bioaktywności metabolitów wtórnych

W ziele (części nadziemne) *Solidago sp.* zbadano profil polifenoli oraz uzyskano frakcję wzbogaconą o pochodne kwasu kawowego, głównie depsydy kawoilochinowe (kwas chlorogenowy i podobne). Potwierdzono istotny wpływ tych związków na właściwości antyoksydacyjne *in vitro* oraz zahamowanie mutagenyzy oksydacyjnej. Różnice ilościowe między gatunkami nawłoci były nieistotne statystycznie, co potwierdza równorzędność surowców farmakopealnych. Jednakże, udział poszczególnych glikozydów flawonoli różni się wyraźnie pomiędzy dwoma gatunkami, z rutyną i heksozydami kemferolu jako głównymi związkami w *S. canadensis*, zaś kwercytryną w *S. gigantea*. Proporcje pozostałych flawonoli także odbiegają od siebie. Ponadto, zbliżona była zawartość i profil kwasów kawoilochinowych, które też mogą mieć istotny wpływ na jakość surowca zielarskiego, jak i inne właściwości biologiczne.

Do najciekawszych wyników należy stwierdzenie bardzo silnych właściwości hamujących chemicznie indukowaną mutagenezę przez frakcję niepolarną z korzeni obydwu gatunków nawłoci. Zależne od stężenia zahamowanie osiągało 100%. Jednakże w obecnym etapie badań nawet wnikliwa analiza UHPLC-MSⁿ nie wystarczyła do pełnej identyfikacji któregośkolwiek z prawdopodobnie terpenoidowych składników tej frakcji. W tym celu zaplanowano więc, po zakończeniu projektu, wykorzystanie chromatografii gazowej z derywatywacją i detekcją masową, co daje szansę na wyszukanie potencjalnie aktywnych związków w istniejących bibliotekach pochodnych trimetylsilylowych. Dopiero po identyfikacji składników aktywnej frakcji będzie możliwe właściwe zinterpretowanie i opublikowanie wyników.

W ekstraktach i selektywnie wzbogaconych w antrazwiązki lub polifenole frakcjach z *Reynoutria sp.* zbadano profil fitochemiczny oraz zbadano właściwości antyoksydacyjne, hamujące prozapalne enzymy oraz zahamowanie glikacji białek. Niektóre z tych frakcji

wykazały stosunkowo silne właściwości hamujące powstawanie zaawansowanych produktów glikacji albumin i mogą być brane pod uwagę w dalszych badaniach jako potencjalne substancje zapobiegające negatywnym fizjologicznym skutkom hiperglikemii. W drodze kolejnych procedur preparatywnych udało się oczyścić kilka aglikonów antrachinonowych oraz mieszaniny tanin skondensowanych i hydrolizujących. Najciekawszym efektem prac izolacyjnych jest otrzymanie z kłączy *R. sachalinensis* siedmiu rzadko spotykanych w roślinach i bardzo słabo przebadanych glikozydów hydroksycynamonowych – estrów sacharozy. Są to związki charakterystyczne dla *Polygonaceae*, ale w tym materiale stanowią główne składniki polifenolowe. W tym zakresie, *R. sachalinensis* odróżnia się od *R. japonica*, który zawiera niewiele tych związków. Mogą więc one stanowić marker chemotaksonomiczny. Profil fitochemiczny *R. japonica* charakteryzuje się dominacją stilbenów, natomiast mieszańcowy *R. x bohemica* w badanych próbkach ma charakter pośredni, dzięki czemu stanowi dobre źródło zarówno stilbenów, jak i antraglikozydów, garbników, flawanoli oraz właśnie glikozydów hydroksycynamonowych. Jeden ze związków otrzymanych z *R. sachalinensis* nie był wcześniej wymieniany w dostępnej literaturze i może być uznany za nowy związek chemiczny. Jest to acetylowana pochodna wanikozydu A, a procedura jej otrzymywania, dane spektralne i fizykochemiczne oraz metoda analizy ilościowej będą przedmiotem przygotowywanej publikacji.

Badania bioaktywności poszczególnych ekstraktów, frakcji oraz oczyszczonych związków pozwalają przypisać dominującą rolę jako antyoksydantów i inhibitorów glikacji właśnie polifenolom. Jednak u trzech różnych gatunków inne z nich determinują te właściwości – u *R. japonica* glikozydy stilbenowe i w pewnym stopniu flawan-3-ole, u *R. sachalinensis* hydroksycynamonowe estry sacharozy (w tym nowo opisany związek), natomiast wszystkie te grupy u mieszańca. Przypuszczalnie, mieszaniec może wykazywać korzystne właściwości biologiczne dzięki unikatowej kombinacji tych metabolitów. Potwierdza to wybitna aktywność antyglikacyjna niektórych frakcji z *R. x bohemica*. Dla opisanego dokładnego wkładu poszczególnych składników oraz zbadania ewentualnych synergii będzie niezbędne otrzymanie tych związków na większą skalę celem przeprowadzenia odpowiednich eksperymentów na odpowiednio dobranych mieszaninach, rekonstruujących proporcje w ekstraktach.

Badania potencjału allelopatycznego metabolitów wtórnych

W badaniach laboratoryjnych przeprowadzonych z użyciem biotestu I generacji, porównywano potencjał allelopatyczny wyciągów wodno-alkoholowych oraz wodnych uzyskanych z suchej masy kłączy i korzeni oraz łodyg i liści nawłoci olbrzymiej (*Solidago gigantea*) oraz rdestowca ostrokończystego (*Reyonutria japonica*). Akceptorami były dwa gatunki chwastów: jednoliścienny *Echinochloa crus-galli* oraz dwuliścienny *Amaranthus retroflexus*. Uzyskane wyniki badań wskazują na efekt inhibicyjnego oddziaływania wyciągów wodno-alkoholowych sporządzonych z nadziemnych części roślin (liści i łodyg) nawłoci olbrzymiej (*S. gigantea*) oraz rdestowca ostrokończystego (*R. japonica*) w odniesieniu do suchej masy chwastnicy jednostronnej (*E. crus-galli*) oraz szarłatki szorstkiej (*A. retroflexus*). Wielkość redukcji suchej masy akceptorów uzależniona była od stężenia wyciągów sporządzonych z roślin donorowych. Najskuteczniejsze w działaniu (redukcji s.m.) okazały się dwa stężenia: 12,5% oraz 10,0%. Jedynie w odniesieniu do wyciągów wodnych sporządzonych z suchej masy kłączy i korzeni oraz łodyg i liści rdestowca ostrokończystego (*R. japonica*) stwierdzono efekt stymulacji w stosunku do suchej masy chwastnicy

jednostronnej (*E. crus-galli*) oraz szarłatu szorstkiego (*A. retroflexus*), niezależnie od zastosowanego stężenia wyciągu. Natomiast wyciągi wodne sporządzone z kłączy i korzeni nawłoci olbrzymiej (*S. gigantea*), niezależnie od stężenia, spowodowały zwiększenie suchej masy dwóch akceptorów chwastnicy jednostronnej (*E. crus-galli*) oraz szarłatu szorstkiego (*A. retroflexus*). Ponadto wyciągi otrzymane z liści i łodyg nawłoci olbrzymiej (*S. gigantea*), niezależnie od zastosowanego stężenia, spowodowały spadek suchej masy jednego akceptora - chwastnicy jednostronnej (*E. crus-galli*).

Tą samą metodą oceniono również aktywność stężonych wyciągów alkoholowych oraz wodnych uzyskanych z suchej masy kłączy i korzeni oraz łodyg i liści nawłoci olbrzymiej (*Solidago gigantea*) i nawłoci kanadyjskiej (*Solidago canadensis*) oraz rdestowca ostrokończystego (*Reynoutria japonica*) i rdestowca sachalińskiego (*Reynoutria sachalinensis*). Stężone wyciągi z roślin donorowych były rozpuszczane w trzech solventach: zwykła woda, woda poddana działaniu niskotemperaturowej plazmy oraz woda z dodatkiem adiuwanta. Akceptorami były trzy gatunki chwastów dwuliścienny *Chenopodium album*, *Papaver rhoeas* oraz *Agrostemma githago*. Uzyskane wyniki badań wskazują na efekt inhibicyjnego oddziaływania ekstraktów alkoholowych oraz wodno-alkoholowych rozpuszczonych w wodzie z dodatkiem adiuwanta, a uzyskanych zarówno z nawłoci olbrzymiej (*Solidago gigantea*), jak i nawłoci kanadyjskiej (*Solidago canadensis*) w odniesieniu do suchej masy kąkol polnego (*A. githago*) i komosy białej (*Ch. Album*). Natomiast ekstrakty rozpuszczone w pozostałych dwóch rozpuszczalnikach, tj. woda oraz woda poddana działaniu niskotemperaturowej plazmy, powodowały stymulację (zwiększenie suchej masy) głównie maku polnego (*P. rhoeas*). Ekstrakty alkoholowe oraz wodno-alkoholowe uzyskanych zarówno z rdestowca ostrokończystego (*R. japonica*) jak i rdestowca sachalińskiego (*R. sachalinensis*) i rozpuszczone w wodzie z dodatkiem adiuwanta lub w zwykłej wodzie oraz w wodzie poddanej działaniu niskotemperaturowej plazmy, powodowały stymulację (zwiększenie suchej masy) głównie komosy białej (*Ch. Album*). Redukcję suchej masy dla wariantu z rozpuszczalnikiem w postaci zwykłej wody (niezależnie od stężenia ekstraktu) stwierdzono dla kąkol polnego (*A. githago*) ale dla ekstraktów uzyskanych z rdestowca ostrokończystego (*R. japonica*). Również redukcję suchej masy stwierdzono dla akceptora którym był mak polny (*P. rhoeas*) ale dla wariantu z rozpuszczalnikiem w postaci wody poddanej działaniu niskotemperaturowej plazmy (niezależnie od stężenia ekstraktu i gatunku rdestowca).

Występowanie rdestowców i nawłoci

W warunkach Dolnego Śląska obserwuje się występowanie trzech gatunków z rodzaju rdestowiec (*Reynoutria* Houtt.):

- rdestowiec ostrokończysty (*Reynoutria japonica* Houtt.)
- rdestowiec sachaliński (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai)
- rdestowiec czeski (*Reynoutria × bohémica* Chrtek & Chrtkova)

oraz dwa gatunki z rodzaju nawłoc (*Solidago* L.):

- nawłoc kanadyjska (*Solidago canadensis* L.)
- nawłoc późna (*Solidago gigantea* Aiton)

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można stwierdzić, że rdestowce często występują na terenach zurbanizowanych (miasta, wsie). Na tych obszarach rosną głównie na przydrożach, w okolicach zabudowań, co może świadczyć o tym, że są to „uciekierzy” z ogrodów przydomowych, w których rdestowce bywały uprawiane jako rośliny ozdobne. Obecnie ta ich rola jest marginalna. Poza obszarami zabudowanymi rdestowce występują

głównie na poboczach dróg i torów kolejowych, na skrajach lasów, rzadziej na odłogach. W wielu miejscach spotyka się rdestowce porastające brzegi rzek i strumieni.

Jeśli chodzi o udział gatunkowy, to można stwierdzić, że na badanym terenie zdecydowanie dominuje rdestowiec ostrokończysty (*Reynoutria japonica* Houtt.) – obecny w ponad 70% przypadków, rzadziej notowano rdestowiec sachaliński (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai) – w ok. 25%, a zupełnie sporadycznie rdestowiec czeski (*Reynoutria × bohemica* Chrtek & Chrtkova).

W przypadku nawłoci, na podstawie wykonanych obserwacji można stwierdzić, że na terenie Dolnego Śląska zarówno nawłóć kanadyjska, jak i nawłóć późna występują podobnie licznie, z nieznaczną przewagą na korzyść tego pierwszego gatunku. Na wielu stanowiskach obydwie z tych gatunków mogą występować równocześnie, choć w bardzo różnym nasileniu (zdecydowana przewaga jednego z gatunków). Preferowanymi przez nawłocie stanowiskami są doliny rzeczne, odłogi, nieużytki, miedze, siedliska okrajkowe oraz przydroża. Przeprowadzone obserwacje w kilku przypadkach wykazały występowanie gatunków z rodzaju nawłóć (*Solidago* sp.) na polach uprawnych, jako chwastu w kukurydzy, łubinie żółtym, jęczmieniu jarym i facelii. Pola te sąsiadowały z obszarami porośniętymi nawłocią lub były to przywrócone do uprawy były odłogi.

Zwalczanie rdestowców i nawłoci

Wśród aktualnie dopuszczonych do stosowania herbicydów nie ma żadnego, który byłby zalecany do zwalczania któregośkolwiek występującego w Polsce gatunku z rodzaju rdestowiec (*Reynoutria* sp.) i nawłóć (*Solidago* sp.). Pomimo tego często zdarza się, że występujące w niepożądanych miejscach rdestowce i nawłocie są opryskiwane nieselektywnymi herbicydami, zawierającymi jako substancję czynną glifosat, niestety takie działania są nieskuteczne.

Pomimo początkowych sukcesów, gdy skuteczność niszczenia roślin rdestowców w okresie od 2 do 8 tygodni po oprysku dochodzi do 63-74% (zależnie od gatunku), a wraz z upływem czasu następuje ich odrastanie z części podziemnych. Po 5 miesiącach od wykonania zabiegu herbicydowego obserwowano odrastanie 92-98% roślin, czyli osiągnięto zbliżony stan jak przed wykonaniem oprysku. Równie mało skuteczne były zabiegi wykonane środkiem zawierającym flazasulfuron oraz mieszaniną flazasulfuron+glifosat (zabieg jednorazowy). Nieco lepiej eliminował rdestowce dwukrotny zabieg tą mieszaniną – maksymalne zniszczenie 85-88% i odrastanie na poziomie 27-33%. Najlepsze rezultaty obserwowano, gdy rdestowce opryskano mieszaniną herbicydów zawierających trzy substancje aktywne – chlopyralid, fluroksypyr i trichlpyr. Po upływie 8 tygodni od oprysku 95-96% roślin zostało zniszczonych, natomiast po 5 miesiącach od zabiegu jedynie 6-9% roślin odrastało z organów podziemnych. Zastosowanie koszenia pozwalało w przypadku tego herbicydu obniżyć dawkę środka o 20%.

Metody mechaniczne, polegające na koszeniu roślin rdestowców są nieefektywne, gdyż ograniczają jedynie w niewielkim stopniu wzrost roślin, nie powodując ich zniszczenia. Mogą być stosowane doraźnie i interwencyjnie, aby ograniczyć ich ekspansję.

Również nawłocie najskuteczniej zwalczane były przez herbicyd będący mieszaniną chlopyralidu, fluroksypyr i trichlpyru. Efektywność zwalczania dochodziła do 99%. Także i w tym przypadku odrastanie roślin było najniższe i nie przekraczało 4%. Pozostałe badane kombinacje były zdecydowanie mniej skuteczne, zwłaszcza jeśli chodzi o hamowanie odrastania roślin nawłoci.

Zarówno glifosat, jak i mieszanina MCPA + dikamba pomimo początkowej wysokiej skuteczności zabiegu (do 90%), nie zapewniały hamowania odrastania, które po upływie 3-5 miesięcy

osiągnęło poziom nieakceptowalny (51-68%). Wyjątkiem był obiekt, na którym najpierw wykonano koszenie, a potem zastosowano mieszaninę MCPA + dikamba, gdzie odrastanie nie przekroczyło 26%.

Metody mechaniczne, polegające na koszeniu roślin nawłoci są bardziej skuteczne niż w przypadku rdestowców. Co prawda zabieg dwukrotny był mało efektywny, gdyż początkowo eliminował 86%, lecz po 5 miesiącach odrastanie było wysokie i wynosiło 60%, natomiast czterokrotne koszenie zapewniało 92% skuteczność do 8 tygodni, a odrastało jedynie 20% roślin.

Analiza pozostałości herbicydów w materiale roślinnym

W większości analizowanych próbek, pobranych 3-4 miesiące po aplikacji herbicydu, stwierdzono obecność pozostałości. W przypadku nawłoci były to MCPA i dikamba, natomiast u rdestowców trichlopyr i fluoroksypyr. Poziom pozostałości w części podziemnej roślin był wyższy niż w części nadziemnej, i wahał się w następujących granicach:

- dla nawłoci – MCPA 0,005-0,007 mg/kg (w pędzie) i 0,010-0,012 mg/kg (w korzeniu), dikamba 0,003-0,004 mg/kg (w pędzie) i 0,006-0,008 mg/kg (w korzeniu),
- dla rdestowców – trichlopyr – 0,006-0,008 mg/kg (w pędzie) i 0,010-0,014 mg/kg (w korzeniu), fluoroksypyr – 0,004-0,006 mg/kg (w pędzie) i 0,009-0,010 mg/kg (w korzeniu).

Najwyższe stężenia tych substancji odnotowano jednak w glebie: MCPA – 0,018-0,020 mg/kg, dikamba – 0,010-0,012 mg/kg, trichlopyr – 0,019-0,022 mg/kg oraz fluoroksypyr – 0,016-0,018 mg/kg.

Obniżenie dawki herbicydu i zastosowanie koszenia roślin wpłynęło na obniżenie stężenia występujących pozostałości we wszystkich rodzajach próbek.

Kolejność wykonywania zabiegów miało wpływ na poziom pozostałości we wszystkich rodzajach próbek. W wariacie, w którym najpierw zastosowano herbicyd, a następnie wykonano koszenie, pozostałości MCPA i dikamby oraz trichlopyru i fluoroksypyr były najniższe

W próbkach gleby oraz roślin nawłoci i rdestowców (części podziemne i nadziemne), pobranych rok po aplikacji herbicydu, nie stwierdzono pozostałości badanych substancji aktywnych.

Zrealizowane cele projektu

1. Potwierdzenie hipotezy, że rozpowszechnione gatunki inwazyjne, takie jak *Solidago gigantea*, *S. canadensis* oraz *Reynoutria japonica*, *R. sachalinensis*, mogą zawierać cenne metabolity biologicznie czynne, które można pozyskiwać z surowca uzyskanego w czasie zabiegów pielęgnacyjnych zmierzających do ograniczenia występowania tych taksonów.
2. Wykazanie właściwości hamujących mutagenność czynników chemicznych i stresu oksydacyjnego, szczególnie niektórych frakcji z korzeni nawłoci, czyli surowca praktycznie nieopisanego do tej pory.
3. Otrzymanie oczyszczonych frakcji i/lub wyizolowanych metabolitów fenylopropanowych, które zostały zidentyfikowane oraz ocena ich silnych właściwości metodami in vitro.
4. Wykonanie ekstraktów z materiału roślinnego *Reynoutria sp.* i *Solidago sp.* i porównanie zawartości metabolitów wtórnych z różnych klas fitochemicznych.
5. Przygotowanie standaryzowanych preparaty do badań aktywności biologicznej.
6. Opracowanie metody oznaczania saponin w *Solidago sp.*

7. Chromatograficzna identyfikacja i oznaczenie zawartość substancji aktywnych – składników ekstraktów nawłoci i rdestowca.
8. Określenie struktury 21 wyizolowanych związków: kwasów fenolowych, flawonoidów, stilbenów, antrachinonów i saponin za pomocą jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR) oraz spektrometrii mas (MS).
9. Badanie allelopatycznego wpływu wyciągów z gatunków z rodzaju *Reytonuria sp.* i *Solidago sp.*, w zależności od rodzaju surowca, użytego rozpuszczalnika oraz gatunku akceptora.
10. Określenie występowanie oraz zasobów surowca gatunków z rodzaju *Reytonuria sp.* i *Solidago sp.*
11. Opracowanie metod ograniczania wzrostu i zwalczania gatunków inwazyjnych z rodzajów *Solidago* i *Reynoutria*.

Osiągnięcia

1. Izolacja fitozwiązków z materiału roślinnego *Reytonuria sp.* i *Solidago sp.*
2. Opracowanie metody ilościowego oznaczania biologicznie czynnych związków zawartych w obu badanych gatunkach roślinnych.
3. Przygotowanie wystandaryzowanych preparatów biologicznych przeznaczonych do badań nad aktywnością allelopatyczną.
4. Zbadanie zahamowania glikacji albumin in vitro i stwierdzenie silnych właściwości niektórych frakcji z kłączy rdestowców.
5. Uzyskanie 7 unikatowych, specyficznych dla rodziny rdestowatych estrów sacharozy i fenolokwasów (w tym jeden nowy związek będący acetylowaną pochodną), stilbeny - resweratrol i piceid oraz procyjanidynę B1.
6. Opisanie wyraźnych różnic w profilu metabolitów fenolowych pomiędzy badanymi gatunkami. W odniesieniu do *Solidago sp.*, różnice obejmowały glikozydy flawonole (kwercetyna i kemferola) natomiast profil kwasów kawoilochinowych był podobny, zdominowany przez kwas chlorogenowy.
7. Ustalenie możliwości skutecznego zwalczania rdestowców i nawłoci za pomocą mieszaniny chlopyralidu, fluoksypiry i trichlpyru.
8. Wykazanie inhibicyjnego lub stymulującego wpływu wyciągów z badanych gatunków roślin, w zależności od rodzaju surowca i rozpuszczalnika oraz gatunku akceptora.

Wpływ realizowanego projektu na dyscyplinę

Realizacja projektu przyczyniła się do znacznego poszerzenia wiedzy na temat metabolomu rdestowców sachalińskiego i japońskiego oraz nawłoci kanadyjskiej i późnej. O ile związki występujące w tych roślinach były znane i scharakteryzowane pod względem budowy chemicznej i strukturalnej, to nie były one scharakteryzowane pod względem ich całkowitej zawartości w poszczególnych gatunkach. Przeprowadzone badania wykazały również, że biomasa rdestowców może być doskonałym i niemal niewyczerpanym źródłem surowca do pozyskiwania unikatowych i cennych substancji bioaktywnych.

W przypadku *Reynoutria japonica* i *R. sachalinensis* wyizolowanie nieznanych pochodnych oraz - opisywanych w innych gatunkach z rodziny *Polygonaceae* - fenylopropanoidowych estrów sacharozy, rozszerza dotychczasowe perspektywy badań farmakologicznych i allelopatycznych, w tym także o efekty in vivo oraz mechanizmy działania i zależność aktywności od struktury (SAR). Z kolei w odniesieniu do *Solidago*

canadensis i *S. gigantea*, można stwierdzić, że znajdujące się w nich metabolity polifenolowe, choć były opisane wcześniej w częściach nadziemnych, to wykonane przesiewowe badania *in vitro* wykazały potrzebę rozwijania badań w kierunku potencjalnych właściwości antygenotoksycznych substancji chemoprewencyjnych, pozyskiwanych z mało dotąd wykorzystywanych i słabo poznanych składników części podziemnych.

Zarówno w przypadku rdestowców, jak i nawłoci do racjonalnego i planowego wykorzystania ogromnych zasobów biomasy, jako źródła substancji profilaktycznych i leczniczych niezbędne jest współdziałanie nauk farmaceutycznych z rolniczymi wraz z botaniczną identyfikacją materiału roślinnego.

Ponadto realizacja projektu umożliwiła wykazanie inhibicyjnego lub stymulującego wpływu wyciągów z badanych gatunków roślin, w zależności od rodzaju surowca i rozpuszczalnika oraz gatunku akceptora. Działania takie poszerzają wiedzę z zakresu agronomii i ochrony roślin. Wyniki te mogą i powinny być wykorzystywane w dalszych badaniach dwutorowo. W przypadku stwierdzonej inhibicji w kierunku stworzenia naturalnego bioherbicydu, natomiast działanie stymulujące jako naturalny biostymulator roślin uprawnych.

Upowszechnianie wyników projektu badawczego

Prezentacja na konferencjach naukowych:

1. Nawrot I., Sokołowski P., Topolski J., Ślusarczyk S., Kucharski M., Hadzik J., Matkowski A. Anthraquinones in the invasive species of Fallopia, 3rd International Conference and Workshop "Plant - the source of research material", Lublin, Poland, 16th-18th October 2013 (Poster)
2. Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S., Topolski J., Kucharski M., Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A., Woźniak D. Anthraquinones in the invasive giant knotweeds (*Fallopia* sp.- polygonaceae) from Poland 11th International Ethnobotany Symposio. Antalya, Turkey, November 2-5, 2013 (Poster)
3. Nawrot I., Sokołowski P., Ślusarczyk S., Topolski J., Kucharski M., Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A. Antrachinony w inwazyjnych gatunkach rodzaju Fallopia. III Krajowa Konferencja "Naturalne substancje roślinne aspekty strukturalne i aplikacyjne", Puławy, 4-6 września 2013 (Poster)
4. Jezierska-Domaradzka A., Woźniak D., Szumera M., Domaradzki K., Nowak M., Matkowski A. Comparison of anti-oxidative and anti-mutagenic activity of *Solidago gigantea* Ait and *Solidago canadensis* L. (Asteraceae). 8th CMAPSEEC - Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Durrës, Albania, 19-22 May 2014 (Poster)
5. Nawrot I., Matkowski A., Kurz K., Hadzik J., Domaradzki K. Antioxidant activity of polyphenols from *Polygoni cuspidati* rhizoma. 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products "The application of analytical methods for the development of natural products". Lublin, Poland, 26-29 May 2014 (Poster)
6. Nowak M., Jezierska-Domaradzka A., Szumera M., Domaradzki K., Matkowski A., Woźniak D. Anti-oxidative activity of Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.). I

Miżnarodnoï Naukovo-Praktyčnoï Konferencii "Teoretyčni aspekty doslidžennâ likars'kih roslyn". Harkiv, Ukraïna, 20-21 bereznâ 2014 roku (Poster)

7. Szumera M., Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Nowak M., Matkowski A., Woźniak D. Comparison of anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-mutagenic activity of *Solidago gigantea* Ait and *Solidago canadensis* L. (Asteraceae). I Miżnarodnoï Naukovo-Praktyčnoï Konferencii "Teoretyčni aspekty doslidžennâ likars'kih roslyn". Harkiv, Ukraïna, 20-21 bereznâ 2014 roku (Poster)

8. Szumera M., Nowak M., Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A., Woźniak D. Comparison of anti-oxidative activity of *Solidago gigantea* Ait and *Solidago canadensis* L. (Asteraceae). The International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy & nutrition 2014". Wrocław, 30th May 2014 (Poster)

9. Nawrot-Hadzik I., Hadzik J., Dominiak M., Gołab K., Gburek J., Matkowski A. Antiglycation and antioxidant properties of polyphenol enriched fractions from Giant knotweeds (*Reynoutria* sp.). International Symposium on Phytochemicals in Medicine and Food (ISPMF). Shanghai, China, 26-29 June 2015 (Referat)

10. Domaradzki K., Badowski M., Sekutowski T.R., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. The problem of effective *Solidago gigantea* aiton chemical control on fallow lands in Poland. "Weed plants and methods of their harmfulness decrease" The International Scientific Conference dedicated to N.I. Protasov and K.P. Padenov. Minsk - Priluki, Bielarus, 30 June - 3 July 2015 (Referat)

11. Domaradzki K., Badowski M., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. The attempts of expansion limiting by *Fallopia japonica* Houtt. on fallow lands in Poland. "Weed plants and methods of their harmfulness decrease" The International Scientific Conference dedicated to N.I. Protasov and K.P. Padenov. Minsk - Priluki, Bielarus, 30 June - 3 July 2015 (Referat)

12. Matkowski A., Jezierska-Domaradzka A., Nawrot I., Domaradzki K., Gołab K., Dołowacka A., Gburek J., Ślusarczyk S., Woźniak D. Noxious but useful - invasive plants as source of bioactive compounds. The case of *Fallopia* and *Solidago*. 4th International Conference and Workshop "Plant - the source of research material". Lublin, 20-23 września 2015 (Referat)

13. Matkowski A., Nawrot-Hadzik I., Woźniak D., Jezierska-Domaradzka A., Granica S., Dołowacka A., Gołab K., Gburek J., Domaradzki K. Alien Herbs – on the potential of noxious neophytes as source of bioactive substances. IUBMB Modern Biotechnologies in Sustainable Development of the Danube Delta Conference, 31 May–2 June 2016, Murighiol, Tulcea, Romania (Referat plenarny)

14. Domaradzki K. (66%), Badowski M., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. Próba skutecznego zwalczania gatunków inwazyjnych na gruntach odłogowanych na przykładzie rdestowca sachalińskiego (*Fallopia sachalinensis*) i nawłoci kanadyjskiej (*Solidago canadensis*). 55. Sesja Naukowa IOR – PIB, Streszczenia, Poznań 12-13 lutego 2015 r. (Referat)

15. Domaradzki K. (66%), Badowski M., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. Chemiczne zwalczanie chwastów inwazyjnych na gruntach odłogowanych na przykładzie gatunków z rodzaju *Fallopia* i *Solidago*. VI Konferencja Naukowa Polskiego Towarzystwa Agronomicznego „Badania i innowacje w produkcji roślinnej”, Kraków 17-18 września 2015 r. (Referat)

16. Rośliny inwazyjne – zło konieczne czy źródło surowców leczniczych na przykładzie gatunków z rodzaju *Reynoutria* Houtt. i *Solidago* L. 4. Konferencja z cyklu „Lek roślinny - historia i współczesność”, Zachełmie/k. Karpacza 21-22 kwietnia 2015 r. (Referat)

17. Wpływ rodzaju rozpuszczalnika na aktywność biologiczną wyciągu alkoholowego i wodnego uzyskanego z *Solidago gigantea* na produkcję biomasy przez *Papaver rhoeas*. XL Międzynarodowe Seminarium Naukowo-Techniczne „Chemistry for Agriculture”, Karpacz 29 listopada – 2 grudnia 2015 r. (Referat)

Publikacje w ramach projektu

rozdziały w publikacjach książkowych

Jezierska-Domaradzka A., Domaradzki K., Matkowski A. Rośliny inwazyjne – zło konieczne czy źródło surowców leczniczych? Na przykładzie gatunków z rodzaju *Reynoutria* Houtt. i *Solidago* L. [w:] Lek roślinny, t. 4. Produkty pochodzenia roślinnego w lecznictwie, dietetyce, kosmetyce, ekonomice i kulturze popularnej. Red. Płonka-Syroka B., Płonka A., Wydawnictwo Quaestio Przemysław Włodarczyk, Wrocław 2015: 177-186

teksty w publikacjach pokonferencyjnych

Moldoch J., Domaradzki K., Kucharski M., Stochmal A. Izolacja i identyfikacja substancji biologicznie czynnych z kłącza rdestowca *Fallopia sachalinensis*. X Konferencja Chromatograficzna "Chromatografia - niezbędne narzędzie w nauce i technice". Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, 23-26 września 2014.

Jezierska-Domaradzka A., Woźniak D., Szumera M., Domaradzki K., Nowak M., Matkowski A. Comparison of anti-oxidant and anti-mutagenic activity of *Solidago gigantea* Ait. and *Solidago canadensis* L. (Asteraceae). 8th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Academy of Sciences of Albania, Durres, Albania, 19-21 maja 2014: 115.

Domaradzki K., Badowski M., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. The attempts of expansion limiting by *Fallopia japonica* Houtt. on fallow lands in Poland. Weeds plants and methods of their harmfulness decrease: International Scientific Conference dedicated to N.I. Protasov and K.P. Padenov's memory, Minsk, Bielarus, June 30th – July 3rd, 2015: 46-48

Domaradzki K., Badowski M., Sekutowski T.R., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. The problem of effective *Solidago gigantea* Aiton chemical control on fallow lands in Poland. Weeds plants and methods of their harmfulness decrease: Theses International Scientific Conference dedicated to N.I. Protasov and K.P. Padenov's memory, Minsk, Bielarus, June 30th – July 3rd, 2015: 48-50

Domaradzki K., Badowski M., Jezierska-Domaradzka A., Matkowski A., Stochmal A. Chemiczne zwalczanie chwastów inwazyjnych na gruntach odłogowanych na przykładzie gatunków z rodzaju Fallopia i Solidago. VI Konferencja Naukowa Polskiego Towarzystwa Agronomicznego „Badania i innowacje w produkcji roślinnej”, Kraków 17-18 września 2015 r.: 33