

# REVISTA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VOLUME XXX

N.º 1 / JANEIRO - JUNHO

2007

**JORNADAS DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS MEDITERRÂNEAS (ICAM)**

“Inovação Tecnológica  
nos Sistemas Agrícolas Mediterrânicos”

**SOCIEDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DE PORTUGAL**

Fundada em 1903

Lisboa — Portugal

# Metabolitos secundários como fontes de bioherbicidas: situação actual e perspectivas

## Secondary metabolites as sources of bioherbicides: present situation and perspectives

L.S. Dias<sup>1</sup> & A.S. Dias<sup>1</sup>

### RESUMO

Metabolitos secundários produzidos e libertados por plantas, bactérias e fungos estão envolvidos numa variedade de processos ecológicos, nomeadamente como semioquímicos e alelopatinos. Adicionalmente, e para além das suas possíveis funções ecológicas, muitos dos metabolitos secundários são fitotóxicos, constituindo uma fonte relativamente inexplorada de novos herbicidas.

*Solanum nigrum* (erva-moira) é uma infestante importante e muito bem sucedida num grande número de culturas, nomeadamente hortícolas e será usada como exemplo principal das utilizações actuais de aleloquímicos vegetais bem como das perspectivas de utilização deste tipo de compostos como bioherbicidas.

Nesse âmbito revêem-se as principais estratégias de pesquisa de bioherbicidas e apresenta-se o estado da arte dos modos de acção de aleloquímicos já comercializados como herbicidas (Bialaphos e PPT), patenteados (AAL-toxina) e em investigação, quer produzidos por plantas superiores (sorgoleona e derivados do cineol) quer de origem bacteriana (hidantocidina) e fúngica (fumonisinas, coletotriquina).

### ABSTRACT

Secondary metabolites produced and released by plants, bacteria, and fungi are involved in a number of ecological processes, namely as semiochemicals and allelopathins. In addition, and beside their possible ecological roles, a greater number of secondary metabolites are phytotoxic and represent a relatively unexplored source of new herbicides.

*Solanum nigrum* (black nightshade) is an important and successful weed in many crops, namely in horticulture, and will be used as a major example of actual and prospective uses of phytoallelochemicals as bioherbicides.

Therefore, the main strategies for bioherbicides search are reviewed and the state of art of the modes of action of allelochemicals is presented, including those already in use as herbicides (Bialaphos and PPT), patented (AAL-toxin), and under investigation, whether produced by plants (sorgoleone and cineol derivatives), bacteria (hydantocidin) or fungi (fumonisins and colletotrichin).

<sup>1</sup> Chemical Ecology Unit, Centro de Ecologia e Ambiente, Universidade de Évora, Ap. 94, 7002-554 Évora; e-mail: lsdias@uevora.pt

## INTRODUÇÃO

Além dos metabolitos envolvidos em processos biológicos fundamentais, primários, as plantas, bactérias e fungos produzem um grande número de compostos, ditos secundários por não se lhes reconhecer qualquer função no metabolismo primário (Bell, 1981). Embora possam desempenhar funções importantes na regulação dos organismos que os produzem (Harborne, 1980; Mothes, 1980; Swain, 1977), é-lhes atribuído um papel importante sobretudo como semioquímicos (Barata *et al.*, 2002) e alelopatinos (Bais *et al.*, 2003).

A relevância ecológica dos metabolitos secundários não está em muitos casos demonstrada mas a sua fitotoxicidade está bem estabelecida, pelo que podem constituir uma fonte importante de novos herbicidas, quer para uso directo quer como modelos moleculares para a síntese de novos agroquímicos (Zimdahl, 1993).

Neste âmbito, apresentam-se as principais estratégias de pesquisa de bioherbicidas e perspectivas de aplicação usando como exemplo *Solanum nigrum* L. (erva-moira), uma infestante importante em muitos países, extremamente competitiva em muitas culturas na Península Ibérica (Holm *et al.*, 1977; Williams, 1982). Entre outras características que explicam o seu sucesso como infestante destaca-se a perda de sensibilidade a vários herbicidas após as 4-6 folhas (Bassett & Munro, 1985; Weller & Phipps, 1978/1979), com as triazinas, inibidoras do fotossistema II, a constituírem provavelmente os herbicidas mais efectivos para o controlo de *S. nigrum* (Weller & Phipps, 1978/1979). No entanto, resistência a triazinas foi registada em França em 1979 e desde então num número crescente de países e em 1999, na Malásia, também ao paraquat, activo no fotossistema I (Heap, 2005).

## PESQUISA DE BIOHERBICIDAS

Um dos principais atractivos dos metabolitos secundários reside na possibilidade de conseguir novas moléculas para novos alvos moleculares, alternativos aos dos actuais herbicidas, resultando tanto mais atraentes quanto mais frequentes são as resistências a herbicidas (Duke *et al.*, 2000a,b).

Como exemplo, refira-se o caso da cinmetilina, um herbicida análogo aos monoterpénos naturais 1,4- e 1,8-cineol (eucaliptol) em que a cadeia lateral benzil-éter na posição 2 do 1,4-cineol aparentemente reduz a volatilidade da molécula tornando-a mais apropriada como herbicida (Romagni *et al.*, 2000). O modo de acção da cinmetilina ainda é dado como desconhecido (Heap, 2005) mas há evidências experimentais da cinmetilina ser um pro-herbicida que, por quebra da cadeia lateral, origina 2-hidroxi-1,4-cineol que actua ao nível da asparagina sintetase, que constitui assim um novo alvo metabólico (Romagni *et al.*, 2000).

A pesquisa de compostos do metabolismo secundário com actividade herbicida tem sido geralmente feita através da prospecção de grupos de espécies, cultivares ou acessões, seguida ou não pelo isolamento e identificação dos compostos activos.

Exemplos clássicos de prospecções incluem o estudo de mais de 500 acessões de pepino, com apenas três a inibirem de forma importante o crescimento de *Brassica hirta* e *Panicum miliaceum*, embora com efeitos inconsistentes em condições de campo que desapareciam por completo em períodos de elevada pluviosidade (Lockerman & Putnam, 1979; Putnam & Duke, 1974); a pesquisa de capacidade de produção de escopoletina em mais de 3 000 acessões de germoplasma de *Avena* sp., só com uma das quatro acessões com elevada produção de escopoletina a ter efeito no crescimento de *Brassica kaber* (Fay & Duke,

1977); a pesquisa da fitoactividade em *Helminthia echioides* e *Alopecurus myosuroides* de 141 linhas de *Glycine max*, em que apenas duas linhas reduzem o crescimento da primeira espécie infestante e nenhuma o da segunda (Massantini *et al.*, 1977).

Mais recentemente, investigaram-se 19 arbustos e árvores com apenas duas espécies (*Lavandula stoechas* e *Cistus ladanifer*) fortemente inibitórias *in vitro* da germinação da infestante *Phalaris minor* sem afectar a de *Triticum aestivum*. No entanto, no solo não se observaram quaisquer efeitos na germinação, com as duas espécies a reduzirem o crescimento inicial de *P. minor* e *T. aestivum* (Dias *et al.*, 1995, 2004).

Finalmente, de referir a avaliação dos efeitos de extractos etanólicos de sementes e folhas de 49 espécies na germinação da infestante *Amaranthus spinosus*, seguida pelo fraccionamento do extracto mais potente, identificação e bioensaio da sua fracção mais inibitória. O princípio activo da fracção mais inibitória, 1,3,7-trimetilxantina, inibiu completamente a germinação de *A. spinosus* a 1 200 mg l<sup>-1</sup> sem afectar a germinação de *Phaseolus mungo*. Nesta concentração não houve efeitos apreciáveis na actividade da amilase e nitrato redutase, crescimento e produção de *P. mungo*, mas doses sub-letais para a germinação de *A. spinosus* reduzem a actividade da amilase em cerca de 30% mesmo na presença de GA<sub>3</sub> (Rizvi & Rizvi, 1992).

São claras as insuficiências desta estratégia pelo reduzido número de resultados promissores e perda ou redução da actividade no solo. De forma mais aproximada à pesquisa clássica de herbicidas têm-se também realizado prospecções de compostos, seguida de optimização estrutural de compostos seleccionados, caso de estudos da relação estrutura-actividade de heliananos extraídos de *Helianthus annuus* (Macías *et al.*, 2004).

### Metabolitos produzidos por bactérias (hidantocidina e fosfinotricina)

A hidantocidina foi identificada em culturas de *Streptomyces hygroscopicus* SANK 63584 no âmbito de uma prospecção de novos compostos herbicidas em micróbios. Com uma estrutura única, possui uma ligação espirano entre os grupos ribose e hidantoina, não apresentando qualquer actividade a 1 mg ml<sup>-1</sup> em mais de 30 espécies de bactérias, leveduras e fungos. No entanto, provocou lesões em 80-100% da área de caules e folhas de infestantes anuais e perenes após 14 dias de aplicação a 5 000 ppm a plântulas envasadas crescendo em estufa, com *S. nigrum* a revelar-se uma das espécies mais sensíveis com 95-100% de área lesionada (Nakajima *et al.*, 1991). A hidantocidina é um pro-herbicida que após fosforilação mimetiza o inositol-monofosfato substrato da adenilsuccinato sintetase (Duke *et al.* 2000b). Apesar da preocupação em patentear-la (Harrington & Junk, 1994, 1996), riscos toxicológicos da sua acção na síntese de ácidos nucleicos poderão ter reduzido fortemente o seu interesse comercial (Duke *et al.*, 2000a,b).

*S. nigrum* demonstrou a mesma sensibilidade à hidantocidina que ao glifosato e bialaphos (Nakajima *et al.*, 1991), que actuam respectivamente na EPSP sintase e glutamina sintetase (Heap, 2005). O bialaphos é constituído pela fosfinotricina (PPT), um aminoácido análogo ao ácido L-glutâmico, ligado a dois grupos L-alanil. Isolado de *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygroscopicus*, a PPT foi o primeiro aminoácido natural em que se encontrou um grupo fosfínico. Igualmente um pro-herbicida, o bialaphos é rapidamente hidrolisado em tecidos vegetais por peptidases, libertando a PPT, esta sim fortemente inibidora da actividade da glutamina sintetase (Abbas & Duke, 1995; Hoagland, 2001). De

referir ainda o glufosinato, sal amoniacal sintético da PPT (Hoagland, 2001), não havendo até à data registos de resistência ao bialaphos e glufosinato, derivados da PPT e únicos a actuar na glutamina sintetase (Heap, 2005).

### Metabolitos produzidos por fungos (coletotriquina, fumonisinas e AAL-toxina)

A coletotriquina é uma  $\gamma$ -tirona norditerpénica produzido por espécies do género *Colletotrichum*, que provoca lesões oxidativas em membranas de várias espécies de *Solanum* por meios não directamente relacionados com a fotossíntese, fotobranqueamento, respiração, actividade de ATPases ou manutenção de gradientes protónicos. Adicionalmente parece haver uma interacção de efeitos de tipo sinérgico com a atrazina, embora a acção dos dois compostos não ocorra nos mesmos locais (Duke *et al.*, 1992).

As fumonisinas e a AAL-toxina são micotoxinas originalmente isoladas de, respectivamente, *Fusarium moliniforme* e *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. São alquilaminas hidroxiladas de cadeia longa com duas (fumonisinas) ou uma (AAL-toxina) unidade de ácido carboxílico (Abbas *et al.*, 1993, 1995). A fumonisina B<sub>1</sub> aplicada em gotículas na superfície foliar de *S. nigrum* provocou necroses, inibição de crescimento e morte. No entanto, a sua translocação é reduzida e só ocorre quando aplicada a locais danificados, sugerindo que a fumonisina B<sub>1</sub> tem mobilidade xilémica (Abbas *et al.*, 1999).

No âmbito de uma prospecção de *A. alternata* a AAL-toxina revelou-se como o único composto capaz de afectar *Datura stramonium* tendo sido escolhida para experiências de dose-resposta também em *S. nigrum*. Autólise e manchas necróticas ocorriam nas duas páginas das folhas, com

efeitos em *S. nigrum* a concentrações de AAL-toxina tão baixas como 0.01  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (menos de um terço de folha autolisada) e mais de metade da folha autolisada a 1.56  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (Abbas *et al.*, 1991, 1992, 1993). A AAL-toxina e outras bases esfingóides revelaram-se efectivas na fuga de electrólitos e perda de clorofila em concentrações da ordem dos 20-40 nM. Estudos ultra-estruturais dos efeitos da AAL-toxina em *S. nigrum* revelaram alterações morfológicas nos grana e total desaparecimento de alguns invólucros de cloroplastos após 30 horas. Após 36 horas só as paredes celulares, grãos de amido e grana ainda organizado eram identificáveis. Após 48 horas não havia organelos intactos, só resíduos membranares. Concluiu-se que a AAL-toxina provoca a ruptura do metabolismo dos esfingolípidos conduzindo à morte celular, avançando-se a hipótese dos aumentos da fitosfingosina e esfinganina resultarem da competição da AAL-toxina com a esfingosina e esfinganina N-aceil transferase. De forma consistente com os efeitos ultra-estruturais, observaram-se em discos foliares de *S. nigrum* tratados com AAL-toxina aumentos das fugas de electrólitos sob luz e escuro e perdas de clorofila só sob luz contínua bem como fotobranqueamento sob luz contínua. Tratamentos com AAL-toxina também aumentam os níveis de esfingosina e esfinganina até às 24 horas estabilizando após 48 horas. A sua acumulação, consistente com a inibição da ceramida sintetase, ocorre antes de efeitos ultra-estruturais e fuga de electrólitos, sugerindo que a inibição do metabolismo de esfingolípidos poderia ser responsável pela perda da integridade membranar. No entanto, a dependência da luz do fotobranqueamento mas não da fuga de electrólitos sugere que a perda de clorofila é um processo mais complexo que não depende exclusivamente da integridade membranar (Abbas *et al.*, 1995, 1998b).

A utilização da AAL-toxina, já patenteada (Abbas & Boyette, 1993), fumonisinas, com efeitos muito semelhantes (Abbas & Boyette, 1992; Abbas *et al.*, 1991) e outros inibidores da ceramida sintetase como a australifungina (Abbas *et al.*, 1998a), para controlar *S. nigrum* e outras infestantes terá que ter em consideração a elevada cito-toxicidade e potencial carcinogénico destes compostos (Abbas *et al.*, 1998a,b; Gelderblom *et al.*, 1992).

### Metabolitos produzidos por plantas (sorgoleona)

A sorgoleona é uma *p*-benzoquinona substituída que constitui a maior parte dos exsudados radiculares de sorgo. Extremamente hidrofóbica, a sorgoleona resulta da auto-oxidação natural de di-hidroquinonas relacionadas e muito instáveis (Einhellig & Souza, 1992; Gonzalez *et al.*, 1997; Rimando *et al.*, 1998). Fitoactiva a muito baixas concentrações, da ordem dos 10  $\mu$ M (Czarnota *et al.*, 2001; Einhellig & Souza, 1992; Hejl & Koster, 2004), inibe fortemente a respiração mitocondrial bloqueando o fluxo de electrões no complexo citocrómico *b-c*<sub>1</sub> (Rasmussen *et al.*, 1992) bem como o transporte de electrões por competição com a plastoquinona pelo nicho Q<sub>B</sub> do fotossistema II (Czarnota *et al.*, 2001; Gonzalez *et al.*, 1997; Rimando *et al.*, 1998). A actividade da sorgoleona no fotossistema II é similar à de herbicidas como o diuron, atrazina e metribuzina (Nimbal *et al.*, 1996) mas em geral não há interacção entre os efeitos da sorgoleona e o de inibidores sintéticos do fotossistema II ou a interacção não se ajusta ao modelo aditivo e, portanto, poderão ocorrer modos de acção diferentes no nicho de ligação Q<sub>B</sub> (Streibig *et al.*, 1999).

A sorgoleona também inibe fortemente a *p*-hidroxifenilpiruvato dioxigenase, interrompendo a síntese de carotenóides, que

constitui um alvo recente de acção para herbicidas como a sulcotriona e mesotriona (Meazza *et al.*, 2002), para os quais ainda não se registaram casos de resistência (Heap, 2005).

No entanto, a sorgoleona fornecida em solução nutritiva não afectou a fotossíntese, levantando dúvidas substanciais sobre a sua real translocação para tilacóides depois de ser tomada por raízes (Hejl & Koster, 2004). Em contrapartida, em *Solanum* sp. aplicações foliares pós-emergência de sorgoleona dissolvida em água com acetona a 0.6 Kg ai/ha afectou o crescimento da parte aérea e provocou clorose severa seguida de necrose semelhante à produzida pela atrazina e diuron (Czarnota *et al.*, 2001).

### PERSPECTIVAS

A pesquisa de metabolitos secundários como fonte de bioherbicidas além de eventuais vantagens ambientais, tem como principal atractivo a possibilidade de aumentar o número ainda relativamente reduzido de locais de acção de herbicidas. Nesse sentido, as pequenas quantidades produzidas naturalmente por plantas sugerem que a reorientação da pesquisa para bactérias e fungos que se tem verificado nos últimos anos poderá ser um passo importante. Adicionalmente, são de considerar alternativas à sequência habitual bioensaio-identificação já que, com frequência, estes estudos conduzem a compostos com actividade já conhecida. Nesse sentido foi recentemente proposta uma abordagem alternativa, em grande parte dependente da existência de bases de dados de bioactividade permanentemente actualizadas, em que o primeiro passo é a elucidação estrutural recorrendo a combinações de cromatografia gasosa e líquida com espectrometria de massa e de cromatografia líquida com ressonância

magnética nuclear, com os bioensaios de fitoactividade a serem realizados só em moléculas novas ou de actividade ainda desconhecida (Duke *et al.*, 2000a).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, H.K. & Boyette, C.D. 1992. Phytotoxicity of fumonisin B<sub>1</sub> on weed and crop species. *Weed Technology*, **6**: 548-552.
- Abbas, H.K. & Boyette, C.D. 1993. Biological control of weeds using AAL-toxin. United States Patent Number 5,256,628, dated October 26, 1993.
- Abbas, H.K. & Duke, S.O. 1995. Phytotoxins from plant pathogens as potential herbicides. *Journal of Toxicology – Toxin Reviews*, **14**: 523-543.
- Abbas, H.K., Boyette, C.D., Hoagland, R.E. & Vesonder, R. F. 1991. Bioherbicidal potential of *Fusarium moliniforme* and its phytotoxin, fumonisin. *Weed Science*, **39**: 673-677.
- Abbas, H.K., Smeda, R.J., Gerwick, B.C. & Shier, W.T. 1999. Fumonisin B<sub>1</sub> from the fungus *Fusarium moliniforme* causes contact toxicity to plants: evidence from studies with biosynthetically labelled toxin. *Journal of Natural Toxins*, **8**: 405-420.
- Abbas, H.K., Vesonder, R.F., Boyette, C.D. & Peterson, S. W. 1993. Phytotoxicity of AAL-toxin and other compounds produced by *Alternaria alternata* to jimsonweed (*Datura stramonium*). *Canadian Journal of Botany*, **71**: 155-160.
- Abbas, H.K., Duke, S.O., Merrill Jr, A.H., Wang, E. & Shier, W.T. 1998a. Phytotoxicity of australli-fungin, AAL-toxins and fumonisin B<sub>1</sub> to *Lemna paucicostata*. *Phytochemistry*, **47**: 1509-1514.
- Abbas, H.K., Duke, S.O., Paul, R.N., Riley, R.T. & Tanaka, T. 1995. AAL-toxin, a potent natural herbicide which disrupts sphingolipid metabolism of plants. *Pesticide Science*, **43**: 181-187.
- Abbas, H.K., Paul, R.N., Riley, P.T., Tanaka, T. & Shier, W.T. 1998b. Ultrastructural effects of AAL-toxin T<sub>A</sub> from the fungus *Alternaria alternata* on black nightshade (*Solanum nigrum* L.) leaf discs and correlation with measures of toxicity. *Toxicon*, **36**: 1821-1832.
- Bais, H.P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R.M. & Vivanco, J.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. *Science*, **301**: 1377-1380.
- Barata, E.N., Mustaparta, H., Pickett, J.A., Wadhams, L.J. & Araujo, J. 2002. Encoding of host and non-host plant odours by receptor neurones in the eucaelyptus woodborer, *Phoracantha semipunctata* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Comparative Physiology A*, **188**: 121-133.
- Bassett, I.J. & Munro, D.B. 1985. The biology of Canadian weeds. 67. *Solanum ptycanthum* Dun., *S. nigrum* L. and *S. sarrachoides* Sendt. *Canadian Journal of Plant Sciences*, **65**: 401-414.
- Bell, E.A. 1981. The physiological role(s) of secondary (natural) products. In E. E. Conn (ed) *Secondary Plant Products*, pp. 1-19. Academic Press, New York, USA.
- Czarnota, M.A., Paul, R.N., Dayan, F.E., Nimbal, C.I. & Weston, L.E. 2001. Mode of action, localization of production, chemical nature, and activity of sorgoleone: a potent PSII inhibitor in *Sorghum* spp. root exudates. *Weed Technology*, **15**: 813-825.
- Dias, A.S., Dias, L.S., Pereira, I.P. 2004. Activity of water extracts of *Cistus ladanifer* and *Lavandula stoechas* in soil on germination and early growth of wheat and *Phalaris minor*. *Allelopathy*

- Journal*, **14**: 59-64.
- Dias, L.S., Pereira, I.P. & Dias, A.S. 1995. Evaluation of mediterranean type vegetation for weedicide activity. *Allelopathy Journal*, **2**: 197-204.
- Duke, S.O., Dayan, F.E. & Rimando, A.M. 2000a. Natural products and herbicide discovery. In A. H. Cobb & R. C. Kirkwood (eds) *Herbicides and their Mechanisms of Action*, pp. 105-133. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Duke, S.O., Dayan, F.E., Romagni, J.G. & Rimando, A.M. 2000b. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research*, **40**: 99-111.
- Duke, S.O., Gohbara, M., Paul, R. N. & Duke, M. V. 1992. Colletotrichin causes rapid membrane damage to plant cells. *Journal of Phytopathology*, **134**: 289-305.
- Einhellig, F.A. & Souza, I.F. 1992. Phytotoxicity of sorgoleone found in grain sorghum root exudates. *Journal of Chemical Ecology*, **18**: 1-11.
- Fay, P.K. & Duke, W.B. 1977. An assessment of allelopathic potential in *Avena* germplasm. *Weed Science*, **25**: 224-228.
- Gelderblom, W.C.A., Semple, E., Marasas, W. F. O. & Farber, E. 1992. The cancer-initiating potential of the fumonisin B mycotoxins. *Carcinogenesis*, **13**: 433-437.
- Gonzalez, V.M., Kazimir, J., Nimbale, C., Weston, L.A. & Cheniae, G.M. 1997. Inhibition of photosystem II electron transfer reaction by the natural product sorgoleone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**: 1415-1421.
- Harborne, J.B. 1980. Plant phenolics. In E. A. Bell & B. V. Charlwood (eds) *Secondary Plant Products*, pp. 329-402, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Harrington, P.M. & Junk, M.E. 1994. Process for the preparation of (+)-hydantocidin and analogs thereof. United States Patent Number 5,354,868 dated October 11, 1994.
- Harrington, P.M. & Junk, M.E. 1996. Process and intermediates for the preparation of (+)-hydantocidin and analogs thereof. United States Patent Number 5,543,510 dated August 6, 1996.
- Heap, I. 2005. *The International Survey of Herbicide Resistant Weeds*. Online. Internet. November 10, 2005. Available www.weedscience.com.
- Hejl, A.M. & Koster, K.L. 2004. The allelochemical sorgoleone inhibits root H<sup>+</sup>-ATPase and water uptake. *Journal of Chemical Ecology*, **30**: 2181-2191.
- Hoagland, R.E. 2001. Microbial allelochemicals and pathogens as bioherbicidal agents. *Weed Technology*, **15**: 835-857.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V. & Herberger, J.P. 1977. *The World's Worst Weeds. Distribution and Biology*. University Press of Hawaii, Honolulu, USA.
- Lockerman, R.H. & Putnam, A.R. (1979) Evaluation of allelopathic cucumbers (*Cucumis sativus*) as an aid to weed control. *Weed Science*, **27**: 54-57.
- Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Chinchilla, D. & Galindo, J.C.G. 2004. Heliannanes – a structure-activity relationship (SAR) study. In F. A. Macías, J.C.G. Galindo, J.M.G. Molinillo & H.G. Cutler (eds) *Allelopathy: Chemistry and Modes of Action of Allelochemicals*, pp. 103-124. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Massantini, F., Caporali, F. & Zellini, G. 1977. Evidence for allelopathic control of weeds in lines of soybean. *Proceedings EWRS Symposium 'The Different Methods of Weed Control and their Integration'*, vol. 1, pp. 23-28. Uppsala, Sweden.
- Meazza, G., Scheffler, B.E., Tellez, M. R., Rimando, A.M., Romagni, J.G., Duke,



- S.O., Nanayakkara, D., Khan, I. A., Abourashed, E. A. & Dayan, F.E. 2002. The inhibitory activity of natural products on plant *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Phytochemistry*, **59**: 281-288.
- Mothes, K. 1980. Historical introduction. In E. A. Bell & B. V. Charlwood (eds) *Secondary Plant Products*, pp. 1-10. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Nakajima, M., Itoi, K., Takamatsu, Y., Kinoshita, T., Okazaki, T., Kawakubo, K., Shindo, M., Honma, T., Tohjigamori, M. & Haneishi, T. 1991. Hydantocidin: a new compound with herbicidal activity from *Streptomyces hygroscopicus*. *The Journal of Antibiotics*, **44**: 293-300.
- Nimbal, C.I., Yerkes, C.N., Weston, L.A. & Weller, S. C. 1996. Herbicidal activity and site of action of the natural product sorgoleone. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **54**: 73-83.
- Putnam, A.R. & Duke, W.B. 1974. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. *Science*, **185**: 370-372.
- Rasmussen, J.A., Hejl, A.M., Einhellig, F. A. & Thomas, J. A. 1992. Sorgoleone from root exudate inhibits mitochondrial functions. *Journal of Chemical Ecology*, **18**: 197-207.
- Rimando, A.M., Dayan, F.E., Czarnota, M. A., Weston, L. A. & Duke, S. O. 1998. A new photosystem II electron transfer inhibitor from *Sorghum bicolor*. *Journal of Natural Products*, **61**: 927-930.
- Rizvi, S.J.H. & Rizvi, V. 1992. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. In S. J. H. Rizvi & V. Rizvi (eds) *Allelopathy. Basic and Applied Aspects*, pp. 444-472. Chapman & Hall, London, UK.
- Romagni, J.G., Duke, S.O. & Dayan, F.E. 2000. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineoles. *Plant Physiology*, **123**: 725-732.
- Streibig, J.C., Dayan, F.E., Rimando, A.M. & Duke, S.O. 1999. Joint action of natural and synthetic photosystem II inhibitors. *Pesticide Science*, **55**: 137-146.
- Swain, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology*, **28**: 479-501.
- Weller, R.F. & Phipps, R. H. 1978/1979. A review of black nightshade (*Solanum nigrum* L.). *Protection Ecology*, **1**: 121-139.
- Williams, G.H. 1982. *Dictionary of Weeds of Western Europe*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands.
- Zimdahl, R.L. 1993. *Fundamentals of Weed Science*. Academic Press Inc., San Diego, USA.