

Badania możliwości stosowania norflurazonu do zwalczania *Agropyron repens* L.

Część I. Wpływ norflurazonu na zawartość chlorofilu i karotenu
w perzu rozgłogowym

STANISŁAW KARCZMARCZYK I IRENA ZBIEĆ

Instytut Uprawy Roli i Roślin Akademii Rolniczej w Szczecinie

(Otrzymano: 27 VI 1976)

S. Karczmarczyk and I. Zbieć (Institute of Soil and Plant Cultivation, Academy of Agriculture, Szczecin, Poland) Acta Agrobotanica 30 (1): 1977.

Effect of Norflurazon in weed control. P. I. Influence of Norflurazon on pigment's content in Agropyron repens L.

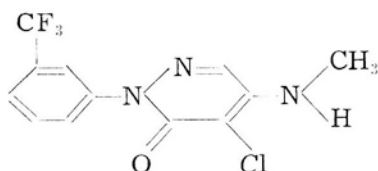
The influence of Norflurazon on chlorophyll content, development of *Agropyron repens* L. plants grown under high and low light intensities was studied. Under high light intensity (10 000 lx) both chlorophyll and carotenoides production was markedly reduced, 0.5 ppm and more of Norflurazon bleached the plants almost completely. Higher doses of Norflurazon (0.025 ppm and more) significantly inhibited growth and respiration of *Agropyron repens*.

WSTĘP

Zwalczanie perzu, uciążliwego chwastu gleb lekkich przysparza rolnikom wiele trudności, ponieważ stosowane dotychczas środki chemiczne są bądź mało skuteczne, bądź mało selektywne i ograniczają dobór roślin w zmianowaniu. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania innych herbicydów, które mogłyby ułatwić walkę z tym chwastem.

Norflurazon* [4-chloro-5-(metyloamino)-2-(α,α,α -trójfluoro-m-tolilo)-3-(2H)-pirydazynon] jest herbicydem doglebowym przeznaczonym do walki z wieloletnimi chwastami jednoliściennymi.

* Norflurazon produkcji firmy Sandoz-Wander. Nazwy handlowe: Zorial, San 9789, San 9739 5G. Próbkę herbicydu udostępniła nam firma Sandoz-Wander LDT, której wyrażamy wdzięczność.



Stosuje się go w dawkach 1-2 kg/ha na plantacjach bawełny oraz 6-12 kg/ha w żurawinie (Herbicide Handbook 1974). Norflurazon trudno przemieszcza się do głębszych warstw gleby, a zanika zależnie od zawartości koloidów, w ciągu 45-140 dni; na glebach lekkich znacznie szybciej niż na ciężkich.

Jak wykazały badania Devlina i wsp. (1971), Hiltona i wsp. (1969) oraz Yaklich a i wsp. (1974) norflurazon hamuje syntezę barwników w zielonych częściach roślin. Wychodząc z założenia, że herbicyd ten może być przydatny w walce z perzem (*Agropyron repens* L.) podjęto w Instytucie Uprawy Roli i Roślin AR w Szczecinie badania dotyczące wrażliwości perzu oraz niektórych roślin uprawnych na norflurazon.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu norflurazonu na zawartość chlorofilu i karotenoidów w perzu oraz na wzrost perzu rosnącego w warunkach kontrolowanych.

METODYKA BADAŃ

Doświadczenia przeprowadzono w szklarni przy kontrolowanej temperaturze 22°C ($\pm 2^{\circ}$) i stałej wilgotności powietrza (70-80%). Rozłogi perzu moczo w wodzie przez 24 godz, wybrano odcinki z kilkoma pobudzonymi do kiełkowania pączkami, określono ich masę i zasadzono po 30 odcinków kłaczy na 1 doniczkę w czystym piasku na głębokość 2 cm. Rośliny podlewano rozcieńczoną dwukrotnie pożywką Hoaglanda, utrzymując wilgotność podłoża w granicach 60-70% ppw. Badano działanie norflurazonu zastosowanego w następujących stężeniach: 0,001; 0,005; 0,025; 0,05; 1,0 i 5,0 ppm. Doświadczenie przeprowadzono przy zróżnicowanym oświetleniu. 10 000 lx i 100 lx. Po dwutygodniowej vegetacji określono wysokość roślin, świeżą i suchą masę części nadziemnych i rozłogów, oznaczono zawartość barwników oraz intensywność oddychania liści. Ekstrakcję barwników przeprowadzono w próbkach zielonej masy roślin zhomogenizowanych w moździerzu z 20 ml 80% roztworu acetonu. Homogenizaty wirowano w temp. 4°C przez 10 min, przy $2500 \text{ obr} \times \text{min}^{-1}$. Gęstość optyczną supernatantów oznaczano spektrofotometrem Varian-Techtron przy długościach fali: 440, 645 i 663 nm. Zawartość chlorofilu obliczano za Arnonem i wsp. (1956) wg wzorów:

$$\mu\text{g chlorofilu a/1 g świeżej tkanki} = 12,7 \text{ (E 663)} - 2,69 \text{ (E 645)} \times \frac{V}{W}$$

$$\mu\text{g chlorofilu b/1 g świeżej tkanki} = 22,9 \text{ (E 645)} - 4,68 \text{ (E 663)} \times \frac{V}{W}$$

$$\begin{aligned} \mu\text{g chlorofilu całkowitego /1 g świeżej tkanki} = \\ = 20,2 \text{ (E 645)} + 8,02 \text{ (E 663)} \times \frac{V}{W} \end{aligned}$$

Zawartość karotenoidów określano wg Hagera i Mayer-Berthenratha (1966) ze wzoru:

$$\mu\text{g karotenu/1 g świeżej tkanki} = 4,16 \text{ (E 440)} - 0,89 \text{ (E 663)} \times \frac{V}{W}$$

gdzie:

E — ekstynkcja przy określonej długości fali;

V — ilość ml 80% acetonu użytego do ekstrakcji;

W — masa próbki w g.

Czynności związane z ekstrakcją i oznaczaniem barwników wykonywano przy ograniczonym oświetleniu, aby zapobiec ich destrukcji przez fotooksydację. Oddychanie liści oznaczono metodą Warburga w temperaturze 22°C, w naczynkach o pojemności 15 ml, używając do pochłaniania CO₂ 10% roztworu NaOH.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Stwierdzono, że pod wpływem norflurazonu wystąpiła wyraźna chloroza i zahamowanie wzrostu roślin perzu. Pierwszym widocznym symptomem aktywności zastosowanego herbicydu było wystąpienie jasnych smug wzdłuż nerwów liści. Następnie obserwowano zanikanie chlorofilu na powierzchni blaszek liściowych z wyjątkiem szczytów i brzegów liści. Ponadto zauważono, że w początkowym okresie wegetacji antocjanowe zabarwienie pochw liściowych perzu poddanego działaniu wzrastających stężeń norflurazonu było bardziej intensywne niż u roślin kontrolnych. Zjawisko to może być związane z reakcją obronną organizmu roślinnego. Jak wynika z tabeli 1, zawartość chlorofilu w roślinach poddanych działaniu norflurazonu w stężeniu 0,025 ppm obniżyła się o około 40%; wyższe stężenia norflurazonu spowodowały niemal całkowity zanik barwników, a przekroczenie dawki 0,25 ppm doprowadziło do zupełnego zniszczenia chlorofilu oraz obumarcia pędów nadziemnych. Spadek zawartości chlorofilu b był wolniejszy i mniej gwałtowny niż chlorofilu a.

Zawartość karotenoidów malała w podobnych proporcjach jak chlorofilu, co świadczy o istnieniu zależności pomiędzy tymi grupami barwników. Na ochronną rolę karotenu wobec chlorofilu zwrócili uwagę

Tabela 1 — Table 1

Wpływ norflurazonu na zawartość chlorofilu i karotenoidów w perzu
przy oświetleniu 10 000 lx
($\mu\text{g/g}$ świeżej tkanki i %)

Effects of Norflurazon on chlorophyll and carotenoides content of *Agropyron repens* L. grown under 10 000 lx light intensity
($\mu\text{g/g}$ fresh tissue and %)

Norflurazon ppm	Chlorofil a Chloro- phyll a	Chlorofil b Chloro- phyll b	Chlorofil ogólny Total chlorophyll		Karotenoidy Carotenoides	
	μg	μg	μg	%	μg	%
0,000	1473	696	2168	100	653	100
0,001	1735	587	2322	107	714	109
0,005	1548	575	2123	98	690	106
0,025	970	403	1373	63	409	63
0,050	430	319	748	35	208	32
0,125	351	188	537	25	157	24
0,250	50	55	105	5	28	4
P _{0,01}	294,54	178,61	405,34	×	128,24	×
Diff.—LSD						
P _{0,05}	216,40	131,23	297,81	×	94,22	×

Tabela 2 — Table 2

Wpływ norflurazonu na zawartość chlorofilu i karotenoidów w perzu
przy oświetleniu 100 lx
($\mu\text{g/g}$ świeżej tkanki i %)

Effects of Norflurazon on chlorophyll and carotenoides content of *Agropyron repens* L. grown under 100 lx light intensity
($\mu\text{g/g}$ fresh tissue and %)

Norflurazon ppm	Chlorofil a Chloro- phyll a	Chlorofil b Chloro- phyll b	Chlorofil ogólny Total chlorophyll		Karotenoidy Carotenoides	
	μg	μg	μg	%	μg	%
0,000	370	100	477	100	183	100
0,001	345	107	452	95	174	95
0,005	313	89	401	84	155	85
0,025	327	99	426	89	171	93
0,050	291	101	393	82	121	66
0,125	227	74	301	63	115	63
0,250	73	55	127	27	47	26
P _{0,01}	30,01	16,98	49,74	×	27,57	×
Diff.—LSD						
P _{0,05}	40,85	12,48	36,55	×	20,26	×

Devlin i Barker (1971) oraz Krinsky (1966) wskazując, że karoteny są czynnikiem zapobiegającym fotooksydacji chlorofilu.

Nasze badania z perzem rosnącym przy oświetleniu ograniczonym do 100 luksów potwierdzają powyższe stwierdzenie. Jak wynika z tabeli 2, zawartość chlorofilu w roślinach zacienianych (100 lx) malała znacznie wolniej niż w perzu rosnącym w warunkach dużej intensywności (10 000 lx). Norflurazon zastosowany w stężeniu 0,025 ppm spowodował obniżenie zawartości chlorofilu tylko w 10%, wobec 40% zmniejszenia jego ilości w perzu rosnącym przy oświetleniu 10 000 lx. W warunkach niższego oświetlenia chlorofil ulegał fotooksydacji w znacznie mniejszym stopniu niż przy wyższym natężeniu światła. Podobne wyniki, dotyczące działania norflurazonu na barwniki roślinne w zależności od natężenia światła, uzyskali Devlin i Karczmarczyk (1975) oraz Vaisbergh i Schiff (1974, 1976).

Oznaczenie oddychania liści perzu poddanego działaniu norflurazonu (tab. 3) wykazało, że wystąpiły zaburzenia także i tego procesu fizjologicznego. Norflurazon zastosowany w bardzo niskich stężeniach spowodował nieznaczny wzrost zużycia tlenu, natomiast dawki wyraźnie toksyczne (powyżej 0,025 ppm) wywołały ponad dwukrotne obniżenie intensywności oddychania. Wyniki te potwierdzają badania Eshela (1969), który stwierdził hamujący wpływ pyrazonu na pobieranie tlenu przez szereg gatunków chwastów i roślin uprawnych.

W wyniku zmniejszonej zawartości chlorofilu w liściach perzu nastąpiło zahamowanie jego wzrostu, co wyraziło się zmniejszeniem wy-

Tabela 3 — Table 3

Wpływ norflurazonu na oddychanie perzu
(μ l O₂ na 1 g świeżej tkanki przez 1 godz)

Effect of Norflurazon on the respiration of *Agropyron*
repens shoots
(μ l O₂ per 1 g fresh tissue per 1 h)

Norflurazon ppm	Oznaczono po upływie: estimated after:	
	2 godz. 2 h	12 godz. 12 h
0,000	111	104
0,001	142	108
0,005	135	105
0,025	57	96
0,050	58	64
0,125	53	97
0,250	48	49

Tabela 4 — Table 4

Wpływ norflurazon na wzrost perzu przy oświetleniu 10 000 lx

Effects of Norflurazon on *Agropyron repens* L. grown under 10 000 lx light intensity

Norflurazon ppm	Pędy nadziemne Shoots				Ubytek masy kłączy Loss of weight of the rhizomes		
	wysokość roślin length of plants		świeża masa 1 pędu fresh matter per 1 shoot		sucha masa 1 pędu dry matter per 1 shoot		sucha masa dry matter
	cm	%	mg	%	mg	%	
0,000	22,6	100	136	100	26	100	18
0,001	23,3	104	143	105	31	119	33
0,005	20,8	92	133	98	24	92	31
0,025	17,4	77	98	72	17	65	34
0,050	15,4	68	74	54	12	46	44
0,125	13,3	59	55	40	10	39	45
0,500	10,3	46	47	35	11	42	46
1,000	9,3	41	41	30	9	35	44
5,000	8,4	37	30	22	8	31	44
P _{0,01}		×	36,49	×	4,79	×	×
Diff.—LSD		×	27,02	×	3,55	×	×
P _{0,05}		×		×			

Tabela 5 — Table 5

Wpływ norflurazonu na wzrost perzu przy oświetleniu 100 lx
 Effect of Norflurazon on *Agropyron repens* L. grown under 100 lx
 light intensity

Norflurazon ppm	Świeża masa 1 pędu Fresh matter per 1 shoot		Sucha masa 1 pędu Dry matter per 1 shoot	
	mg	%	mg	%
0,000	68	100	7	100
0,001	69	102	7	100
0,005	86	127	8	114
0,025	78	115	7	100
0,050	68	100	6	86
0,125	65	96	5	71
0,500	56	82	5	71
1,000	46	68	4	57
5,000	36	53	3	43
Diff.—LSD	P _{0,01}	10,92	×	×
	P _{0,05}	8,08	×	×

sokości roślin oraz ich masy. Liczby zawarte w tabeli 4 wykazują, że mniejsze dawki norflurazonu nie wpłynęły istotnie na wzrost roślin, natomiast stężenia powyżej 0,025 ppm istotnie zahamowały wzrost pędów nadziemnych oraz spowodowały wyraźne zmniejszenie przyrostów ich masy. Perz rosnący w warunkach oświetlenia ograniczonego do 100 luksów w mniejszym stopniu reagował na zastosowany norflurazon spadkiem świeżej i suchej masy pędów nadziemnych. Wynikało to prawdopodobnie z mniejszych różnic zawartości chlorofilu w roślinach traktowanych norflurazonem i kontrolnych (vide tab. 1 i 2).

Jako efekt zahamowania procesu asymilacji pod wpływem norflurazonu, nastąpiło także zwiększone zużycie przez rozwijające się rośliny zapasowych substancji zmagazynowanych w kłączach. Pędy nadziemne pozbawione chlorofilu nie wytwarzały asymilatów, które normalnie gromadzone są w rozłogach. Jak wynika z tabeli 4, spadek masy rozłogów roślin traktowanych norflurazonem był ponad dwukrotnie większy w porównaniu z obiektem kontrolnym.

Z przeprowadzonych badań można wysnuć następujące wnioski:

1. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia norflurazon spowodował istotne zmniejszenie zawartości chlorofilu i karotenoidów oraz intensywności oddychania zielonych części *Agropyron repens*.

2. Stwierdzono równoczesny spadek zawartości karotenoidów i chlorofilu wraz ze wzrostem stężenia norflurazonu.

3. Przy większej intensywności światła (10 000 lx) zjawiska te przebiegają bardziej gwałtownie niż przy słabym oświetleniu (100 lx).

4. Pod wpływem norflurazonu wystąpiło istotne zahamowanie wzrostu części nadziemnych oraz zwiększenie ubytku masy rozłogów *Agropyron repens*.

5. Stężenie 0,025 ppm norflurazonu w warunkach doświadczenia było granicznym, tolerowanym przez rośliny perzu.

SUMMARY

As a result of higher dosages of Norflurazon, we have obtained a significant decrease of pigment content in *Agropyron repens* plants grown under 10 000 lx light intensity. Plants treated with 0.5, 1.0 and 5.0 ppm of Norflurazon were completely bleached and did not contain any pigment. Low doses of Norflurazon (0.001 and 0.005 ppm) induced a slight increase of the plant's growth and respiration. However, higher doses of Norflurazon (0.025 and more) caused a significant decrease of growth and respiration of *Agropyron repens* L.

It seems that low chlorophyll content in the plant material was due to the inhibiting effect on carotenoid synthesis and accumulation. Carotenoides protect chlorophyll against photooxidation. Therefore, we observed a smaller decrease of chlorophyll content in plants grown under 100 lx light intensity.

LITERATURA

- Arnon D.I., Allen M.B., Whately F., 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 20: 449-461.
- Devlin R.M., Barker A.V., 1971. Photosynthesis. N. York.
- Devlin R.M., Karczmarczyk S.J., 1975. Influence of Norflurazon on chlorophyll production. *Proc. Northeast. Weed Sci. Soc.* 29: 161-163.
- Hager A., Meyer-Berthenrath T., 1966. Die Isolierung und quantitative Bestimmung der Carotenoide und Chlorophyll von Blättern, Algen und isolierten Chloroplasten mit Hilfe Dünnschichtchromatographischer Methoden. *Planta (Berl.)* 69: 193-217.
- Eshel J., 1969. Effect of pyrazon on photosynthesis of various plant species. *Weed Res.* 9: 167-172.
- Hilton J.L., Scharen A.L., St. John J.B., Moreland D.E., Norris K.H., 1969. Modes of action of pyridazine herbicides. *Weed Sci.* 17: 541-547.
- Krinsky N.J., 1966. The role of carotenoid pigments as protective agents against photosensitized oxydations in chloroplasts. *Biochemistry of chloroplasts*. Vol. I, N. York.
- Vaisbergh A.J., Schiff J.A., 1974. Inhibition of carotenoid synthesis in *Euglena gracilis* var. *bacillaris* by SAN 9789 [4-chloro-5-(methyloamino)-2-(α,α,α -trifluoro-m-totyl)-3-(2H)pyridazinone]. *J. Protozool.* 21: 447.
- Vaisbergh A.J., Schiff J.A., 1976. Events surrounding the early development of *Euglena* chloroplasts. 7. Inhibition of carotenoid biosynthesis by the herbicide San 9789 [4-chloro-5-(methyloamino)-2-(α,α,α -trifluoro-m-totyl)-3-(2H)-pyridazinone] and its developmental consequences. *Plant Physiol.* 57: 260-269.
- Yaklich R.W., Karczmarczyk S.J., Devlin R.M., 1974. The uptake and translocation of ^{14}C -SAN-6706 and ^{14}C -SAN-9789 in *Vaccinium macrocarpon* cv. Early Black. *Weed Res.* 14: 261-263.
- Herbicide Handbook, 1974. *Weed Sci. Soc. of America*, wyd. III: 283-285.