Wpływ herbicydów i zróżnicowanego nawożenia NPK na zawartość β -karotenu w liściach bobiku (*Vicia faba* L. ssp. *minor*)

WIESŁAW WÓJCİK i ANNA SYKUT

Instytut Chemii i Technologii Rolnej, Akademia Rolnicza, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

(Otrzymano: 29.09.1981 r.)

W. Wójcik, A. Sykut (*Institute of Chemistry and Agricultural Technology Agricultural Academy, Akademicka 13, 20-033 Lublin, Poland*). *Acta Agrobotanica* 36 (1-2): 145-151, 1983.
Effect of herbicides and various NPK dosage on β -carotene content in the leaves of Vicia faba L. ssp. minor

Abstract

Effect of herbicides Afalon (linuron), Aretit (dinoseb acetate), Gesatop 50 (simazine) was tested concemitantly with two NPK fertilization levels (N — 0, P_2O_5 — 36 kg/ha, K_2O — 60 kg/ha and N — 70 kg/ha, P_2O_5 — 72 kg/ha, K_2O — 120 kg/ha) on the β -carotene content of field bean leaves. The carotenoids content was determined by thin-layer chromatography on magnesium oxide in the system petroleum ether: acetone (88:12 v/v). An increase of β -carotene content in the field bean leaves at the flower-bud formation stage was found, after application of above mentioned herbicides and high dosage NPK fertilization levels. No influence of herbicides and mineral fertilization on the β -carotene content in the plant leaves could be demonstrated at the full pods stage.

WSTĘP

Rośliną dostarczającą wysokobiałkowej paszy jest bobik, w którym oprócz białka występują w małych ilościach substancje pełniące ważną rolę w metabolizmie. Należą do nich między innymi karotenoidy. Zawartość karotenoidów w organizmach roślinnych uzależniona jest od wielu czynników takich jak: warunki meteorologiczne, stosowanie nawozów mineralnych i środków ochrony roślin. Herbicydy stosowane w uprawie zapewniają wzrost plonów, ale jednocześnie bywają przyczyną zaburzeń w metabolizmie roślin, powodując w nich zmiany jakościowe i ilościowe niektórych składników chemicznych (Ciszewska, 1977; Czuchajewska i Wojtaszek, 1971; Maštakov i Prochorčik, 1963). Dane piśmiennictwa o wpływie herbicydów na zawartość karotenoidów w roślinach nie pozwalają na wyciągnię-

cie jednoznacznych wniosków (B a r a t o v i i n., 1975; K l a u d g e n, 1979; V a s i e v a i P i n e v i č, 1970).

Stosowanie wysokich dawek samych nawozów mineralnych (szczególnie azotowych) powoduje zwykle wzrost zawartości karotenoidów w roślinach (K u k u ł k a, 1971; S t a h l i i n., 1957; S y k u t, 1976; W a r r e n i i n., 1971; W i e r z c h o w s k i, 1971).

Stosowanie zwiększonego nawożenia mineralnego wraz z herbicydami modyfikuje często ich działanie na rośliny (C i s z e w s k a i S z y n a l, 1977; C z e r w i Ń s k i i i n., 1967; P ł o s z y Ń s k i i R u n o w s k a - H r y Ń c z u k, 1975) i nie zawsze wpływa jednakowo na przemiany karotenoidów (M a k a r s k a i B u b i c z, 1979; T i m o f e e v, 1978; W a r r e n i i n., 1971), dlatego wskazane są dalsze badania w tym zakresie. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu stosowania zróżnicowanego nawożenia NPK i herbicydów (linuron, symazyna i octan dinoseb) — w dawkach zalecanych w rolnictwie) na zawartość β -karotenu w liściach bobiku.

METODYKA

Badania prowadzono na roślinach bobiku (*Vicia faba* L. ssp. *minor*) odmiany 'Nadwiślański', w latach 1975 - 1977, w RZD Czesławice koło Lublina, na glebie brunatnej wytworzonej z lessów głębokich o odczynie słabo kwaśnym. W czasie trwania doświadczeń obserwowano zmienne warunki meteorologiczne. Miesięczna suma opadów w kolejnych latach wynosiła: w 1975 — 482 mm, w 1976 — 199 mm, w 1977 — 399 mm, a średnia temperatura powietrza: w 1975 — 15,3°C, w 1976 — 13,5°C, w 1977 — 13,8°C.

Doświadczenia te założono metodą bloków losowanych, w 4 powtórzeniach, na poletkach o wymiarach 1 × 3 m. Nasiona bobiku w ilości 250 kg/ha wysiewano w ostatnich dniach marca lub na początku kwietnia stosując rozstaw rzędów 30 cm. Nawozy mineralne w postaci 34% saletry amonowej, 47,3% superfosfatu podwójnego i 40% siarczanu potasu wysiewano w dniu siewu lub dwa dni wcześniej. Stosowano następujące dawki nawożenia w kg/ha:

- a) N — 0, P₂O₅ — 36, K₂O — 60
- b) N — 70, P₂O₅ — 72, K₂O — 120.

W doświadczeniu użyto trzy herbicydy: Afalon (50% linuron) — 2 kg/ha, Gesatop 50 (50% symazyna) — 1 kg/ha i Aretit (40% octan dinoseb) — 4,5 kg/ha. Herbicydy te stosowano w 600 l wody w przeliczeniu na ha. Preparatami Afalon i Gesatop 50 opryskiwano poletka dwa dni po siewie. Aretit stosowano natomiast, gdy rośliny osiągnęły wysokość 10-15 cm. W okresie wegetacji poletek nie pielono. Rośliny do analiz pobierano w każdym roku trzykrotnie w następujących fenofazach: tworzenia pąków kwiatowych, kwitnienia i w fazie wypełnionego strąka. Z materiału roślinnego zbieranego z poletek pobierano ok. 4-6 g liści, umieszczano w torebkach z polietylenu, zamrażano a następnie

liofilizowano i przechowywano w zamrażarce w temp. ok. -20°C do czasu wykonania analiz. Ekstrakcję barwników roślinnych przeprowadzono metodą B o t h a (1957) stosując roztwór eteru naftowego (frakcja $40-60^{\circ}\text{C}$) i acetonu v/v 1:1. Rozdział karotenów przeprowadzono metodą chromatografii cienkowarstwowej na płytkach z warstwą tlenku magnezu. Do rozwijania chromatogramu stosowano układ rozpuszczalników eter naftowy: aceton, w stosunku v/v 88:12. Identyfikację jakościową karotenów przeprowadzono przez porównanie właściwości chromatograficznych (wartości Rf) i spektralnych (absorpcyjne widma elektronowe) rozdzielonych izomerów karotenów z otrzymanymi w wyniku reakcji izomeryzacji standardowych α i β -karotenów wg metody Z e c h m e i s t e r a (1962). Do oznaczeń ilościowych karoteny eluowano z adsorbentu acetonem, eluaty zbierano w kolbkach o obj. 10 cm^3 i dokonywano pomiaru wartości absorpcji w spektrofotometrze „Specol” przy długości fali dla α -karotenu – 448 nm, dla β -karotenu – 454 nm. Do obliczenia zawartości β -karotenu stosowano wartość absorpcji 1% roztworu tego związku $E = 2503$. Wyniki uzyskane z doświadczeń opracowano statystycznie korzystając z metody analizy wariancji dla potrójnej klasyfikacji krzyżowej. W przypadku stwierdzenia istotnych różnic między średnimi faktorialnymi obliczono wielokrotne przedziały Tukey’a.

WYNIKI I DYSKUSJA

Przeprowadzony rozdział chromatograficzny i analiza ilościowa karotenów wykazały, że liście bobiku zawierają α -karoten, β -karoten, neo β -karoten U i neo β -karoten W.

Najważniejszym karotenoidem liści bobiku jest β -karoten, ponieważ posiada on najwyższą aktywność biologiczną witaminy A i stanowi główną frakcję tych barwników. Dlatego też dalsze badania obejmowały zmiany zawartości tylko β -karotenu w liściach. Łodyg nie badano ponieważ zawierają ok. 30 razy mniej β -karotenu niż liście.

Jak wynika z tabeli 1, zawartość β -karotenu w liściach bobiku zmienia się w zależności od warunków klimatycznych w roku prowadzenia doświadczenia, od fazy wzrostu, stosowanych w uprawie herbicydów i dawek nawozów (tab. 1).

Najwięcej β -karotenu zawierały liście w roku 1977, który jak się wydaje był optymalny dla biosyntezy karotenów w porównaniu do wyników z lat 1975 i 1976. Okres wegetacyjny w roku 1975 charakteryzował się najwyższą, a 1976 najniższą sumą opadów. Ponadto w roku 1975 zanotowano najwyższą średnią temperaturę powietrza w porównaniu do omawianych lat.

Największa zawartość β -karotenu w 100 g suchej masy, we wszystkich latach doświadczenia, przypada na okres kwitnienia roślin. Również liście ze 100 roślin w tej fazie wegetacji zawierają najwięcej tego składnika, niezależnie od poziomu nawożenia i rodzaju stosowanych herbicydów (tab. 2).

Tabela 1—Table 1

Zawartość β -karotenu w liściach bobiku (mg/100 g suchej masy) β -Carotene content in field bean leaves (mg/100 g of dry weight)

Herbicydy Herbicides	Dawki nawożenia Fertilization dosage	Fazy wzrostu — Growth phases											
		tworzenie pąków flower-bud formation stage				kwitnienie flowering stage				wypełniony strąk full pods stage			
		1975	1976	1977	średnie means	1975	1976	1977	średnie means	1975	1976	1977	średnie means
Kontrola	a	30,9	37,4	39,2	35,8	50,4	45,0	48,7	48,0	22,3	21,9	23,7	22,6
Control	b	33,8	37,7	44,7	38,7	52,9	45,3	52,5	50,2	18,2	21,2	27,3	22,2
	$\bar{x}$	32,3	37,5	41,9	37,3	51,6	45,1	50,6	49,1	20,3	21,5	25,5	22,4
Afalon	a	31,5	41,0	40,2	37,6	45,8	45,8	50,7	47,4	18,7	20,5	22,4	20,5
	b	39,6	42,2	45,1	42,3	53,3	45,1	49,5	49,3	19,5	19,4	18,3	19,0
	$\bar{x}$	35,6	41,6	42,6	39,9	49,5	45,4	50,1	48,4	19,1	19,9	20,3	19,8
Gesatop 50	a	35,4	43,2	41,3	39,9	49,5	44,2	51,8	48,5	23,6	19,9	24,9	22,8
	b	43,1	43,6	46,3	44,3	59,6	47,4	54,8	53,9	19,7	19,0	26,1	21,6
	$\bar{x}$	39,2	43,4	43,8	42,1	54,5	45,8	53,3	51,2	21,6	19,4	25,5	22,2
Aretit	a	33,7	41,3	45,3	40,1	43,4	44,5	50,5	46,1	20,2	20,5	27,9	22,9
	b	37,0	38,6	44,2	39,9	41,1	43,4	44,9	43,1	19,1	21,7	26,4	22,4
	$\bar{x}$	35,3	39,9	44,9	40,1	42,2	43,9	47,7	44,9	19,7	21,1	27,1	22,6
Średnie dla lat	a	32,9	40,7	41,6	38,4	47,3	44,9	50,4	47,5	21,2	20,7	24,7	22,2
Means for years	b	38,4	40,5	45,1	41,3	51,7	45,3	50,4	49,1	19,1	20,3	24,5	21,3
	$\bar{x}$	35,6	40,6	43,3	39,9	49,5	45,1	50,4	48,3	20,2	20,5	24,6	21,8
NUR LSD ($\alpha=0,05$)	Herbicydy A Herbicides A	1,2	1,2	1,3	0,7	2,8	1,1	2,1	1,1	ni ns	ni ns	3,5	1,8
	Nawożenie B Fertilization B	0,6	ni ns	0,7	0,4	1,4	ni ns	ni ns	0,6	ni ns	ni ns	ni ns	ni ns
	Lata C Years C				0,5				0,9				1,4
	Interakcja AB Interaction AB	2,1	2,1	2,3	1,2	4,7	1,9	3,6	1,9	ni ns	ni ns	6,1	ni ns

Dawki nawożenia (kg/ha) a) N — 0, P₂O₅ — 36, K₂O — 60, b) N — 70, P₂O₅ — 72, K₂O — 120.

Fertilization dosage

 $\bar{x}$ — średnie

means

ni—ns — różnice nieudowodnione
differences not significant

Tabela 2—Table 2

Zawartość β -karotenu w liściach 100 roślin bobiku (średnia z 3 lat)
 β -Carotene content in leaves of 100 plants of field bean (means for 3 years)

Herbicydy Herbicides	Dawki nawożenia Fertilization dosage	Fazy wzrostu — Growth phases		
		tworzenie pąków flower-bud stage	kwitnienie flowering stage	wypełniony strąk full pods stage
		mg/100 roślin (plants)		
Kontrola	a	63	106	107
Control	b	72	142	84
Afaon	a	61	148	103
	b	84	166	93
Gesatop 50	a	80	157	99
	b	100	198	99
Aretit	a	72	118	114
	b	73	118	111

Objaśnienia jak w tabeli 1.

Explanations as in Table 1.

Podobnie kształtowały się zmiany zawartości tej prowitaminy w liściach żółtego łubinu, badanego przez Sykut i Wierchowskiego (1958). Liście łubinu były jednak bogatsze w β -karoten niż liście bobiku.

Stosowanie w uprawie bobiku podwyższonej dawki nawozów NPK (N — 70 kg/ha, P₂O₅ — 72 kg/ha, K₂O — 120 kg/ha) powodowało wzrost zawartości β -karotenu w fazach tworzenia pąków kwiatowych i kwitnienia. Zależności takie stwierdzone zostały również w roślinach badanych przez innych autorów (Kukulka, 1971; Makarska i Bubicz, 1979; Sykut, 1976). Badania Kukulki (1971) wykazały, że podwojenie dawki nawozów azotowych powoduje wzrost zawartości karotenów w trawach pastwiskowych od 10 do 55% w zależności od gatunku.

Wprowadzenie do uprawy bobiku herbicydów (linuron, symazyna i octan dinoseb), w dawkach zalecanych do zwalczania chwastów, powodowało w roślinach, w fazie tworzenia pąków kwiatowych, wzrost zawartości β -karotenu. Symazyna wpływała również dodatnio na tworzenie się tego barwnika w liściach kwitnącego bobiku, natomiast octan dinoseb powodował tam obniżenie jego zawartości. W roślinach będących w fazie wypełnionego strąka nie stwierdzono istotnych zmian zawartości β -karotenu, wynikających z faktu stosowania herbicydów (tab. 1). Łączne stosowanie herbicydów i podwyższonej dawki nawozów mineralnych było przyczyną zwiększania zawartości β -karotenu w

liściach zbieranych z roślin bobiku w fazie tworzenia pąków kwiatowych, a w przypadku symazyny również w fazie kwitnienia.

W badaniach W a r r e n a i in. (1971) stosowanie wysokiej dawki nawozów azotowych (N — 672 kg/ha) łącznie z symazyną powodowało obniżenie zawartości karotenów w trawie (*Cynodon dactylon* L. Pers.). Zależność ta była proporcjonalna do wzrastającej dawki herbicydu. Zastosowana przez autorów o połowę niższa dawka nawozu (N — 336 kg/ha) łącznie z wzrastającymi dawkami symazyny powodowała efekt stymulacyjny.

T i m o f e e v (1978) wykazał różnice w reakcji roślin na działanie herbicydów i nawozów w zależności od stopnia odporności danej rośliny na preparat chwastobójczy. Stwierdził on na przykładzie doświadczenia wazonowego z dziką różą, że wysokie nawożenie powoduje wzrost fitotoksyczności prometryny i linuronu. Natomiast na podstawie badań na liściach ziemniaka stwierdzono większy wpływ herbicydów na hamowanie biosyntezy karotenoidów po zastosowaniu wysokiej dawki nawozów NPK.

W analogicznym do omawianego w tej pracy doświadczeniu polowym z peluszką (M a k a r s k a i B u b i c z, 1979) stwierdzono, że łączne działanie wysokiej dawki nawozów i linuronu powoduje obniżenie zawartości β -karotenu, a stosowanie symazyny z tą dawką nawozów przyczynia się do wzrostu zawartości β -karotenu w liściach.

STRESZCZENIE

Oznaczono zawartość karotenów w liściach bobiku traktowanego herbicydami i uprawianego na tle dwóch poziomów nawożenia. Zastosowano następujące dawki nawozów:

- a) N — 0, P_2O_5 — 36, K_2O — 60 kg/ha,
- b) N — 70, P_2O_5 — 72, K_2O — 120 kg/ha.

Do odchwaszczania zastosowano: Gesatop 50 (50% symazyna) — 1 kg/ha, Afalon (50% linuron) — 2 kg/ha i Aretit (40% octan dinoseb) — 4,5 kg/ha. Do analiz pobierano liście w fazach tworzenia pąków kwiatowych, kwitnienia i wypełnionego strąka. Karoteny rozdzielano metodą chromatografii cienkowarstwowej na tlenku magnezu za pomocą układu eter naftowy: aceton 88:12 v/v.

Stwierdzono, że wysokie dawki NPK powodują wzrost zawartości β -karotenu w liściach zbieranych w fazach tworzenia przez bobik pąków kwiatowych i kwitnienia. Również herbicydy wywierają dodatni wpływ na zawartość β -karotenu w liściach, gdy bobik jest w fazie tworzenia pąków kwiatowych. Gdy bobik jest w fazie kwitnienia, jego liście zawierają więcej β -karotenu po zastosowaniu preparatu Gesatop 50, natomiast po zastosowaniu preparatu Aretit zauważono zmniejszenie zawartości tego składnika. Nie stwierdzono wpływu herbicydów i zróżnicowanego nawożenia na zawartość β -karotenu w liściach bobiku zbieranych z roślin będących w fazie wypełnionego strąka.

LITERATURA

- Baratov K.B., Babaev I.I., Špikova L.V., Vachidov A., Daniłova R. V. 1975. Vlijanie gerbicidov kretazina i prometrina na soderžanie β -karotina i sachara v nekatorych ovoščach. Referativnyj Žurnal 30 F. biologičeskaja chim. otdelnyj vyp. 3, p. 2393.

- Both V. H., 1957. Carotene its determination in biological materials. Cambridge. 19: 43 - 48.
- Cisze wska R., 1977. Fitotoksyczność i selektywność herbicydów triazynowych oraz ich wpływ na niektóre chemiczne składniki roślin. Post. Nauk Rol. 2: 61 - 76.
- Cisze wska R., Szynał J., 1977. Wpływ linuronu (Afalonu) i zróżnicowanego nawożenia mineralnego na zawartość substancji pektynowych w liściach peluszkii (*Pisum arvense* L.). Acta Agrobot. 30: 143 - 150.
- Czerwiński W., Skrobka H., Stachurska A., 1967. Efektywność działania Afalonu na kukurydzę i gorczycę w kulturach wodnych w zależności od stężenia azotanów, fosforanów i potasu w pożywce. Zesz. Nauk AR we Wrocławiu 21, 55: 45 - 64.
- Czuchajewska Z., Wojtaszek T., 1971. Drogi i mechanizmy oddziaływania herbicydów pochodnych mocznika na fizjologiczne i biochemiczne procesy organizmów roślinnych. Post. Nauk Rol. 6: 37 - 70.
- Klaudgen H. K., 1979. Die Wirkung von Simazin auf die bildung der plastidären Prenyllipide in Keimlingen von *Hordeum vulgare* L. Zeitschrift für Naturforschung C, 34, 1/2: 110 - 113.
- Kukulka I., 1971. Zawartość karotenów i ksantofili w runie pastwiska intensywnie nawożonego. Zesz. Prob. Nauk Rol. 114: 77 - 81.
- Makarska E., Bubicz M., 1979. Wpływ NPK, Afalonu i Gesatopu 50 na zawartość karotenowców w peluszcze. Roczn. Nauk Rol. A, 104: 61 - 73.
- Maštakov S. M., Prochorčik N. D., 1963. Izmienienije intensivnosti fotosinteza i dychanija rastienii pod vlijaniem simazina. D.A.N.B.S.S.R., 6: 419 - 429.
- Płoszyński M., Runowska-Hryńczuk B., 1975. Działanie monuronu i monolinuronu na dynamikę wzrostu, plony i zmiany jakościowe żyta ozimego na tle różnych dawek nawożenia azotowego, fosforowego i potasowego. Roczn. Nauk Rol. A, 101: 7 - 11.
- Stahl W., Steger H., Küsdorff K., Puschel F., 1957. Über der Einfluss der Lagerung und unterschiedlicher Neutrokinung auf den Cartingehet das Rauhfutters. Z. Tierernähr, Futtermittelkunde 12: 333 - 339.
- Sykut A., Wierzchowski Z., 1958. Studia nad występowaniem alfa i beta karotenów w świecie roślinnym. Cz. II. A. Rośliny pastewne — łubin. Annales UMCS Lublin, Polonia 15: 261 - 274.
- Sykut A., 1976. Wpływ wybranych czynników fizycznych i chemicznych na biosyntezę karotenowców w glonach *Scenedesmus acuminatus*. Rozprawa habil. (masz). Akademia Rolnicza, Lublin.
- Timofeev M. M., 1978. Vlijanie prometrina i linurona na pigmentnuju systemu rastenij kartofelja i redki dikoj pri razlicznych uslovijach pitanija. Fiz. i Bioch. Kulturnych Rastenij 10: 171 - 176.
- Vasičeva V. E., Pinevič V. V., 1970. Vlijanie ingibitorov fotosinteza na obrazovanie kisloroda i soderžanie pigmentov u *Anacystis nidulans*. Drauet. Fiz. Rast. 17, 6: 1187 - 1192.
- Warren G., Manson S., Gleen W., Burton W. S., Wilkinson W., Dumford S. W., 1971. Effect of N-fertilization and simazin in yield protein, amino-acid content and carotenoid pigments of caestral bermudagrass. Agr. J. 63: 928 - 931.
- Wierzchowski Z., 1971. Wartość witaminowa runi łąkowej, jej źródła i czynniki zmian. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 114: 13 - 18.
- Zechmeister L., 1962. Cis-trans isomeric carotenoids vitamins A and arylpolyenes. Wien Springer-Verlag. s. 25 - 46.