

Eugeniusz Gurgul¹
Barbara Herman¹
Robert Biczak¹
Eberhard Lippmann²

¹Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Częstochowa

²Uniwersytet, Lipsk

ODDZIAŁYWANIE POCHODNYCH TETRAZOŁO[2,1-c]CHINOKSALINY NA PRZEMIANY METABOLICZNE W SELERZE NACIOWYM I PIETRUSZCE NACIOWEJ

CZĘŚĆ II. ZMIANY W POZIOMIE CHLOROFILU, CUKRÓW I WITAMINY C W OKRESIE WEGETACJI ROŚLIN

Streszczenie: Przebadano wpływ pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość chlorofilu (a + b), witaminy C i cukrów w liściach selera naciowego (*Apium graveolens* L. var. *dulce* Pers.) i pietruszki naciowej (*Petroselinum hortense* Hoffm. *macrocarpum* Mark.).

Związki te spowodowały zmiany w składzie biochemicznym roślin eksperymentalnych. Zaobserwowano wzrost poziomu cukrów ogółem i witaminy C w roślinach traktowanych testowanymi związkami.

1. Wstęp

Stosowanie w rolnictwie związków chemicznych, takich jak środki ochrony roślin czy substancji wzrostowych może wywoływać zaburzenia w metabolizmie roślin uprawnych czego objawem są między innymi zmiany w ich składzie biochemicznym [1, 2]. Stwarza to podstawy do prowadzenia badań nad wpływem nowych grup związków chemicznych na skład roślin w zależności od aspektu gospodarczego jaki dana roślina przedstawia. W badaniu warzyw mogą

to być na przykład witaminy, cukry, białka i ich skład aminokwasowy, decydujące o ich wartości odżywczej [3, 4].

W określaniu wpływu czynników zewnętrznych na rośliny uprawne coraz częściej oznacza się poziom chlorofilu jako główny czynnik determinujący natężenie procesu fotosyntezy [5-8].

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość chlorofilu, cukrów ogółem i witaminy C w selerze naciowym i pietruszce naciowej w kolejnych fazach rozwojowych.

2. Metodyka badań

Metodykę założenia doświadczeń wazonowych z zakresu oddziaływania pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na przemiany metaboliczne roślin uprawnych opisano w części I pracy.

Materiał roślinny do oznaczenia zawartości cukrów, witaminy C i chlorofilu w liściach selera naciowego i pietruszki naciowej pobierano trzykrotnie począwszy od 10 lipca.

Chlorofile a, b oraz całkowity oznaczono metodą spektrofotometryczną [9, 10]. Barwniki ekstrahowano bezpośrednio ze świeżego materiału roślinnego 80% acetonem schłodzonym do temperatury 0 - 4 °C.

Witaminę C oznaczano po homogenizacji świeżego materiału roślinnego w 2% kwasie szczawiowym zgodnie z metodą Tillmansa opartą na właściwościach redukujących kwasu L-askorbinowego [11].

Poziom cukrów ogółem oznaczono metodą Luffa-Schoorla, po prowadzonej na gorąco ekstrakcji z suszu materiału roślinnego oraz po 5-minutowej hydrolizie kwaśnej w stężonym HCl w temp. 67 - 70 °C [11].

3. Wyniki

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że będące przedmiotem badań pochodne tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny w istotny sposób oddziałują na skład biochemiczny roślin uprawnych, o czym świadczą zaobserwowane zmiany w zawartości chlorofilu, cukrów ogółem i witaminy C.

Analiza zmian w poziomie chlorofilu wskazuje na znaczne ich uzależnienie od rośliny i jej wieku fizjologicznego (Tab.1, 2).

Tabela 1. Wpływ pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość chlorofilu a, b i chlorofilu całkowitego (a+b) w selerze naciowym w fazach wzrostu

Związki i ich stężenia	Chlorofil (mg / g świeżej masy)											
	faza I				faza II				faza III			
	a	b	a+b	a/b	a	b	a+b	a/b	a	b	a+b	a/b
Kontrola	1.121	0.776	1.887	1.44	1.174	0.692	1.866	1.70	1.157	0.651	1.808	1.78
A-0,01%	1.114	0.825	1.939	1.35	1.213	0.805	2.018	1.51	0.997	0.488	1.485	2.04
B-0,01%	1.137	0.869	2.006	1.31	1.179	0.712	1.891	1.66	1.047	0.528	1.575	1.98
C-0,01%	1.132	0.832	1.964	1.36	1.178	0.637	1.815	1.85	1.161	0.625	1.786	1.85
D-0,01%	1.138	0.917	2.055	1.24	1.182	0.686	1.868	1.72	1.171	0.669	1.840	1.75
NIR_{0.05}	chlorofil a dla związków - 0.008 dla faz - 0.012				chlorofil b dla związków - 0.005 dla faz - 0.007				chlorofil a+b dla związków - 0.008 dla faz - 0.010			
A-0.1%	1.147	0.946	2.093	1.21	1.197	0.760	1.957	1.58	0.981	0.469	1.450	2.09
B-0.1%	1.132	0.839	1.971	1.35	1.190	0.744	1.934	1.60	1.053	0.522	1.575	2.02
C-0.1%	1.143	0.940	2.083	1.22	1.125	0.620	1.745	1.81	1.116	0.616	1.732	1.81
D-0.1%	1.142	0.977	2.119	1.17	1.135	0.648	1.783	1.75	1.081	0.547	1.628	1.98
NIR_{0.05}	chlorofil a dla związków - 0.002 dla faz - 0.003				chlorofil b dla związków - 0.004 dla faz - 0.005				chlorofil a+b dla związków - 0.005 dla faz - 0.007			

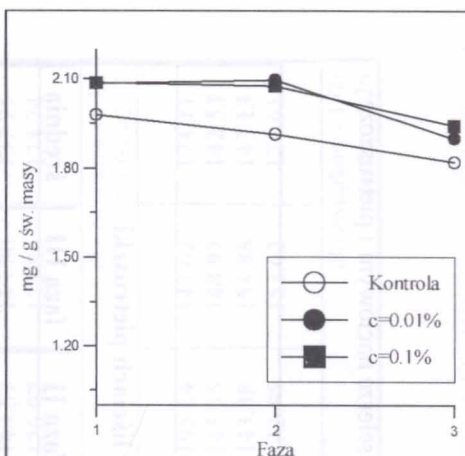
Tabela 2. Wpływ pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość chlorofilu a, b i chlorofilu całkowitego (a+b) w pietruszce naciowej w fazach wzrostu

Związki i ich stężenia	Chlorofil (mg / g świeżej masy)											
	faza I				faza II				faza III			
	a	b	a+b	a/b	a	b	a+b	a/b	a	b	a+b	a/b
Kontrola	1.134	0.844	1.978	1.34	1.204	0.709	1.913	1.70	1.157	0.663	1.820	1.75
A-0.01%	1.139	0.898	2.037	1.27	1.250	0.883	2.133	1.42	1.186	0.693	1.879	1.71
B-0.01%	1.139	0.933	2.078	1.22	1.250	0.884	2.134	1.41	1.200	0.746	1.946	1.61
C-0.01%	1.144	0.978	2.122	1.17	1.224	0.794	2.018	1.54	1.158	0.684	1.842	1.69
D-0.01%	1.142	0.957	2.099	1.19	1.243	0.854	2.097	1.46	1.189	0.732	1.921	1.62
NIR _{0.05}	chlorofil a dla związków - 0.004 dla faz - 0.005				chlorofil b dla związków - 0.005 dla faz - 0.007				chlorofil a+b dla związków - 0.008 dla faz - 0.011			
A-0.1%	1.131	0.874	2.005	1.29	1.235	0.791	2.026	1.56	1.173	0.679	1.852	1.73
B-0.1%	1.144	0.942	2.086	1.21	1.252	0.887	2.139	1.41	1.214	0.773	1.987	1.57
C-0.1%	1.143	1.037	2.180	1.10	1.221	0.803	2.024	1.52	1.190	0.729	1.919	1.63
D-0.1%	1.143	0.935	2.078	1.22	1.237	0.878	2.115	1.41	1.216	0.795	2.011	1.53
NIR _{0.05}	chlorofil a dla związków - 0.010 dla faz - 0.015				chlorofil b dla związków - 0.007 dla faz - 0.010				chlorofil a+b dla związków - 0.009 dla faz - 0.012			

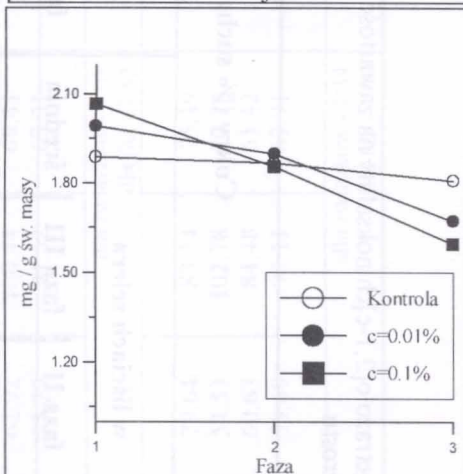
W pietruszce naciowej w całym analizowanym okresie wegetacji zaznaczył się stymulujący wpływ badanych związków na sumaryczną zawartość chlorofilu, przy czym największy wzrost poziomu tego barwnika wystąpił w drugiej z analizowanych faz i wynosił średnio 9-10%, w odniesieniu do kontroli, niezależnie od stężeń (Rys.1). Biorąc pod uwagę zmiany wywołane w poziomie chlorofilu a i chlorofilu b można stwierdzić, że wzrost sumarycznej zawartości chlorofilu był w głównej mierze spowodowany wzrostem w poziomie chlorofilu b, o czym świadczy niższy niż w kontroli stosunek chlorofilu a do chlorofilu b (Tab.2).

W selerze naciowym wszystkie przebadane pochodne tetrazolo[2,1-c]-chinoksaliny wywołały wzrost sumarycznej zawartości chlorofilu jedynie w pierwszej z analizowanych faz, co w głównej mierze spowodowane było wzrostem w poziomie chlorofilu b (Tab.1), podobnie jak i w pietruszce naciowej. Średnio dla związków wzrost ten w stosunku do kontroli wynosił od 6% do 10% odpowiednio dla stężeń 0.01% i 0.1% (Rys. 2). W drugiej fazie tendencje zwiększone utrzymywały się w roślinach opryskanych związkami A i B, podczas gdy w trzeciej fazie ogólnie wystąpił spadek sumarycznej zawartości chlorofilu w porównaniu z roślinami kontrolnymi.

Poziom cukrów ogółem i kwasu askorbinowego w obu roślinach doświadczalnych w dużym stopniu uzależniony był od ich wieku fizjologicznego i ogólnie był tym wyższy, im starsze były rośliny (Tab 3, 4).



Rys. 1. Wpływ związków A-D (średnia) o stężeniu 0.01% i 0.1% na zawartość chlorofilu całkowitego w pietruszce naciowej



Rys. 2. Wpływ związków A-D (średnia) o stężeniu 0.01% i 0.1% na zawartość chlorofilu całkowitego w selerze naciowym

Tabela 3. Wpływ pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość cukrów w selerze naciowym i pietruszce naciowej w fazach wzrostu

Związki i ich stężenia	Cukry (% suchej masy)							
	w liściach selera				w liściach pietruszki			
	faza I	faza II	faza III	średnia	faza I	faza II	faza III	średnia
Kontrola	0.87	1.05	1.64	1.19	2.14	2.69	4.19	3.01
A-0.01%	1.40	1.63	2.50	1.84	2.14	4.43	6.01	4.19
B-0.01%	0.98	1.51	2.50	1.66	2.43	3.63	4.84	3.63
C-0.01%	0.98	1.23	2.15	1.45	2.54	2.74	4.31	3.20
D-0.01%	1.07	1.36	1.89	1.44	2.45	2.83	4.28	3.19
NIR _{0.05}	dla związków - 0.03 dla faz - 0.04				dla związków - 0.06 dla faz - 0.08			
A-0.1%	1.48	2.05	3.16	2.23	2.30	4.00	5.16	3.82
B-0.1%	1.05	1.62	2.33	1.67	2.13	3.34	4.24	3.24
C-0.1%	1.12	1.53	2.31	1.65	2.47	2.88	4.52	3.29
D-0.1%	1.14	1.37	2.03	1.51	2.58	3.08	4.92	3.53
NIR _{0.05}	dla związków - 0.04 dla faz - 0.05				dla związków - 0.06 dla faz - 0.08			

Tabela 4. Wpływ pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na zawartość witaminy C w selerze naciowym i pietruszce naciowej w fazach wzrostu

Związki i ich stężenia	Witamina C (mg%)							
	w liściach selera				w liściach pietruszki			
	faza I	faza II	faza III	średnia	faza I	faza II	faza III	średnia
Kontrola	40,92	51,86	83,07	58,62	126,72	138,74	132,68	136,05
A-0,01%	64,45	69,52	95,27	76,41	174,12	173,89	146,43	164,81
B-0,01%	53,39	62,92	100,91	72,41	145,56	162,57	171,99	160,04
C-0,01%	44,88	62,92	100,44	69,41	127,36	140,59	143,80	137,25
D-0,01%	43,12	55,29	91,52	63,31	115,36	126,02	132,83	124,74
NIR _{0,05}	dla związków - 1,08 dla faz - 1,52				dla związków - 1,85 dla faz - 2,62			
A-0,1%	63,30	79,64	83,54	75,49	183,48	195,24	143,62	174,11
B-0,1%	53,54	54,53	102,78	70,28	133,32	145,35	148,92	142,53
C-0,1%	39,16	60,63	84,48	61,42	131,12	143,38	154,88	143,13
D-0,1%	54,12	59,49	90,11	67,91	108,24	132,96	153,62	131,61
NIR _{0,05}	dla związków - 1,34 dla faz - 1,90				dla związków - 1,60 dla faz - 2,26			

Wszystkie zastosowane w doświadczeniu związki stymulująco działały na procentową zawartość cukrów w liściach selera i pietruszki (Tab. 3), przy czym większy wzrost w poziomie tego składnika zaznaczył się w przypadku selera i wynosił średnio, w stosunku do kontroli, od 35% dla stężenia 0.01% do 49% przy stężeniu związków 0.1%. W liściach pietruszki naciowej obserwowany wzrost w poziomie cukrów ogółem był tym niższy, im wyższe było stężenie związków i kształtował się na poziomie 15%/18%. Wielkość zmian w ilości cukrów w roślinach doświadczalnych w dużym stopniu uzależniona była również od zastosowanej pochodnej tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny, największy wzrost wystąpił pod wpływem związku A.

Zawartość witaminy C w obu testowanych roślinach także uległa istotnym zmianom w wyniku działania związków A-D (Tab. 4). W selerze naciowym we wszystkich kombinacjach zaobserwowano znaczny wzrost w poziomie kwasu askorbinowego, który wynosił średnio 20%/17% odpowiednio dla stężeń 0.01% i 0.1%. W pietruszce naciowej natomiast stymulująco na zawartość witaminy C działały związki A, B i C, dla których średni wzrost, w stosunku do kontroli, wynosił 13% dla obu zastosowanych stężeń.

4. Dyskusja

Jakość roślin uprawnych zależy między innymi od wydajności procesu fotosyntezy, dlatego też ocena zawartości barwników fotosyntezujących, a zwłaszcza chlorofilu ma zastosowanie w badaniu wpływu na rośliny różnych czynników zewnętrznych, w tym związków chemicznych [12-15].

Przeprowadzone doświadczenia wskazują na pewien stopień oddziaływania badanych pochodnych tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny na poziom chlorofilu w liściach pietruszki naciowej i selera naciowego. Stopień zmian uzależniony był od rośliny, jej wieku fizjologicznego, a także od związku i jego stężenia. Wyniki innych prac dotyczących wpływu różnych związków chemicznych na aparat fotosyntezy, także wskazują na podobne uzależnienia [16-19].

Z przeglądu literaturowego wynika, że stosowane w rolnictwie związki aktywne biologicznie w różnorodny sposób wpływają na poziom cukrów i witaminy C w roślinach uprawnych. Działanie to uzależnione jest od wielu czynników: rodzaju, gatunku a nawet odmiany roślin, czy ich faz rozwojowych, rodzaju i stężenia użytego związku oraz innych czynników środowiska [20-22]. W naszej pracy zaobserwowano, że zastosowane pochodne tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny stymulująco oddziałują na zawartość cukrów i witaminy C w liściach pietruszki naciowej i selera naciowego. Stopień zmian, podobnie jak w innych doniesieniach, uzależniony był w dużej mierze od rośliny i jej wieku fizjologicznego, a także od rodzaju kombinacji.

Przeprowadzone badania wskazują, że wszystkie zastosowane pochodne tetrazolo[2,1-c]chinoksaliny w znacznym stopniu oddziałują na wzrost i rozwój roślin, czego dowodem są zaobserwowane zmiany w ich składzie biochemicznym, obok zmian aktywności enzymatycznych opisanych w części I niniejszej pracy.

LITERATURA

1. B. Baraniak, M. Bubicz, M. Bochniarz: Wpływ herbicydów na zawartość karotenów, α -tokoferolu i kwasu L-askorbinowego w kapuście pastewnej, Pam. Puł., Prace IUNG, 1982, 77, 143-149.
2. R. Ciszewska, W. Wójcik, A. Sykut, J. Szynal: Wpływ herbicydów triazynowych i mocznikowych na zawartość frakcji białkowych i białka ogólnego w ziarnie trzech odmian pszenicy ozimej, Roczn. Nauk Rol., S.E., 1981, 11(1-2), 39-48.
3. A. Dobrzański: Wpływ ochrony przed chwastami na technologię produkcji, jakość i wartość biologiczną warzyw, XXXI Sesja Nauk. IOR, Cz I - Referaty, 1991, 125-133.
4. M. Łoś-Kuczera, Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych, PZWL, Warszawa 1991.
5. J. Bode, A. Wild: The influence of (2-chloroethyl)tri-methylammonium-chloride (CCC) on growth and photosynthetic metabolism of young wheat plants (*Triticum aestivum* L.), J. Plant Physiol., 1984, 116, 435-446.
6. Z. Ciećko, G. Nowak: Wpływ pestycydów na wysokość plonu i jakość bulw ziemniaka, Pestycydy, 1989, 3, 17-23.
7. M. Fernandez-Pascual, J.M. Pozuelo, M.T. Serra, M.R. De Felipe: Effects of cyanazine and linuron on chloroplast development, nodule activity and protein metabolism in *Lupinus albus* L., J. Plant Physiol., 1988, 133, 288-294.
8. T. Shah, G. Prathapasenan: Effect of CCC on the growth and yield of Mung bean (*Vigna radiata* [L.] Wilczek var. Guj-2), J. Agronomy Crop. Sci., 1991, 166(1), 40-47.
9. D.I. Arnon: Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. General concept and comparison of three photochemical reactions, Biochem. Biophys. Acta, 1956, 20, 449-461.
10. J. Bruinsma: The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts, Photochem. Photobiol., 1963, 2, 241-249.
11. U. Rutkowska, Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności, PZWL, Warszawa, 1981, 150-152, 293-296.
12. E.W. Carroll, O.J. Schwarz, L.G. Hickok: Biochemical studies of paraquat - tolerant mutants of the fern *Ceratopteris richardii*, Plant Physiol., 1988, 87, 651-654.
13. E.F. Elstner, W. Osswald: Chlorophyll photobleaching and ethane production in dichlorophenylmethylurea-(DCMU) or paraquat-treated *Euglena gracilis* cells, Z. Naturforsch., 1980, 35c, 129-135.
14. K.H. Grumbach: Herbicides which inhibit electron transport or produce chlorosis and their effect on chloroplast development in radish seedlings. I. Chlorophyll a fluorescence transients and photosystem II activity, Z. Naturforsch., 1982, 37c, 268-275.

15. M. Hurej, R. Śnieżko: Wpływ wybranych pestycydów na fotosyntezę i plon roślin chronionych, *Post. Nauk Roln.*, 1986, 4, 51-62.
16. P. Aberg, T. Popoff, O. Theander: Plant growth regulators 2,4-D and related substances, *Swed. J. Agr. Res.*, 1982, 12, 41-50.
17. R. Czerpak, Pobudzający wpływ auksyn i cytokinin na wzrost i zawartość niektórych metabolitów u *Chlorella pyrenoidosa*, *Wyd. Filii UW w Białymstoku*, 1990.
18. P. Douschkova, N. Kouzmanow, D. Ninova, T. Kostova, T. Paskov: Effect of 6-benzylaminopurine on photosynthetic activities and pigment contents of 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid - treated sunflower plants, *Photosynthetica*, 1989, 23(3), 390-394.
19. A. Mostowska, D. Fiett, E. Parys: Influence of 1,10-phenanthroline, a photodynamic herbicide, on the ultrastructure of mesophyll cells and photosynthetic activity in greening pea seedlings, *Environ. Exp. Bot.*, 1991, 31(4), 385-395.
20. St. Ficnar: Vliv retardované nitrifikace na zastoupení aminokyselin v semenach hrachu. *Rostlinná Vyroba*, 1991, 37(4), 371-375.
21. D. Murawa, B. Adomas: Wpływ Afalonu i Bladexu 50 WP na wartość biologiczną nasion nowych odmian łubinu wąskolistnego i żółtego, *Mat. XXX Sesji Nauk.*, IOR, Cz. II, 1990, 231-235.
22. B. Schaller, B. Schneider, H.R. Schütte: Investigations on the selectivity and the metabolism of the herbicide bromoximil in plants, *J. Plant Physiol.*, 1991, 139, 243-245.

E. Gurgul,
B. Herman,
R. Biczak,
E. Lippmann

The influence of tetrazole[2,1-c]quinoxaline derivatives on the metabolism in celery and leafy parsley

PART II. The changes of chlorophyll, sugars and vitamin C levels at plants development process

Abstract: The influence of tetrazole[2,1-c]quinoxaline derivatives on the contents of chlorophyll (a+b), vitamin C and sugars in leaves of celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce* Pers.) and leafy parsley (*Petroselinum hortense* Hoffm. *macrocarpum* Mark.) during their growth stages was investigated.

The used compounds caused the changes of biochemical composition of experiment plants. There was observed the increase of total sugars and vitamin C in treatments with tested chemicals.