

Daniela Rotkiewicz, Danuta Murawa*, Iwona Konopka, Kazimierz Warmiński*

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, * Katedra Ochrony Roślin

Glukozynolany nasion dwóch odmian rzepaku jarego traktowanego herbicydami

Glucosinolates of two varieties of spring rapeseed treated with herbicides

Słowa kluczowe: rzepak jary, odmiana, glukozynolany, herbicydy

Key words: spring oilseed rape, variety, glucosinolates, herbicides

W nasionach dwóch odmian rzepaku jarego, Star i Lisonne, pochodzących z upraw traktowanych herbicydami Triflurotox 250 EC, Alanex 480 EC, Butisan 400 SC, Lontrel 300 i Alatrif 380 EC, oznaczono zawartość poszczególnych glukozynolanów zgodnie z PN-93/R-66166. Stwierdzono, że nasiona rzepaku odmiany Star posiadały zbliżoną zawartość glukozynolanów alifatycznych i indolowych, podczas gdy nasiona odmiany Lisonne prawie dwukrotnie więcej glukozynolanów indolowych. Stosowane preparaty nie wpływały na ogólną ilość glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego oraz nie zmieniły biosyntezy poszczególnych ich form.

In the seeds of two varieties of spring rapeseed Star and Lisonne from the plots treated with herbicides Triflurotox 250 EC, Alanex 480 EC, Butisan 400 SC, Lontrel 300 and Alatrif 380 EC the content of different forms of glucosinolates (according to Polish Standard PN-93/R-66166) was investigated. It was stated that the seeds of Star variety had the equal content of aliphatic and indole glucosinolates while the seeds of Lisonne variety almost twice as many indole forms. Used herbicides did not influence the total amount of glucosinolates in the seeds and did not change the biosynthesis of their different forms.

Wstęp

Glukozynolany pełnią szereg ważnych funkcji fizjologicznych w roślinach krzyżowych, m.in. mają działanie antygrzybowe (Brown i Morra 1995, Drozdowska 1994), hamują rozwój szkodników oraz są fitotoksyczne (Waligóra i Krzymańska 1993). Większość tych funkcji spełniają glukozynolany zawarte w zielonych częściach roślin i z tego powodu prace hodowlane zmierzają do tworzenia odmian bogatych w glukozynolany w liściach i pędach, przy jednocześnie jak najniższej koncentracji w nasionach (Bartkowiak-Broda i Krzymański 1992, Drozdowska 1994). Glukozynolany są ponadto magazynem siarki dla rozwijającej się rośliny, a zmniejszenie ich ilości w odmianach podwójnie

ulepszonych może obniżać siłę witalną roślin, przez co stają się łatwiej celem ataku szkodników i patogenów (Schnug cyt. przez Drozdowską 1994).

Obecność glukozynolanów i produktów ich degradacji w wytlókach i śrucie rzepakowej jest jedną z przyczyn ograniczonego ich wykorzystania do produkcji pasz. Szkodliwy wpływ mają tylko produkty rozpadu glukozynolanów alifatycznych o działaniu goitrogennym oraz powodującym uszkodzenia wątroby i nerek (Fenwick i in. 1983, Bjerg i in. 1989, Duncan i Milne 1992, Rakowska 1997). Żywienie zwierząt śrutą bogatą w te związki hamuje ich wzrost, rozwój i produktywność (Kudła 1997). Obecność glukozynolanów jest niekorzystna także w technologii przerobu nasion rzepaku na olej, gdyż niektóre produkty ich rozkładu rozpuszczają się w olejach nadając im nieprzyjemny zapach oraz stanowią trucizny katalizatorów uwodornienia (Niewiadomski 1993, Sørensen 1990). Zawartość glukozynolanów alifatycznych w nasionach rzepaku odmian podwójnie ulepszonych nie powinna przekraczać 25 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b. (PN-90/R-66151). Zdaniem hodowców (Rakowska 1997, Krzymański cyt. przez Rakowską 1997) wymagania tej normy są zbyt tolerancyjne, zwłaszcza że średnia ilość glukozynolanów w polskich odmianach rzepaku pozostaje na poziomie 8–15 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b. nasion. Zawartość glukozynolanów indolowych w nasionach rzepaku nie jest limitowana, zarówno z uwagi na brak doniesień o toksyczności ich pochodnych, jak i na udokumentowane działanie przeciwnowotworowe (Bailey i Williams cyt. przez Ciską 1997, Rakowska 1997).

Nasze wcześniejsze badania (Rotkiewicz i in. 1997, 1998) wykazały, że czynnikiem istotnie różnicującym zawartość glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego są herbicydy. W pracach tych oznaczano całkowitą ilość glukozynolanów metodą glukozową (Heaney 1988). Wykazano w nich, że spośród użytych w badaniach preparatów Triflurotox 250 EC powodował zwiększenie, a Alanex 480 EC obniżenie zawartości glukozynolanów w nasionach rzepaku. Prezentowane badania są ich kontynuacją i mają na celu poznanie wpływu stosowanych herbicydów na zawartość poszczególnych form glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego.

Material i metody

Materiałem badawczym były próbki nasion rzepaku jarego odmian podwójnie ulepszonych: Star i Lisonne, ze zbiorów 1998 roku, pochodzące z upraw traktowanych herbicydami (tab. 1).

Tabela 1

Schemat stosowania herbicydów — *The scheme of herbicide applying*

Obiekty <i>Objects</i>	Zawartość substancji biologicznie czynnej <i>The content of biologically active compound</i> [%]	Dawka herbicydu <i>Herbicide dose</i> [dm ³ /ha]	Termin stosowania <i>Term of applying</i>
Kontrola*	—	—	—
Alatrif 380 EC	alachlor 30%, trifluralina 8%	4,0	po siewie — <i>after sowing</i>
Alanex 480 EC	alachlor 48%	5,0	po siewie — <i>after sowing</i>
Butisan 400 SC	metazachlor 40%	3,0	po siewie — <i>after sowing</i>
Lontrel 300	clopyralid 30%	0,3	w fazie 4–6 liści rzepaku <i>at the 4-6 leaflets stage</i>
Triflurotox 250 EC	trifluralina 25%	3,5	przed siewem — <i>before sowing</i>

* — kontrola (poletka nie odchwaszczane) — *control sample (non-weeded plots)*

Analizy glukozynolanów, po ich desulfatacji, dokonano metodą HPLC na kolumnie w odwróconej fazie Spherisorb ODS-2 3 micron o wymiarach 150 x 4,6 mm. Detekcji dokonywano przy długości fali $\lambda = 229$ nm, a do obliczania zawartości GLS zastosowano współczynniki korekcyjne zgodne z PN-93/R-66166.

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu analizy wariancji z testami NIR przy $\alpha \leq 0,05$.

Omówienie i dyskusja wyników badań

W nasionach obu odmian rzepaku stwierdzono występowanie pięciu glukozynolanów alifatycznych, czterech indolowych i jednego arylowego (tab. 2, 3). W rzepaku odmiany Star ogólna ilość glukozynolanów w nasionach kontrolnych wynosiła 20,69 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b. i była o około 25% wyższa niż w nasionach odmiany Lisonne. Oznaczone ilości glukozynolanów w próbach rzepaku odmiany Star są zgodne z wynikami badań COBORU za lata 1996–1997, natomiast wyniki oznaczeń ilości glukozynolanów w próbach nasion rzepaku odmiany Lisonne (15,31 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b.) wykazały ich znacznie wyższą zawartość niż w opisach odmian (5,1 μmola glukozynolanów/1 g nasion) (Wałkowski 1998). Porównanie wyników obecnych badań z danymi wcześniejszymi (Rotkiewicz i in. 1997, 1998) wskazuje, że odmiana Star charakteryzuje się większą zmiennością w zakresie nagromadzania glukozynolanów (wahania ilości w różnych obiektach badawczych

od 9,88 do 19,84, podczas gdy w odmianie Lisonne od 7,45 do 12,40 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b.). Nasiona ze zbiorów 1998 r. pod względem zawartości glukozynolanów podobne są do prób z 1995 r. Wydaje się, że jednym z ważniejszych czynników zmienności ich biosyntezy są warunki pogodowe w czasie wegetacji. Potwierdzają to poczynione wcześniej (Rotkiewicz i in. 2000) spostrzeżenia, że lata suche i ciepłe sprzyjają odkładaniu glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego.

Tabela 2
Zawartość poszczególnych form glukozynolanów w próbach rzepaku jarego odmiany Star traktowanego herbicydami — *The content of glucosinolates in seeds of Star variety of spring rape treated with herbicides*

Glukozynolany <i>Glucosinolate</i>	Kontrola <i>Control</i>	Triflurotox 250 EC	Alanex 480 EC	Butisan 400 SC	Lontrel 300	Alatrif 380 EC	Średnia <i>Mean</i>
Progoitryna	6,78	7,11	7,11	6,69	7,23	6,59	6,92
Napoleiferyna	0,06	0,08	0,17	0,10	0,09	0,17	0,11
Glukoallizyna	0,30	0,33	0,28	0,30	0,26	0,41	0,31
Glukonapina	2,66	2,74	2,62	2,43	2,83	2,54	2,64
Glukobrassikanapina	0,44	0,44	0,35	0,28	0,39	0,37	0,38
Glukonasturecyna	0,18	0,19	0,18	0,19	0,19	0,17	0,18
Glukobrassicyna	0,73	0,68	0,66	0,70	0,68	0,71	0,69
4-OH-glukobrassicyna	9,42	9,13	8,65	8,83	8,98	9,30	9,05
4-metoksyglukobrassicyna	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,04	0,03
Neoglukobrassicyna	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,04
Suma alkenowych <i>Total aliphatic</i>	10,30	10,69	10,54	9,80	10,80	10,08	10,37
Suma indolowych <i>Total indole</i>	10,03	9,68	9,38	9,42	9,55	9,93	9,67
Ogółem — <i>Total</i>	20,69	20,75	20,29	19,61	20,73	20,36	20,41

Glukozynolany alifatyczne stanowiły nieco ponad 50% ogółu glukozynolanów w rzepaku odmiany Star i około 35% w odmianie Lisonne. W obu odmianach rzepaku i przy różnych wariantach stosowania herbicydów dominowała progoitryna, która w odmianie Star stanowiła 65,4–68,3% ich sumy, a w odmianie Lisonne 58,2–61,1% (tab. 2, 3). Drugim pod względem ilościowym glukozynolanem alifatycznym była glukonapina, stanowiąca około 25% ich ogółu w odmianie Star i około 35% w odmianie Lisonne. Zawartość glukozynolanów indolowych w nasionach obu odmian rzepaku była mniej zróżnicowana. Wśród nich zdecydowanie dominowała 4-OH-glukobrassicyna, stanowiąca od 92,2 do 94,7% ogółu. Stwierdzone w badaniach proporcje ilościowe glukozynolanów są podobne do wyników badań innych autorów (Drozdowska 1994, Kudła 1997).

Tabela 3

Zawartość poszczególnych form glukozynolanów w próbach rzepaku jarego odmiany Lisonne traktowanego herbicydami — *The content of glucosinolates in seeds of Lisonne variety of spring rape treated with herbicides*

Glukozynolany <i>Glucosinolate</i>	Kontrola <i>Control</i>	Triflurotox 250 EC	Alanex 480 EC	Butisan 400 SC	Lontrel 300	Alatrif 380 EC	Średnia <i>Mean</i>
Progoitryna	3,32	3,25	2,92	3,25	3,08	3,02	3,14
Napoleiferyna	0,09	0,09	0,12	0,14	0,08	0,12	0,11
Glukoallizyna	0,11	0,09	0,13	0,12	0,09	0,15	0,12
Glukonapina	1,95	2,00	1,57	1,90	1,89	1,68	1,83
Glukobrassikanapina	0,10	0,09	0,05	0,10	0,10	0,05	0,08
Glukonasturcyna	0,11	0,09	0,11	0,10	0,09	0,09	0,10
Glukobrassicyna	0,59	0,59	0,56	0,56	0,52	0,56	0,57
4-OH-glukobrassicyna	8,97	8,83	8,47	9,67	8,35	9,23	8,92
4-metoksyglukobrassicyna	0,00	0,00	0,003	0,023	0,00	0,00	0,00
Neoglukobrassicyna	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,08
Suma alkenowych <i>Total aliphatic</i>	5,57	5,51	4,78	5,51	5,29	5,01	5,28
Suma indolowych <i>Total indole</i>	9,53	9,42	9,00	10,23	8,85	9,56	9,46
Ogółem — <i>Total</i>	15,31	15,11	13,99	15,93	14,32	14,96	14,94

Analiza statystyczna wyników wykazała, że stwierdzone różnice w zawartości poszczególnych form glukozynolanów w próbach nasion rzepaku pochodzących z upraw ze stosowaniem herbicydów nie są istotne (tab. 4). Nie potwierdził się zatem wpływ preparatu Triflurotox 250 EC na zwiększanie ilości glukozynolanów, stwierdzony w latach 1995 i 1997. Zauważono tendencję do zmniejszania pod wpływem stosowania herbicydu Alanex 480 EC ilości glukozynolanów alifatycznych w nasionach rzepaku Lisonne. Może to wskazywać na silniejsze oddziaływanie interakcji herbicyd x warunki uprawy niż samych preparatów chwastobójczych na syntezę glukozynolanów. Ocena statystyczna wykazała jednocześnie różnice między odmianami w występowaniu poszczególnych form glukozynolanów. Największa istotna różnica ilościowa wystąpiła w przypadku progoitryny, przy czym nasiona odmiany Lisonne zawierały jej 2,2-krotnie mniej (tab. 4). Badane odmiany nie różniły się natomiast od siebie w ilości napoleiferyny (0,11 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b. w obu odmianach) oraz 4-OH-glukobrassicyny (odpowiednio 9,05 i 8,92 $\mu\text{mol/g}$ s.m.b. w odmianie Star i Lisonne).

Tabela 4

NIR pomiędzy średnią zawartością poszczególnych glukozynolanów w próbach rzepaku jarego — *LSD between average content of different glucosinolates in spring rapeseeds*

Glukozynolany <i>Glucosinolate</i>	Odmiana <i>Variety</i>		NIR odmiana <i>LSD variety</i>	
	Star	Lisonne	$\alpha = 0,01$	$\alpha = 0,05$
Progoitryna	6,92	3,14	0,65	0,47
Napoleiferyna	0,11	0,11	r.n.	r.n.
Glukoallizyna	0,31	0,12	0,08	0,06
Glukonapina	2,64	1,83	0,28	0,20
Glukobrassikanapina	0,38	0,08	0,07	0,05
Glukonasturcyna	0,19	0,10	0,03	0,02
Glukobrassicyna	0,69	0,56	0,05	0,04
4-OH-glukobrassicyna	9,05	8,92	r.n.	r.n.
4-metoksyglukobrassicyna	0,028	0,004	0,014	0,099
Neoglukobrassicyna	0,043	0,076	0,010	0,007
Suma alkenowych — <i>Total aliphatic</i>	10,37	5,28	0,96	0,68
Suma indolowych — <i>Total indole</i>	9,66	9,46	r.n.	r.n.
Ogółem — <i>Total</i>	20,41	14,94	1,33	0,95

r.n. — różnica nieistotna $\alpha \leq 0,05$ — *not significantly different $\alpha \leq 0,05$*

NIR herbicydy – różnica nieistotna — *LSD herbicides – not significantly different*

NIR interakcja herbicyd x odmiana — różnica nieistotna
LSD interaction herbicide x variety — not significantly different

Podsumowanie badań

Badania roku 1998 nie potwierdziły wpływu herbicydów Alatrif 380 EC, Alanex 480 EC, Butisan 400 SC, Lontrel 300 i Triflurotox 250 EC na ogólną ilość glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego odmian Star i Lisonne, jak i nie wykazały oddziaływania na biosyntezę poszczególnych form. Wyniki trzyletnich badań wskazują, że odkładanie glukozynolanów w nasionach rzepaku jarego jest warunkowane interakcyjnym oddziaływaniem grupy czynników, takich jak: odmiana rzepaku, rok zbioru (warunki klimatyczne uprawy) oraz rodzaj stosowanego herbicydu.

Literatura

- Bartkowiak-Broda I., Krzymański J. 1992. Kierunki badań nad rzepakiem na świecie. *Hodowla Roślin, Nasien.*, 5: 9-14.
- Bjerg B., Eggum B.O., Jacobsen I., Otte J., Sørensen H. 1989. Antinutritional and toxic effects in rats of individual glucosinolates (\pm myrosinases) added to a standard diet (2), *Zeitschr. Tierphysiol., Tierernährung u. Futtermittelkd.*, 61: 227-244.
- Brown P.D., Morra M.J. 1995. Glucosinolate-containing plant tissues as bioherbicides. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 3070-3074.
- Butler E.J., Pearson A.W., Fenwick G.R. 1982. Problems that limit the use of rapeseed meal as a protein source in poultry diets. *J. Sci. Food Agric.*, 33: 866-875.
- Ciska E. 1997. Glukozynolany w warzywach z rodziny *Cruciferae* oraz zmiany ich zawartości pod wpływem wybranych procesów technologicznych. Praca doktorska IRZiBŻ PAN Olsztyn.
- Drozdowska L. 1994. Rola biologiczna glukozynolanów. *Postępy Nauk Rolniczych*, 5: 61-67.
- Duncan A.J., Milne J.A. 1992. Rumen microbial degradation of allyl cyanide as a possible explanation for the tolerance of sheep to brassica derived glucosinolates. *J. Sci. Food Agric.*, 58: 15-19.
- Fenwick G.R., Heaney R.K., Mullin M.J. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 123-201.
- Heaney R.K., Spinks E.A., Fenwick G.R. 1988. Improved method for the determination of the total glucosinolate content of rapeseed by determination of enzymically released glucose. *Analyst*, 113: 1515-1517.
- Kudła M. 1997. Zagadnienie glukozynolanów w hodowli jakościowej rzepaku (*Brassica napus*). *Rośliny Oleiste*, XVIII (1): 119-130.
- Niewiadomski H. 1993. Technologia tłuszczów jadalnych. WNT, Warszawa.
- Rakowska M. 1997. Właściwości chemiczne i biologiczne glukozynolanów rzepaku. *Biuletyn IHAR*: 373-383.
- Rotkiewicz D., Murawa D., Konopka I. 2000. Biologicznie aktywne nieodżywcze składniki nasion rzepaku jarego traktowanego herbicydami. *Streszczenia XL Sesji Naukowej IOR, Poznań* 24-25 luty, str. 59.
- Rotkiewicz D., Murawa D., Konopka I., Adomas B. 1998. Wpływ herbicydów na zawartość związków antyżywniowych w nasionach rzepaku jarego ze zbiorów 1997 r. *Rośliny Oleiste*, XIX (2): 537-542.
- Rotkiewicz D., Nowak-Polakowska H., Murawa D., Konopka I. 1997. Wpływ herbicydów na zawartość związków antyżywniowych w nasionach rzepaku jarego ze zbiorów 1995 r. *Rośliny Oleiste*, XVIII (2): 415-420.
- Sørensen H. 1990. Glucosinolates – Structure, properties, function. Chapter 9 in „Canola and Rapeseed. Production, Chemistry, Nutrition and Technology”. Ed. F. Shahidi, published by Van Nostrand Reinhold, New York: 149-172.
- Waligóra D., Krzymańska J. 1993. Aktywność biologiczna glukozynolanów wyizolowanych z liści rzepaku. *Postępy Nauk Rolniczych*, 5: 151-156.
- Wałkowski T. 1998. Rzepak jary. IHAR Poznań.