

Received: 29.12.2016 / Accepted: 23.02.2017

Chlorophyll a + b content in leaves of spring barley after MCPA and selected HILs application

Zawartość chlorofilu a + b w liściach jęczmienia jarego po zastosowaniu MCPA oraz wybranych HILs

Marcin Grobela*

Summary

The aim of the study was to examine the effect of spraying two herbicidal ionic liquid forms of MCPA (HILs – [Etq O-12][MCPA], [DDA][MCPA]) on chlorophyll a + b content in leaves of spring barley (*Hordeum vulgare* L.). Spectrophotometric method was used to measure chlorophyll a + b content 24 and 72 h after fields were sprayed. The data was compared to controls that consisted of the treatments using a commercial formulation of MCPA as a salt or ester. The field studies revealed that after 24 h of MCPA as a salt spraying chlorophyll a + b content in spring barley was lower by 12% and after 72 h by 18%. The application of MCPA as an ester lowered the chlorophyll a + b amount by just 9%, as a HILs resulted in decrease by about 3% compared to control plots. The results do not confirm a significant impact on the content of photosynthetic pigments in spring barley, but they show that the application of HILs as an alternative herbicide can reduce the undesirable effects of MCPA.

Key words: chlorophyll; herbicidal ionic liquids; MCPA; spring barley

Streszczenie

Celem prowadzonych badań była spektrofotometryczna ocena zmian zawartości chlorofilu w liściach jęczmienia jarego po 24 i 72 h od zastosowanego opryskiwania powszechnie stosowanymi środkami ochrony roślin na bazie MCPA (Chwastox Extra 300 SL, Chwastox AS 600 EC) oraz wybranymi herbicydowymi cieczami jonowymi HILs ([Etq O-12][MCPA], [DDA][MCPA]). Poziom chlorofilu a + b w jęczmieniu jarym po 24 h, na który zaaplikowano MCPA w postaci soli był niższy o 12%, a po 72 h aż o 18% w porównaniu do stężenia barwników roślin z poletek kontrolnych. Po aplikacji MCPA w postaci estru zawartość chlorofilu a + b również była niższa, ale tylko o około 9%. Zabiegi przeprowadzone wyłącznie HILs powodowały jego bardzo małe spadki wynoszące około 3%. Uzyskane wyniki nie potwierdzają istotnego wpływu stosowania MCPA na zawartość pigmentów fotosyntetycznych w jęczmieniu jarym, jednak pokazują, że aplikacja HILs jako herbicydu alternatywnego może ograniczyć niepożądane efekty jego działania.

Słowa kluczowe: chlorofil; herbicydowe cieczki jonowe; MCPA; jęczmień jary

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań

*corresponding author: grobela@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Chlorofile to grupa barwników fotosyntetycznych występujących głównie w roślinach wyższych, glonach oraz cyjanobakteriach. Fotosynteza jest podstawowym procesem fizjologicznym roślin, od jej aktywności zależy m.in. wysokość uzyskanego plonu. Kluczową rolę w prawidłowym przebiegu fotosyntezy odgrywa zapotrzebowanie roślin na makro- i mikroelementy, a przede wszystkim magnez (Ceylan i wsp. 2016; Tatagiba i wsp. 2016; Tränkner i wsp. 2016) i żelazo, które jest aktywatorem syntezy chlorofilu (Politycka 2007). Na procesy fizjologiczne zachodzące w roślinach znaczący wpływ mogą wywierać także substancje czynne zawarte w powszechnie stosowanych środkach ochrony roślin. W zależności od ich budowy i właściwości mogą one prowadzić do zmian strukturalnych białek, lipidów, kwasów nukleinowych oraz chlorofilu, zaburzając prawidłowy przebieg niektórych szlaków metabolicznych (Ekmekci i Terzioğlu 2005). W badaniach Wang i Zhou (2006) oraz Žaltauskaitė i Brazaitytė (2013) stwierdzono zmniejszoną zawartość chlorofilu w roślinach po zastosowaniu różnych herbicydów. W innych pracach autorzy przedstawiają różne zależności między zawartością chlorofilu w roślinach a stosowaniem herbicydów. Analizy prowadzone przez Łozowicką i wsp. (2016) pokazują, że stosowanie herbicydów zawierających w swoim składzie MCPA i dikambę spowodowało spadek zawartości chlorofilu w roślinach, jednakże łączne stosowanie herbicydu i fungicydu przyczyniało się do wzrostu jego stężenia w liściach trzech odmian pszenicy jarej. Natomiast Žaltauskaitė i Kišonaitė (2014) w swoich badaniach wykazali, że stosowanie MCPA przyczynia się do zmniejszenia suchej masy łodyg i korzeni pszenicy jarej, bez wywołania znaczącego wpływu na zawartość fotosyntetycznych pigmentów w tkankach roślinnych. Tatarková i wsp. (2013) przeprowadzili obserwacje, z których wynika, że obecność MCPA w glebie nie ma znaczącego wpływu na zawartość chlorofilu w liściach słonecznika.

Dużym zainteresowaniem w ostatnim czasie cieszą się tzw. herbicydowe ciecze jonowe (HILs), których stosowanie mogłoby wyeliminować negatywne skutki działania tradycyjnych środków ochrony roślin (Hough i wsp. 2007; Pernak i wsp. 2011; Shamshina i wsp. 2015). HILs charakteryzują się mniejszą mobilnością w glebie oraz wodach gruntowych, posiadają wysoką aktywność powierzchniową, co niweluje potrzebę stosowania adiuwantów lub surfaktantów, są bezpieczniejsze w stosowaniu, a dawka substancji czynnej, w porównaniu z obecnie stosowanymi herbicydami, może być znacząco obniżona przy zachowaniu ukierunkowanych właściwości biologicznych z wybranymi właściwościami chemicznymi i fizycznymi (Praczyk i wsp. 2012; Pernak i wsp. 2013; Grobela 2016).

Celem podjętych badań była ocena łącznej zawartości chlorofilu a i b w liściach jęczmienia jarego po zastosowaniu herbicydów na bazie MCPA w postaci soli i estru oraz wybranych herbicydowych cieczy jonowych. Badania zostały przeprowadzone w warunkach polowych.

Materiały i metody / Materials and methods

W badaniach zastosowano dostępne w handlu dwie formułacje MCPA: w postaci soli sodowo-potasowej [Chwastox Extra 300 SL (Ch300), producent Zakłady Chemiczne Organika-Sarzyna S.A. Nowa Sarzyna, Polska] oraz w postaci estru 2-etyloheksylowego [Chwastox AS 600 EC (Ch600), producent Zakłady Chemiczne Organika-Sarzyna S.A. Nowa Sarzyna, Polska], a także będące w fazie badań herbicydowe ciecze jonowe: [Etq O-12][MCPA] (ETQ) (4-chloro-2-metylofenoksy)octan ethoquadu O-12 oraz [DDA][MCPA] (DDA) (4-chloro-2-metylofenoksy)octan didecyldimetyloamoniowy. Herbicydowe ciecze jonowe zostały zsyntetyzowane w Zakładzie Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej oraz opisane przez Pernaka i wsp. (2011).

Badania polowe prowadzone były w 2014 roku w Terenowej Stacji Doświadczalnej w Winnej Górze (E17°26', N52°12'). Jęczmień jary (*Hordeum vulgare* L.) odmiany KWS Olof uprawiany był na poletkach doświadczalnych o powierzchni 16,5 m². Doświadczenie założono w układzie losowanych bloków, w czterech powtórzeniach z uwzględnieniem poletek kontrolnych, na których nie stosowano opryskiwania. Jako substancje odniesienia zostały użyte handlowo dostępne herbicydy – Ch300 oraz Ch600. Omawiane herbicydy oraz HILs aplikowano w takiej dawce, aby stężenie substancji czynnej było takie samo i wynosiło 900 g/ha. Roztwory stosowano w fazie rozwojowej BBCH 14 opryskiwaczem plecakowym Aporo (Poznań, Polska) wyposażonym w dysze płaskostrumieniowe TeeJet® DG110/02 (TeeJet Technologies, Wheaton, IL, USA) o wydajności 200 l/ha i ciśnieniu roboczym 0,3 MPa.

Rośliny do oznaczeń chlorofilu pobrano losowo z każdego poletka doświadczalnego. Analizie zostały poddane najmłodsze, w pełni rozwinięte liście. Zawartość chlorofilu oznaczona została zgodnie z metodą Arnona i wsp. (1956), z modyfikacją Lichtenthalera i Wellburna (1983). Do ok. 0,5 g schłodzonych liści dodano 5–10 ml 80% acetonu, ok. 0,1 g CaCO₃ i piasku kwarcowego, wszystko dokładnie roz tarto w moździerz, przeniesiono ilościowo i przesączono do kolby miarowej. Moździerz dokładnie przemyto małymi porcjami 80% acetonu. Końcową objętość przesączu ustalono na 50 ml. Oznaczenia zawartości chlorofilu dokonano przy pomocy spektrofotometru Unicam Helios ę przy długościach fal: 645 oraz 663 nm.

Wyniki zawartości chlorofilu a + b [mg/g ś.m.] obliczono wg wzoru:

$$C_{chl(a+b)} = (8,02 \times A_{(663)} + 20,2 \times A_{(645)}) \times ((V/1000) \times w)$$

A 645–663 – wartość absorbancji mierzonej przy długości fali 645–663 nm,

V – całkowita objętość ekstraktu [ml],

w – masa próbki [g],

8,02 i 20,2 – współczynniki przeliczeniowe.

Do wyznaczenia relacji między zawartością chlorofilu w liściach jęczmienia jarego, zastosowanego preparatu oraz terminu poboru próbek, użyto modeli mieszanych z wykorzystaniem biblioteki lme4 dla środowiska R (Bates i wsp. 2015; R Core Team 2016).

Do modelowania jako efekty stałe włączono zabiegi herbicydami oraz termin poboru prób (z interakcjami). Jako efekty losowe przyjęto powtórzenia pomiarów na poletkach doświadczalnych.

Wizualna kontrola wartości reszkowych nie wykazała oczywistych odchyłeń od założeń: homoskedastyczności i normalności. Wartości p (prawdopodobieństwo popełnienia błędu I rodzaju) uzyskano na podstawie testu ilorazu wiarygodności (likelihood ratio test), w którym przeciwstawiono sobie modele: maksymalny (gdzie termin i zabieg były efektami stałymi) i model uproszczony (gdzie tylko termin lub tylko zabieg był efektem stałym).

W następnym etapie przeprowadzono test post hoc przy użyciu testu par z poprawką Tukeya z biblioteki lsmeans (Lenth 2016).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Nowoczesne rolnictwo, poprzez stosowanie środków ochrony roślin, może przyczyniać się do wystąpienia w roślinie stresu abiotycznego (Devine i Shukla 2000). Konsekwencją wystąpienia takiego stresu może być ograniczona produkcja fotosyntetyczna, degradacja chlorofilu, a także konieczność uruchomienia przez rośliny procesów związanych z adaptacją do niekorzystnych warunków środowiskowych (Starck 2008).

Przeprowadzone zabiegi ochrony roślin, jak i termin poboru prób mogą wpływać na zawartość chlorofilu w liściach jęczmienia jarego (odpowiednio – chi-kwadrat = 16,16, $p = 0,04$, $df = 8$ i chi-kwadrat = 35,75, $p < 0,001$, $df = 8$). Estymacja wyrazu wolnego (tab. 1) również pokazuje takie zależności w parze kontrola/zabieg od terminu (po 24 h od zabiegu obliczenia zostały wykonane jako różnica pomiędzy kontrolą i zabiegiem; po 72 h obliczenia wykonano jako (kontrola/24 h-kontrola/72 h)-(zabieg/24 h-zabieg/72 h), które są dwukrotnie niższe od błędu standardowego (SE). Największe różnice zostały zaobserwowane pomiędzy kontrolą a zabiegiem dla Ch300 (-0,051+/-0,023 SE) oraz Ch600 (-0,039+/-0,025 SE) po 24 h od zabiegu. Najmniejsze różnice wystąpiły pomiędzy kontrolą a ETQ (0,005+/-0,024 SE). Natomiast po 72 h różnice pomiędzy odpowiednimi zabiegami i kontrolą były najwyższe dla Ch300 (-0,035+/-0,025 SE), a najniższe dla DDA > -0,001+/-0,024 SE).

Porównanie par przy użyciu testu post hoc z poprawką Tukeya potwierdza znaczące zmiany w zawartości chlorofilu dla każdego zabiegu z osobna od terminu poboru prób (tab. 2). Natomiast nie zaobserwowano żadnych znaczących zmian w zawartości chlorofilu po 24 h od przeprowadzonego zabiegu MCPA oraz HILs. Różnice takie były widoczne po 72 h dla par: kontrola/Ch300, Ch300/DDA oraz Ch300/ETQ (tab. 3).

Tabela 1. Wartość statystyki, błąd standardowy dla oszacowanych średnich pomiędzy zabiegiem a kontrolą po 24 h od zabiegu, średnia (wyraz wolny). Po 72 h obliczenia wykonano jako (kontrola/24h-kontrola/72h)-(zabieg/24h-zabieg/72h)

Table 1. The statistic value, standard error for estimated mean between treatment and control for (time 1). For time 2 the calculations were made as (control:T1-control:T2)-(treatment:T1-treatment:T2)

Zabieg – Treatment	Termin 1 (24 h) – Time 1 (24 h)			Termin 2 (72 h) – Time 2 (72 h)		
	estimate	SE	t	estimate	SE	t
Kontrola – Control	0,418	0,016	26,003	0,080	0,017	4,671
Ch300	-0,051	0,023	-2,253	-0,035	0,025	-1,361
Ch600	-0,039	0,025	-1,597	-0,006	0,026	-0,237
DDA	-0,016	0,023	-0,692	0,001	0,024	0,031
ETQ	-0,005	0,024	-0,210	0,025	0,027	0,925

CH300 – Chwastox Extra 300 SL, Ch600 – Chwastox AS 600 EC, DDA – [DDA][MCPA], ETQ – [Etq O-12][MCPA]
estimate – oszacowanie średniej, SE – błąd standardowy, t – wartość statystyki

Table 2. Porównanie par z poprawką Tukeya dla różnic pomiędzy zawartością chlorofilu po 24 i 72 h

Table 2. Pairwise comparisons with Tukey's adjustment for differences between the content of chlorophyll after 24 and 72 h

	Difference	SE	t ratio	p
Kontrola – Control	-0,080	0,017	-4,671	0,000
Ch300	-0,045	0,019	-2,365	0,031
Ch600	-0,073	0,020	-3,731	0,002
DDA	-0,080	0,017	-4,715	0,000
ETQ	-0,105	0,021	-4,921	0,000

CH300 – Chwastox Extra 300 SL, Ch600 – Chwastox AS 600 EC, DDA – [DDA][MCPA], ETQ – [Etq O-12][MCPA]

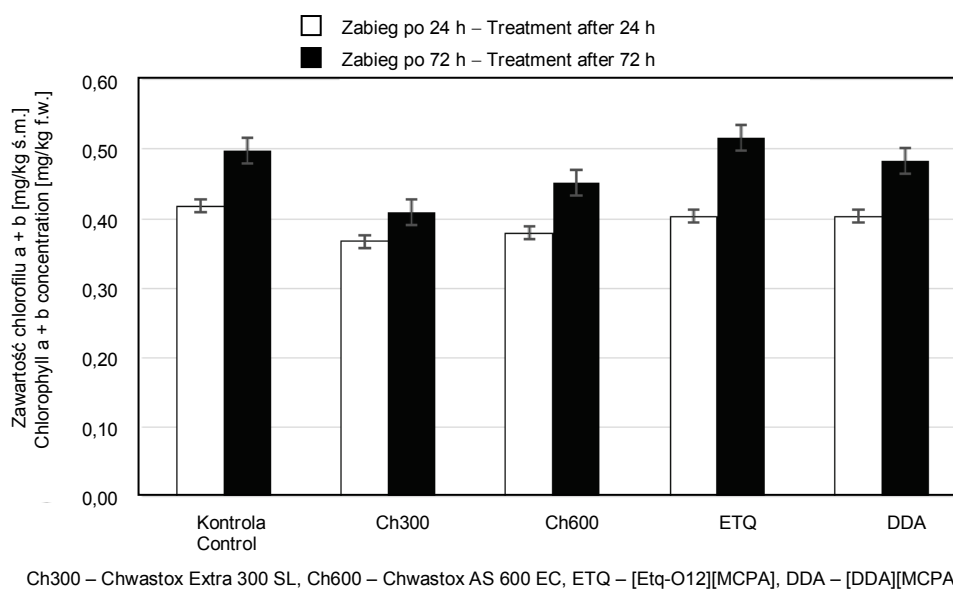
Difference – różnice między średnimi, SE – błąd standardowy, t ratio – stosunek średnicy do błędu standardowego, p – prawdopodobieństwo popełnienia błędu I rodzaju

Table 3. Porównanie par z poprawką Tukeya dla różnic pomiędzy zabiegami MCPA i HILs
Table 3. Pairwise comparisons with Tukey's adjustment for difference between treatments of MCPA and HILs

Kontrast – Contrast	Termin 1 (24 h) – Time 1 (24 h)				Termin 2 (72 h) – Time 2 (72 h)			
	dif.	SE	t ratio	p	dif.	SE	t ratio	p
Kontrola – Control – Ch300	0,051	0,023	2,253	0,190	0,086	0,024	3,546	0,010
Kontrola – Control – Ch600	0,039	0,025	1,597	0,511	0,045	0,025	1,848	0,367
Kontrola – Control – DDA	0,016	0,023	0,692	0,957	0,015	0,023	0,659	0,963
Kontrola – Control – ETQ	0,005	0,024	0,210	1,000	-0,020	0,024	-0,828	0,920
Ch300 – Ch600	-0,012	0,025	-0,488	0,988	-0,041	0,026	-1,561	0,532
Ch300 – DDA	-0,036	0,023	-1,561	0,533	-0,071	0,024	-2,927	0,046
Ch300 – ETQ	-0,046	0,024	-1,902	0,337	-0,106	0,026	-4,133	0,002
Ch600 – DDA	-0,024	0,025	-0,956	0,872	-0,030	0,025	-1,238	0,730
Ch600 – ETQ	-0,034	0,026	-1,315	0,685	-0,066	0,026	-2,522	0,112
DDA – ETQ	-0,011	0,024	-0,439	0,992	-0,035	0,024	-1,447	0,603

CH300 – Chwastox Extra 300 SL, Ch600 – Chwastox AS 600 EC, DDA – [DDA][MCPA], ETQ – [Etq O-12][MCPA]

dif. – różnice między średnimi, SE – błąd standardowy, t ratio – stosunek średnicy do błędu standardowego, p – prawdopodobieństwo popełnienia błędu I rodzaju



Ch300 – Chwastox Extra 300 SL, Ch600 – Chwastox AS 600 EC, ETQ – [Etq-O12][MCPA], DDA – [DDA][MCPA]

Rys. 1. Zawartość chlorofilu a + b w liściach jęczmienia jarego po 24 i 72 h od zastosowanego zabiegu Ch300, Ch600 oraz HILs
Fig. 1. Chlorophyll a + b content in leaves of spring barley after treatment of Ch300, Ch600 and HILs after 24 and 72 h

Z przeprowadzonego doświadczenia wynika, że stosowanie powszechnie dostępnych środków ochrony roślin na bazie MCPA po 24 h od aplikacji nie powoduje znaczących zmian w zawartości chlorofilu a + b w liściach jęczmienia jarego. Natomiast różnice takie zaobserwowano po 72 h dla Ch300, gdzie spadek zawartości chlorofilu a + b w porównaniu z próbą kontrolną wyniósł około 17,8%. W porównaniu do ETQ ta różnica wyniosła 20%, a dla DDA niecałe 15%. Po zastosowaniu Ch600 72 h po zabiegu opryskiwania różnica w porównaniu do kontroli wyniosła 9,1%. W zestawieniu z ETQ różnica ta wyniosła ok. 12%, a z DDA niecałe 6% (rys. 1).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że stosowanie komercyjnych środków ochrony roślin na bazie

MCPA oraz nowych HILs nie wywarło znaczącego wpływu na zawartość chlorofilu a + b w liściach jęczmienia jarego po 24 i 72 h od zastosowanego opryskiwania. Różnice w zawartości chlorofilu a + b w porównaniu do kontroli dla zastosowanych środków ochrony roślin na bazie MCPA po 24 h wynosiły około 10%, natomiast dla HILs około 3% i były nieistotne statystycznie.

Największe różnice stwierdzono jedynie po 72 h dla Ch300 w porównaniu do kontroli, ETQ oraz DDA. Mogą one wynikać z większej tendencji MCPA do wiązania kationów metali dwuwartościowych, a tym samym blokowania ich dostępności dla roślin (Kobyłecka i Skiba 2008; Grobela 2016). Jednakże do uściślenia tych zależności potrzebne są bardziej szczegółowe prace badawcze.

Uzyskane wyniki w prowadzonym doświadczeniu korespondują z badaniami Tatarckovej i wsp. (2013), Žaltauskaitė i Kišonaitė (2014) oraz Łozowickiej i wsp. (2016), gdzie zastosowanie MCPA w ochronie roślin nie powoduje znaczącego obniżenia zawartości chlorofilu w liściach słonecznika, pszenicy i jęczmienia jarego. Jednakże zastosowanie HILs w sposób jednoznaczny pokazuje, że różnice w zawartości chlorofilu na poziomie 10% mogą być zniwelowane.

Wnioski / Conclusions

1. Zawartość chlorofilu a + b w liściach jęczmienia jarego po 24 h od zastosowania środków ochrony roślin na bazie MCPA była niższa o ok. 10% w porównaniu do kontroli, natomiast po dobie od zastosowania HILs

różnica ta wyniosła 3%. W obu przypadkach różnicy były nieistotne statystycznie.

2. Największe spadki zawartości chlorofilu a + b zaobserwowano po 72 h od opryskiwania Ch300 oraz Ch600. Różnice wynosiły odpowiednio 18% i 10% w stosunku do kontroli. Zmiany wywołane przez HILs były nieistotne i zbliżone do wartości uzyskanych na obiektach kontrolnych.
3. W przeprowadzonych badaniach zastosowanie komercyjnych środków ochrony roślin na bazie MCPA oraz preparatów typu HILs nie powodowało statystycznie istotnych zmian w ilości chlorofilu a + b w liściach badanej rośliny. Pomimo braku statystycznych różnic zastosowanie HILs wywierało mniej negatywny wpływ na badane parametry w jęczmieniu jarym niż użycie standardowych formułacji.

Literatura / References

- Arnon D.I., Allen M.B., Whatley F.R. 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts IV. General concept and comparison of three photochemical reactions. *Biochimica et Biophysica Acta* 20: 449–461.
- Bates D., Maechler M., Bolker B., Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software* 67 (1): 1–48.
- Ceylan Y., Kutman U.B., Mengutay M., Cakmak I. 2016. Magnesium applications to growth medium and foliage affect the starch distribution, increase the grain size and improve the seed germination in wheat. *Plant Soil* 406 (1–2): 145–156.
- Devine M.D., Shukla A. 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection* 19 (8–10): 881–889.
- Ekmecki Y., Terzioğlu S. 2005. Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83 (2–3): 69–81.
- Grobela M. 2016. Differences in the uptake of Mn, Zn, and Cu by *Hordeum vulgare* L. following applications of MCPA-based herbicides and their ionic liquid forms. *Polish Journal of Environmental Studies* 25 (5): 1931–1936.
- Hough W.L., Smiglak M., Rodríguez H., Swatoski R.P., Spear S.K., Daly D.T., Pernak J., Grisel J.E., Carliss R.D., Soutullo M.D., Davis J.H. Jr., Rogers R.D. 2007. The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. *New Journal of Chemistry* 31 (8): 1429–1436.
- Kobyłecka J., Skiba E. 2008. The effect of phenoxyacetic herbicides on the uptake of copper, zinc and manganese by *Triticum aestivum* L. *Polish Journal of Environmental Studies* 17 (6): 895–901.
- Lenth R.V. 2016. Least-squares means: the R package lsmeans. *Journal of Statistical Software* 69: 1–33.
- Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11 (5): 591–592.
- Łozowicka B., Wołejko E., Konecki R. 2016. Influence of selected active substances of fungicides and herbicides and time of their application on chlorophyll content in *Triticum aestivum* L. [Wpływ wybranych substancji czynnych fungicydów, herbicydów i ich terminów aplikacji na poziom barwników asymilacyjnych w *Triticum aestivum* L.]. *Progress in Plant Protection* 56 (2): 186–190.
- Pernak J., Niemczyk M., Zakrocka K., Praczyk T. 2013. Herbicidal ionic liquid with dual-function. *Tetrahedron* 69 (38): 8132–8136.
- Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T. 2011. Ionic liquids with herbicidal anions. *Tetrahedron* 67 (26): 4838–4844.
- Politycka B. 2007. Plant productivity. *Produktywność roślin*. s. 353–372. W: „Fizjologia roślin – od teorii do nauk stosowanych” (M. Kozłowska, red.). PWRiL, Poznań, 544 ss.
- Praczyk T., Kadasz P., Jakubiak E., Syguda A., Materna K., Pernak J. 2012. Herbicidal ionic liquids with 2,4-D. *Weed Science* 60 (2): 189–192.
- R Core Team 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org> [Accessed: 14.12.2016].
- Shamshina J.L., Kelley S.P., Gurau G., Rogers R.D. 2015. Chemistry: Develop ionic liquid drugs. *Nature* 528 (7581): 188–189.
- Starck Z. 2008. Stresses provoked by incorrect nitrogen nutrition in plants. [Stresy wynikające z nieprawidłowego odżywiania roślin azotem]. *Postępy Nauk Rolniczych* 60 (1): 27–42.
- Tatagiba S.D., DaMatta F.M., Rodrigues F.A. 2016. Magnesium decreases leaf scald symptoms on rice leaves and preserves their photosynthetic performance. *Plant Physiology and Biochemistry* 108: 49–56.
- Tatarková V., Hiller E., Vaculík M. 2013. Impact of wheat straw biochar addition to soil on the sorption, leaching, dissipation of the herbicide (4-chloro-2-methylphenoxy)acetic acid and the growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 92: 215–221.
- Tränkner M., Jákli B., Tavakol E., Geilfus Ch., Cakmak I., Dittert K., Senbayram M. 2016. Magnesium deficiency decreases biomass water-use efficiency and increases leaf water-use efficiency and oxidative stress in barley plants. *Plant Soil* 406 (1–2): 409–423.
- Wang M., Zhou Q. 2006. Effects of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64 (2): 190–197.
- Žaltauskaitė J., Brazaitytė V. 2013. Assessment of the effects of sulfonylureas herbicide midosulfuron application on target and non-target organisms. *Fresenius Environmental Bulletin* 22 (7 A): 1977–1982.
- Žaltauskaitė J., Kišonaitė G. 2014. The effects of phenoxy herbicide MCPA on non-target vegetation in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) culture. *Biologija* 60 (3): 148–154.