

Zaštita bilja
Vol. 61 (2), № 272, 67-86, 2010, Beograd

UDK
ID
Pregledni rad

HLOROFIL KAO INDIKATOR REAKCIJE BILJAKA NA HERBICIDE

DANIJELA PAVLOVIĆ*, BOGDAN NIKOLIĆ*, ERIKA PFAF-DOLOVAC, DRAGANA
MARISAVLJEVIĆ, ZORAN MILIĆEVIĆ, SANJA ĐUROVIĆ

Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

*e-mail korespodenata: dulekaca@yahoo.com; bogdannik@mail2world.com

Hlorofil je zeleni pigment važan za proces fotosinteze, pa praćenjem njegovog sadržaja u biljkama dobijamo odgovor o produktivnosti fotosinteze. Herbicidi različitih hemijskih grupa i mehanizama dejstva utiču na sadržaj hlorofila u biljnom tkivu. Ispitivan je sadržaj hlorofila u tkivu biljaka kukuruza nakon primene glifosat trimezijum (sulfosat). Primenjene su nedestruktivne metode: SPAD očitavanje sadržaja i merenje fluorescencije hlorofila *a*, kao i destruktivne: ekstrakcija hlorofila dimetilformamidom i metanolom. Dobijeni rezultati i izvedena istraživanja pokazuju da se na osnovu sadržaja fotosintetskih pigmenta i prinosa fluorescencije hlorofila može pratiti stresni efekat herbicida na gajene biljke kukuruza, kao i definisati nivo razlika između tretiranih i netretiranih biljaka.

Gljučne reči: hlorofil, fotosinteza, glifosat trimezijum.

UVOD

Biljke (gajene i native vrste) su fotosintetski organizmi, neto-proizvodjači ugljenih hidrata i kiseonika. Time presudno utiču na sav ostali živi svet kao osnova lanaca ishrane i kao bitan činilac sastava atmosfere. One su osnova poljoprivredne proizvodnje. Poseban akcenat u poljoprivrednoj proizvodnji se stavlja na korovske populacije, jer konkurišu gajenim biljkama za resurse (vodu, tlo, svetlost) i direktno smanjuju prinos. Često se negativan efekat prisustva korova dovodi u vezu sa kvalitetom prinosa, jer mnogi štetni organizmi (virusi, bakterije,

gljive, insekti) se hrane ili prezimljavaju na njima. Prosečni gubici prinosa pri optimalnoj agrotehnici, iznose 7-15%, dok pri izostanku neke od agrotehničkih mera iznosi i preko 50% od očekivanog prinosa (Ashton i Krafts, 1973). Zbog navedenih činjenica neophodno je permanentno uklanjati korovske populacije sa obradivih površina. Danas je i dalje najefikasniji način borbe protiv korova primena hemijskih sredstava – herbicida. Nakon primene herbicid dospeva u biljku, gde je izložen brojnim metabolitičkim procesima i reakcijama, pa biva metaboliki inaktivisan ili ispoljava fitotoksično dejstvo na morfološki, fiziološki ili biohemijski aspekt biljke. Ponekad učestala primena herbicida istog mehanizma delovanja (inhibitorno dejstvo herbicida na pojedinačni biohemijski proces; Moreland, 1980) aktivira brojne mehanizme u biljkama i one razvijaju otpornost (rezistentnost) prema njemu. Prvi slučaj smanjene efikasnosti herbicida uočen je još krajem šezdesetih godina prošlog veka kod vrste *Senecio vulgaris* L. na atrazin (Ryan, 1970). Od tada, pa do danas broj potvrđeno rezistentnih biljaka neprestano je u porastu. Izvedene su brojne studije o mehanizmima rezistentnosti i reakciji biljaka prema herbicidima na osnovu različitih parametara fitnesa biljaka (sposobnost preživljavanja, porast, reproduktivnost i prilagođavanje), morfoloških (sveža i suva masa) i fizioloških (promene biofizičkih parametara: npr. fluorescencija hlorofila, apsorbancija listova; promene biohemijskih parametara: sadržaj hlorofila, šikiminske kiseline, acetoina i dr.) karakteristika (Beckie i sar., 1990; Gronwald, 1995; Holt, 1996; Božić i sar., 2007; Pavlović i sar., 2006, 2008). Ovi parametri se koriste i za procenu fitotoksičnog efekta (načina dejstva) herbicida posebno sa aspekta fiziologije stresa biljaka (Percival i Baker, 1991; Lichtenthaler, 1996).

Hlorofil je zeleni pigment važan za proces fotosinteze, pa praćenjem njegovog sadržaja u biljkama dobijamo odgovor o produktivnosti fotosinteze. Uloga pigmenta hlorofila (*a* i *b*) je apsorpcija dela spektra vidljive svetlosti (390-760 nm) i transformacija svetlosne u hemijsku energiju (adenozin trifosfat: ATP; redukovani nikotinamid adenin dinukleotid fosfat: NADPH₂) u svetloj fazi fotosinteze. Posebno je važna uloga hlorofila *a*, jer njegovi oblici P₇₀₀ i P₆₈₀ predstavljaju fotosintetski aktivne centre u fotosistemima I i II (Nešković i sar., 2003). Molekuli hlorofila su estri dikarbonske kiseline (hlorofilina) i četiri petočlana pirolna prstena međusobno povezana metil grupama (-CH=) (protoporfirinski prsten; Kitchen i sar., 1981). Promena sadržaja hlorofila, tj. njegov gubitak, predstavljaju jedan od najizrazitijih simptoma stresa, posebno nakon primene herbicida (Lichtenthaler, 1996; Nikolić, 1997; Lichtenthaler i Babani, 2004; Pavlović, 2005). Herbicidi različitih hemijskih grupa i mehanizama dejstva (inhibitori fotosinteze i hloroplastnih nefotosintetskih procesa) mogu neposrednim ili posrednim dejstvom uticati na količinu hlorofila u biljnom tkivu. Pored prisustva herbicida i drugi faktori utiču na sadržaj hlorofila: starost i položaj listova, intenzitet (ByungJoo i

sar., 2001; Kastori, 1995; Nikolić 1997) i kvalitet (Milivojević i Nikolić, 1998) svetla, uporedni procesi sinteze i razgradnje hlorofila, nehomogen raspored hlorofila u mezofilu lista, mineralna ishrana (Kastori, 1995), temperatura, relativna vlaga, genotip (Anderson i sar., 1993) i drugo, što moramo uzeti u obzir prilikom donošenja zaključaka o sadržaju hlorofilu, kao indikatoru intenziteta stresa uzrokovnog herbicidima.

Pored određivanja sadržaja hlorofila u biljnom tkivu destruktivnim putem (ekstrakcija dimetilformamidom - DMF, metanolom, acetonom i dr.) sadržaj i funkcionalnu ulogu hlorofila možemo procenjivati i nedestruktivnim putem, mereći apsorbanciju (očitavanje SPAD-metrom) i fluorescenciju listova (merenje fluorescencije hlorofila *a* fluorometrom).

Cilj istraživanja prikazanih u ovom radu je praćenje reakcije biljaka na stres izazvan herbicidima, preko promene sadržaja i funkcionalnosti hlorofila u listovima biljaka, radi ispitivanja mogućnosti korišćenja tih parametara u svrhu definisanja intenziteta fitotoksičnog efekta herbicida i stepena rezistentnosti/otpornosti biljaka prema herbicidima raznih mehanizama dejstva.

MATERIJAL I METODE

U izvedenim eksperimentima ispitivana je osetljivost hibrida kukuruza prema herbicidu glifosat trimezijumu (sulfosat) na osnovu promene sadržaja i funkcionalnosti hlorofila. U prvoj seriji oglada, hibridi kukuruza: glifosat tolerantni (GMO - P68R) KR i glifosat osetljivi (P75) KS gajeni su u delimično kontrolisanim uslovima staklenika (prosečna dnevna temperatura vazduha 22,8 °C, prosečna vlažnost vazduha 54,6% i fotoperiod 12h/12h). Biljke su zalivane česmenskom vodom svaki drugi dan i prihranjene rastvorom kalcijum nitrata i kalijum sulfata jedanput u 15 dana. Herbicid glifosat trimezijum (sulfosat) primenjen je u količini od 2 L ha⁻¹ (preparat: «Touchdown»), kod biljaka uzrasta 6 listova (BBCH 16). Kontrolne biljke tretirane su česmenskom vodom. U drugoj seriji oglada, hibrid ZPSC 704 gajen je u uslovima polja (prosečna dnevna temperatura vazduha 25 °C, prosečna vlažnost vazduha 55% i fotoperiod 15h/9h), ali u sudovima različitih zapremina i u definisanom substratu. Biljke su zalivane česmenskom vodom svaki drugi dan. Primenjen je glifosat trimezijum (sulfosat) u količini 2,5 L ha⁻¹ (preparat «Touchdown») kod biljaka (T biljke) u fazama od 5 do 8 listova (BBCH 15-17). Kontrolne (K) biljke prskane su česmenskom vodom. Četiri dana pre primene herbicida, biljke kukuruza uzrasta 5 listova (4 nedelje) bile su izložene manipulaciji statusa korena – biljke gajene u sudovima male zapremine (V=1 l) presađivane (RP biljke) su u veće sudove (V= 5 l); a pored toga praćena je i reakcija prema sulfosatu biljaka

gajenih u sudovima male ($V=1$ l; S biljke) i veće ($V=5$ l; L biljke) zapremine (Nikolić i sar., 2007a). Pored toga, biljke uzrasta 7 listova (6 nedelja), deset dana pre primene herbicida sulfosata bile su izložene manipulaciji lisnog pokrova, tako što ima je uklanjan određen broj listova (5 donjih listova, počev od podloge; DF biljke) ili su dodatno prihranjivane azotom (25 g NH_4NO_3 po sudu $V=5$ l; AN biljke) (Nikolić i sar., 2007b). Takođe je praćena i reakcija na dejstvo sulfosata biljaka različitog uzrasta (BBCH 15-17), koje nisu bile izložene navedenim manipulacijama (Nikolić i sar., 2007c).

Promena sadržaja hlorofila praćena je i nedestruktivnim metodama očitavanja relativnog sadržaja hlorofila SPAD-metrom (Spad-metar 502, Minolta, H. Walz, Germany) po metodi Walz (2003) i određivanje funkcionalnog statusa hlorofila *a* (Chl *a*) metodom fluorescencije hlorofila PAM fluorimetrom (Chlorophyll Fluorescence System PAM 101/103, H. Walz, Germany) po metodi Maxwell-a i Johnson-a (2000). Takođe, sadržaj hlorofila određivan je i destruktivnim metodama: ekstrakcijom hlorofila u metanolu po metodi Lichtenthaler-a i Wellburn-a (1983) i u dimetilformamidu po metodi Wellburn-a (1994).

Ocena efekta primenjenih herbicida raćena je pre primene herbicida i 2, 4 i 6 dana nakon primene preparata (DPP), odnosno pre primene herbicida i 2, 4, 6 i 8 DPP u drugoj seriji ogleđa (ukoliko nije navedeno drugaćije). Razlike između kontrolnih i tretiranih biljaka utvrćene su analizom varijanse i izraćunavanjem koeficijenta korelacije. Razlike su izraćene za 0,05 (*) i 0,01 (**) znaćajnost u prvog seriji ogleđa, dok je u drugog seriji ogleđa korelativna znaćajnost data za 0,05 (*) i 0,01 (**) nivo, dok je za 0,05 znaćajnost za parametre fluorescencije Chl *a* i fotosinteze i sadržaj hlorofila *a* (Chl *a*) izraćena i razlićitim slovima.

REZULTATI

Sadržaj hlorofila izmeren SPAD-metrom i iz metanolskog ekstrakta

Analizom dobijenih rezultata za sadržaj ukupnog hlorofila, hlorofila *a* i *b* kod oba hibrida kukuruza (KR, KS) nisu potvrćene statistićki znaćajne razlike između vrednosti izmerenih pre primene herbicida i vrednosti izmerenih nakon primene herbicida, osim kod KR hibrida 2 DPP herbicida za hlorofil *a* ($p<0,01$ **), kao i kod KS hibrida 2 i 6 DPP herbicida takoće za hlorofil *a* ($p<0,05$ *, $p<0,01$ ** (Tabela 1). Iako nisu zabelećene statistićki znaćajne razlike u sadržaju ukupnog hlorofila između kontrolnih i tretiranih biljaka oba hibrida kukuruza, generalno hibridi su razlićito reagovali na primenu 2 L ha^{-1} herbicida. U startu oba hibrida kukuruza su reagovala na isti naćin, tj. 2 DPP herbicida doćlo je do pada u sadržaju ukupnog hlorofila. Mećutim, u funkciji vremena glifosat otporni hibrid je imao blagi trend

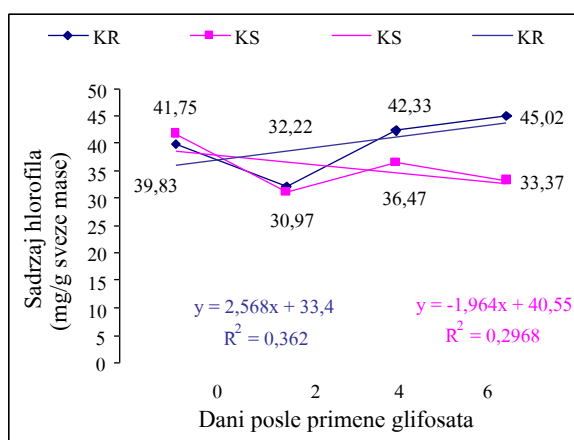
Tabela 1. - Značajnost razlika između ispitivanih biljaka na osnovu parametra sadržaj hlorofila izmeren SPAD-metrom i ekstrahovan metanolom pre i nakon primene herbicida između kontrolnih i tretiranih biljaka.

Table 1. - Importance of differences between tested plants based on parameters amount of chlorophyll evaluated by SPAD meter and methanol extraction before and after herbicide application between treated and non treated plants.

| KR hibrid | | |
|-----------------|---------|------|
| Ukupni hlorofil | Metanol | SPAD |
| 2 DPP | NZ | NZ |
| 4 DPP | NZ | * |
| 6 DPP | NZ | * |
| Hlorofil a | | |
| 2 DPP | ** | - |
| 4 DPP | NZ | - |
| 6 DPP | NZ | - |
| Hlorofil b | | |
| 2 DPP | NZ | - |
| 4 DPP | NZ | - |
| 6 DPP | NZ | - |
| KS hibrid | | |
| Ukupni hlorofil | | |
| 2 DPP | NZ | ** |
| 4 DPP | NZ | * |
| 6 DPP | NZ | * |
| Hlorofil a | | |
| 2 DPP | * | - |
| 4 DPP | NZ | - |
| 6 DPP | ** | - |
| Hlorofil b | | |
| 2 DPP | NZ | - |
| 4 DPP | NZ | - |
| 6 DPP | NZ | - |

p<0,05*, p<0,01**, NZ-nema statistički značajnih razlika,
SPAD očitavanje relativnog sadržaj hlorofila.

porasta ($b = 2,568$), a KS opadajući trend ($b = -1,964$) u pogledu sadržaja ukupnog hlorofila (Grafikon 1). Slična pravilnost u funkciji vremena je utvrđena i u promenama sadržaju hlorofila *a* i *b* kod oba hibrida kukuruza, s tim što su izraženije promene bile kod KR hibrida u sadržaju hlorofila *b* (kontrola = 15,57; tretman: 2DPP = 11,40; 4DPP = 17,92 i 6DPP = 20,58). Početni pad (2 DPP) u sadržaju ukupnog hlorofila, hlorofila *a* i *b* kod oba hibrida kukuruza ukazuje na stresni efekat herbicida nakon čega glifosat otporni hibrid reaguje pozitivno tj. sadržaj merenih parametara hlorofila raste, a kod osetljivog hibrida vrednosti merenih parametara hlorofila su i dalje bile niže od kontrolnih (Grafik 1).



Grafikon 1. - Promena sadržaja ukupnog hlorofila kod tretiranih biljaka **KR** i **KS** hibrida kukuruza 0, 2, 4 i 6 DPP 2 L ha⁻¹ glifosat-trimezijum sulfosata.

Graph 1. - Total chlorophyll changes in treated plants KR and KS hibride of maize 0, 2, 4 and 6 DAT 2 L ha⁻¹ glyphosate trimezijum sulphosate.

Relativni sadržaj hlorofila izmeren SPAD metrom kod tretiranih biljaka se statistički značajno razlikovao od vrednosti izmerenih pre primene herbicida kod oba hibrida kukuruza tokom merenog perioda, sem kod KR hibrida 2 DPP herbicida (Tabela 1). Izmerene vrednosti su bile uvek niže kod tretiranih biljaka što znači da je primena herbicida stresno delovala na oba ispitivana hibrida (KR, KS).

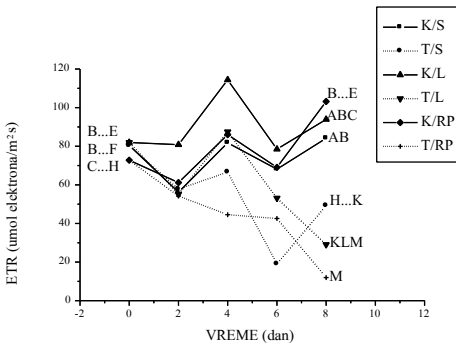
Nije utvrđena korelacija sadržaja hlorofila izmerena na ova dva načina (očitanje SPAD- metrom i ekstrakcija metanolom).

Sadržaj i status hlorofila određen u ekstraktu DMF i fluorescencijom hlorofila

Analizom rezultata (Grafikon 2) konstatovano je razlika između kontrolnih i tretiranih L biljaka 2 DPP za parametar ETR. Nasuprot njima kod S i RP biljaka razlike, odnosno smanjenje parametra ETR usled dejstva herbicida sulfosata uočava se tek 4 DPP.

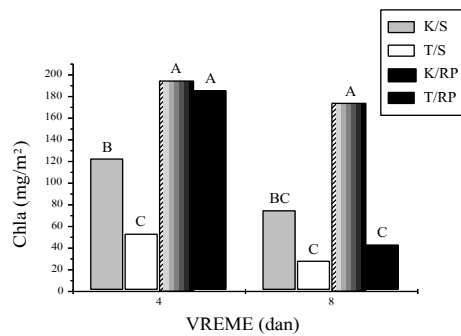
Rezultati u Tabeli 2 pokazuju različite korelativne veze parametara fluorescencije Chl *a* i parametra fotosinteze ETR. To ukazuje na različite doprinose fotosintetskih procesa zavisnih od RC PS II (parametri Fv/Fm, Fv/F₀, Fv/Fm'), kao i zavisnih od redoks statusa pula plastohinona PS II (qP, Φ PS II) na fotosintetski parametar ETR kontrolnih i tretiranih biljaka. Na osnovu toga se konstatuje da primena sulfosata izaziva inhibiciju fotosinteze (parametar ETR), koja je kumulativnog karaktera.

U ogledu (Grafikon 3) sa manipulacija statusa korena, konstatovano je da je kod RP biljaka sadržaj Chl *a* bio veći u poređenju sa sadržajem izmerenim u S biljkama nezavisno da li su tretirane herbicidom ili ne. Sadržaj Chl *a* veći je ili isti kod tretiranih i netretiranih RP biljaka već 4 DPP. Na osnovu toga može se zaključiti da proces presađivanja značajno usporava ispoljavanje fitotoksičnog delovanja primenjenog herbicida.



Grafikon 2. - Promene ETR parametra fluorescencije Chl *a* 5-tog lista kontrolnih i tretiranih S, L i RP biljaka K/S, K/L, K/RP, T/S, T/L, T/RP

Graph 2. - Changes in ETR parameter of fluorescence of Chl *a* 5-th leaf control and treated S, L and RP plants K/S, K/L, K/RP, T/S, T/RP



Grafikon 3. - Promene sadržaja Chl *a* 5-tog lista kontrolnih i tretiranih S i RP biljaka K/S, K/RP, T/S, T/RP

Graph 3. - Changes of Chl *a* amount 5-th leaf control and treated S and RP plants K/S, K/RP, T/S, T/RP

Tabela 2. - Korelativni odnosi parametra fluorescencija Chl *a* i fotosinteze.

Table 2. - Corelation between parameters of Chl *a* fluorecence and photosynthesis.

| | Fv/Fm | Fv/F ₀ | Φ PS II | qP | Fv/Fm | ETR | NPQ |
|-------------------|-------|-------------------|---------|---------|---------|---------|----------|
| Fv/Fm | | 0,901** | 0,635** | 0,705** | 0,059 | 0,629** | 0,081 |
| Fv/F ₀ | | | 0,659** | 0,699** | 0,084 | 0,659** | -0,004 |
| Φ PS II | | | | 0,823** | 0,512** | 0,978** | -0,441** |
| qP | | | | | -0,010 | 0,802** | -0,441** |
| Fv/Fm | | | | | | 0,498** | -0,150 |
| ETR | | | | | | | -0,417** |
| NPQ | | | | | | | |

p<0,05*, p<0,01**

Test korelacije je pokazao visoku zavisnost ispitivanih drugih parametara sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata i sadržaja hlorofila *a* (Tabela 3). Može se konstatovati da proces presađivanja i fitotoksični efekat primenjenog herbicida utiču na fotosintetski aparat u celini.

Tabela 3. - Korelativni odnosi parametara sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata.

Table 3. - Corelation between parameters of contents and ratios of photosynthetic pigments.

| | Chl <i>a</i> | Chl <i>b</i> | Chl <i>a+b</i> | Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | <i>x+c</i> | Chl <i>a/x+c</i> |
|----------------------------|--------------|--------------|----------------|----------------------------|------------|------------------|
| Chl <i>a</i> | | 0,992** | 1,000** | 0,918** | 0,881** | 0,894** |
| Chl <i>b</i> | | | 0,995** | 0,885** | 0,900** | 0,877** |
| Chl <i>a+b</i> | | | | 0,912** | 0,886** | 0,891** |
| Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | | | | | 0,715** | 0,952** |
| <i>x+c</i> | | | | | | 0,615** |
| Chl <i>a/x+c</i> | | | | | | |

p<0,05*, p<0,01**

Parametri koji odslikavaju status RC PS II (Fv/Fm, Fv/F₀) ukazuju da su S biljke osjetljivije na dejstvo herbicida (Tabela 4) u poređenju sa RP biljkama (Tabela 5). Uočava se statistički značajan pad vrednosti parametra Fv/Fm već 2 DPP herbicida u poređenju sa kontrolnim biljkama. I pored toga biljke 6 DPP održavaju u funkcionalnu homeostazu svog fotosintetskog aparata, nezavisno od primene her-

bicida. Promene, odnosno «sлом» homeostaze fotosintetskih funkcija dešava se upravo tada, što je posebno izraženo kod parametra Fv/F_0 (Tabele 4 i 5).

Tabela 4. - Parametri fluorescencije Chl *a* 5-tog lista S biljaka.

Table 4. - Parameters of Chl *a* fluorescence of the 5-th leaf S plants.

| (K/T) | Fv/Fm | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} | Fv/F ₀ | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} |
|-------|-----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| 0/K | 0.762 ^{BCD} | 0.045 | 0.060 | 3.212 ^{FGH} | 0.656 | 0.876 |
| 2/K | 0.774 ^{BCD} | | | 3.452 ^{DEFG} | | |
| 2/T | 0.712 ^E | | | 2.558 ^H | | |
| 4/K | 0.791 ^{ABCD} | | | 3.765 ^{CDEF} | | |
| 4/T | 0.758 ^{CD} | | | 3.672 ^{CDEF} | | |
| 6/K | 0.804 ^{AB} | | | 4.106 ^{ABCD} | | |
| 6/T | NM | | | NM | | |
| 8/K | 0.795 ^{ABC} | | | 3.831 ^{CDEF} | | |
| 8/T | 0.746 ^E | | | 2.868 ^{GH} | | |

K-kontrola, T-tretman, NM- nije mereno

Tabela 5. - Parametri fluorescencije Chl *a* 5-tog lista RP biljaka.

Table 5. - Parameters of Chl *a* fluorescence of the 5-th leaf RP plants.

| (K/T) | Fv/Fm | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} | Fv/F ₀ | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} |
|-------|-----------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| 0/K | 0.801 ^{ABC} | 0.045 | 0.060 | 3.969 ^{BCDE} | 0.656 | 0.876 |
| 2/K | 0.806 ^{AB} | | | 4.118 ^{ABC} | | |
| 2/T | 0.772 ^{BCD} | | | 3.396 ^{EFG} | | |
| 4/K | 0.804 ^{AB} | | | 4.504 ^{AB} | | |
| 4/T | 0.782 ^{ABCD} | | | 3.635 ^{CDEF} | | |
| 6/K | 0.824 ^A | | | 4.714 ^A | | |
| 6/T | NM | | | NM | | |
| 8/K | 0.802 ^{ABC} | | | 4.075 ^{ABCD} | | |
| 8/T | 0.604 ^F | | | 1.590 ^I | | |

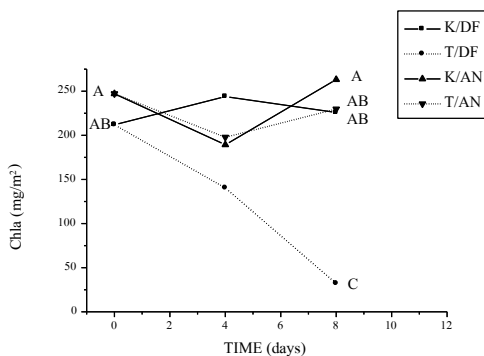
K-kontrola, T-tretman, NM- nije mereno

Na osnovu iznetih činjenica može se konstatovati da glifosat trimezijum (sulfosat) inhibira fotohemijsku aktivnost RC PS II počev od 6 DPP. Pokazatelji kvantne efikasnosti PS II (Fv/Fm , Fv/F_0) međusobno su visokoznačajnoj (0,901) korelativnoj vezi (rezultati nisu prikazani).

U ogledima gde je urađena manipulacija lisnog pokrova (10 dana pre početka ogleda, biljke prihranjivane sa 25 g NH_4NO_3 po saksiji (AN biljke) ili im je uk-

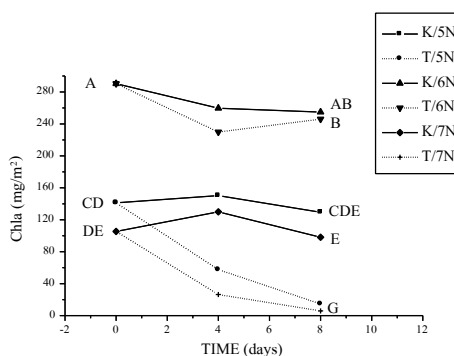
lanjano donjih 5 listova: DF biljke). Kod kontrolnih AN i DF biljaka sadržaj Chl *a* manje više se nije menjao tokom trajanja ogleda, kao i kod tretiranih AN biljaka (Grafikon 4). Međutim, kod DF tretiranih biljaka konstatovano je smanjenje sadržaja Chl *a* sve do kraja oglednog perioda (Grafikon 4). Parametri sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata kod AN i DF biljaka nalaze se međusobno u visokoznačajnoj i značajnoj korelativnoj vezi (Tabela 6).

Statistički značajno smanjenje parametra kvantne efikasnosti RC PS II (F_v/F_m , F_v/F_0) biljaka AN i DF uočava se tek 6 DPP herbicida u poređenju sa kontrolnim biljkama (Tabele 7 i 8). Međutim, kod tretiranih DF biljaka inhibicija fotosinteze izazvana herbicidom traje i nakon 6 DPP (Tabela 7), dok kod tretiranih AN biljaka se konstatuje blago zaustavljanje tog procesa (Tabela 8). Ova činjenica, kao i održavanje fluorescencije Chl *a* kod tretiranih na nivou fluorescencije Chl *a* kontrolnih AN biljaka (Grafikon 4) nas navodi na zaključak da snabdevenost biljaka azotom to omogućava. Parametri kvantne efikasnosti PS II (F_v/F_m и F_v/F_0) međusobno su u visokoznačajnoj korelativnoj vezi (0,916).



Grafikon 4. - Promene sadržaja Chl *a* u 7-om listu kontrolnih i tretiranih biljaka K/DF, K/AN, T/DF, T/AN.

Graph 4. - Changes of Chl *a* amount in 7-th leaf control and treated plants K/DF, K/AN, T/DF, T/AN



Grafikon 5. - Promene sadržaja hlorofila *a* u 6-tom, 7-om i 8-om listu kontrolnih i tretiranih biljaka K/5N, K/6N, K/7N, T/5N, T/6N, T/7N

Graph 5. - Changes of Chl *a* amount in 6-th, 7-th and 8-th leaf control plants K/5N, K/6N, K/7N, T/5N, T/6N, T/7N

Ono što karakteriše biljke kukuruza različitog uzrasta (5, 6 i 7 nedelja) jeste značajno niži sadržaj Chl *a* kod biljaka uzrasta 5 i 7 nedelja u odnosu na biljke stare 6 nedelja, nezavisno od toga da li su tretirane herbicidom ili ne (Grafikon 5). Pored toga, zapažamo veoma rano (pre 4 DPP) degradaciju Chl *a* kod biljaka uzrasta 5 i 7 nedelja, tretiranih herbicidom, dok kod biljaka uzrasta 6 nedelja

herbicid praktično nije uticao na sadržaj Chl *a* u listovima biljaka (Grafikon 5). Svi parametri koji se odnose na sadržaj fotosintetskih pigmenata, kao i odnos Chl *a*/*x+c* u međusobnoj su visokoznačajnoj korelativnoj vezi (Tabela 9). Dok parametar odnos Chl *a*/Chl *b* nije bio u korelaciji sa ostalim parametrima koji se odnose na fotosintetske pigmente (Tabela 9).

Tabela 6. - Korelativni odnosi sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata 7-og lista **DF** i **AN** biljaka kukuruza raslih 6 nedelja u poljskim uslovima.

Table 6. - Correlation between parameters of contents and ratios of photosynthetic pigments of 7th leaf of **DF** and **AN** maize plants grown 6th weeks in field condition.

| | Chl <i>a</i> | Chl <i>b</i> | Chl <i>a+b</i> | Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | <i>x+c</i> | Chl <i>a</i> / <i>x+c</i> |
|--|--------------|--------------|----------------|----------------------------|------------|---------------------------|
| Chl _{<i>a</i>} | | 0,943** | 0,996** | 0,770** | 0,812** | 0,871** |
| Chl _{<i>b</i>} | | | 0,969** | 0,570** | 0,873** | 0,746** |
| Chl _{<i>a+b</i>} | | | | 0,725** | 0,837** | 0,847** |
| Chl _{<i>a</i>} /Chl _{<i>b</i>} | | | | | 0,429* | 0,893** |
| <i>x+c</i> | | | | | | 0,455* |
| Chl _{<i>a</i>} / <i>x+c</i> | | | | | | |

$p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$

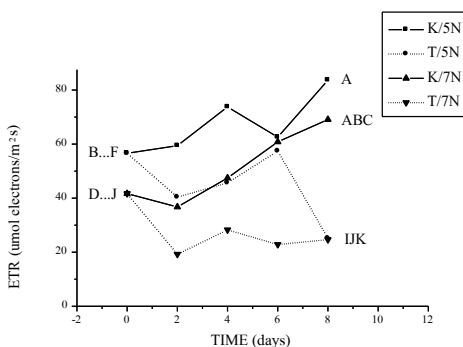
Tabela 7. - Parametri fluorescencije Chl *a* 7-og lista **DF** biljaka.

Table 7. - Parameters Chl *a* fluorescens of the 7-th leaf **DF** plants.

| (K/T) | Fv/Fm | LSD _{0,05} | LSD _{0,01} | Fv/F ₀ | LSD _{0,05} | LSD _{0,01} |
|-------|------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|---------------------|---------------------|
| 0/K | 0.785 ^{AB} | 0.100 | 0.134 | 3.606 ^{ABC} | 1.026 | 1.369 |
| 2/K | 0.762 ^{ABC} | | | 3.538 ^{BC} | | |
| 2/T | 0.772 ^A | | | 3.407 ^{BCD} | | |
| 4/K | 0.725 ^{A...D} | | | 2.632 ^{C...F} | | |
| 4/T | 0.725 ^{A...D} | | | 2.665 ^{C...F} | | |
| 6/K | 0.766 ^{ABC} | | | 3.286 ^{B...E} | | |
| 6/T | 0,666 ^{* CDE} | | | 2,294 ^{* EF} | | |
| 8/K | 0.745 ^{A...D} | | | 3.389 ^{BCD} | | |
| 8/T | 0.600 ^{** E} | | | 2.036 ^{** E} | | |

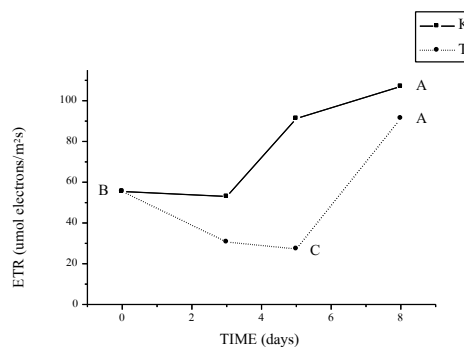
K-kontrola, T-tretman, NM- nije mereno

Iz grafikona 6 se jasno konstatuje da kod biljaka uzrasta 5 i 7 nedelja parametar fotosinteze ETR ima visoku vrednost tokom trajanja merenog perioda, iako nema statistički značajnih razlika između tretiranih i kontrolnih biljaka. Takođe, uočava se veoma rano (2 DPP) delovanje herbicida na smanjenje (statistički značajno) ETR parametra kod tretiranih u odnosu na kontrolne biljke uzrasta 5 i 7 nedelja (Grafikon 6). Međutim, 6 DPP kod tretiranih biljaka uzrasta 5 nedelja zapaža se privremeni oporavak (vrednost ETR parametra u tom momentu bila ista kao i kod kontrolnih biljkaka, Grafikon 5). To ukazuje da postoji mogućnost da biljka tog uzrasta poseduje određeni kapacitet za prevazilaženje stanja stresa izazvano primenom sulfosata (glifosat trimezijum). Međutim, ti kapaciteti su ograničeni, što se može dovesti u vezu sa ranije objašnjenim «slomom» fotosinteze u tim biljkama. Vrednosti parametra ETR kod tretiranih biljaka uzrasta 5 nedelja u toj fazi opadaju (Grafikon 5). Zapaža se da su parametri ETR, Φ PS II, qP i F_v/F_m međusobno, kao i sa parametrima F_v/F_m i F_v/F_0 u visokoznačajnoj korelativnoj vezi, ali ne i sa NPQ parametrom fotoprotekcije (Tabela 10). Nasuprot tome, parametri F_v/F_m i F_v/F_0 su u visokoznačajnoj korelaciji sa NPQ parametrom fotoprotekcije (Tabela 10). To ukazuje na specifičan način fotoprotekcije biljaka kukuruza uzrasta 5 i 7 nedelja, povezan sa procesima u RC PS II.



Grafikon 6. - Promene ETR parametra fotosinteze 6-og i 8-og lista kontrolnih i tretiranih biljaka K/5N, K/7N, T/5N.

Graph 6. - Changes in ETR parameter of photosynthesis of 6-th and 8-th leaf control and treated plants K/5N, K/7N, T/5N



Grafikon 7. - Promene ETR parametra fotosinteze 7-og lista kontrolnih i tretiranih biljaka uzrasta 6 nedelja.

Graph 7. - Changes in ETR parameter of photosynthesis of 7-th leaf control and treated plants 6 weeks old

Tabela 8. - Parametri fluorescencije Chl *a* 7-og lista AN biljaka.**Table 8.** - Parameters Chl *a* fluorescens of the 7-th leaf AN plants.

| (K/T) | Fv/Fm | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} | Fv/F ₀ | LSD _{0.05} | LSD _{0.01} |
|-------|------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| 0/K | 0.796 ^{AB} | 0.100 | 0.134 | 3.911 ^{AB} | 1.026 | 1.369 |
| 2/K | 0.822 ^A | | | 4.627 ^A | | |
| 2/T | 0.790 ^{AB} | | | 3.773 ^{AB} | | |
| 4/K | 0.788 ^{AB} | | | 3.732 ^{AB} | | |
| 4/T | 0.769 ^A | | | 3.330 ^{BCD} | | |
| 6/K | 0.743 ^{A...D} | | | 3.198 ^{B...E} | | |
| 6/T | 0,660 * ^{DE} | | | 2,261 ** ^{EF} | | |
| 8/K | 0.801 ^{AB} | | | 3.977 ^{AB} | | |
| 8/T | 0.701 ^{BCD} | | | 2.470 ** ^{DEF} | | |

K-kontrola, T-tretman, NM- nije mereno

Tabela 9. - Korelacija sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata 6-og, 7-og ili 8-og lista biljaka uzrasta 5, 6 ili 7 nedelja.**Table 9.** - Correlation between parameters of contents and ratios of photosynthetic pigments of 6th, 7th or 8th leaves of maize plants grown 5th, 6th or 7th weeks in field condition.

| | Chl <i>a</i> | Chl <i>b</i> | Chl <i>a</i> + <i>b</i> | Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | x+c | Chl <i>a</i> /x+c |
|----------------------------|--------------|--------------|-------------------------|----------------------------|---------|-------------------|
| Chl <i>a</i> | | 0,968** | 0,998** | 0,213 | 0,920** | 0,803** |
| Chl <i>b</i> | | | 0,981** | 0,082 | 0,865** | 0,803** |
| Chl <i>a</i> + <i>b</i> | | | | 0,184 | 0,913** | 0,807** |
| Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | | | | | 0,250 | 0,199 |
| x+c | | | | | | 0,582** |
| Chl <i>a</i> /x+c | | | | | | |

p<0,05*, p<0,01**

Kod biljaka kukuruza uzrasta 6 nedelja na osnovu statistički značajnog smanjenja vrednosti parametra fotosinteze ETR konstatuje se inhibicija fotosinteze usled primene herbicida tokom prvog dela merenog perioda (Grafikon 7). Međutim, u drugom delu merenog perioda (posle 5 DPP) dolazi do porasta vrednosti parametra ETR kod tretiranih biljaka. Na kraju posmatranog perioda vrednosti ETR parametra fotosinteze kontrolnih i tretiranih biljaka praktično se izjednačavaju (Grafikon 7). Parametri ETR, Φ PS II, qP i Fv/Fm u međusobnoj su visokoznačajnoj korelativnoj vezi, ali u visokoznačajnoj negativnoj korelaciji sa parametrom fotoprotekcije NPQ (Tabela 11). Parametri kvantne efikasnosti PS II (Fv/Fm, Fv/F₀) u visokoznačajnoj su međusobnoj korelaciji, kao i sa para-

metrima ETR, Φ PS II i F_v/F_m , dok je parametar F_v/F_0 u značajnoj negativnoj korelaciji sa NPQ parametrom fotoprotekcije (Tabela 11). To ukazuje na proaktivne procese kod biljaka kukuruza uzrasta 6 nedelja, verovatno povezane sa parametrom NPQ.

Tabela 10. - Korelacija parametara fluorescencije Chl *a* i fotosinteze 6-og i 8-og lista biljaka uzrasta 5 i 7 nedelja.

Table 10. - Correlation between parameters Chl *a* fluorescens and photosynthesis of 6-th and 8-th leaf of plants 5 and 7 weeks old.

| | F_v/F_m | F_v/F_0 | Φ PS II | qP | F_v/F_m | ETR | NPQ |
|--------------|-----------|-----------|--------------|---------|-----------|---------|---------|
| F_v/F_m | | 0,909** | 0,524** | 0,692** | 0,441** | 0,506** | 0,322** |
| F_v/F_0 | | | 0,643** | 0,769** | 0,517** | 0,625** | 0,259** |
| Φ PS II | | | | 0,884** | 0,905** | 0,892** | -0,175 |
| qP | | | | | 0,747** | 0,804** | -0,051 |
| F_v/F_m | | | | | | 0,852** | -0,118 |
| ETR | | | | | | | -0,012 |
| NPQ | | | | | | | |

p<0,05*, p<0,01**

Tabela 11. - Korelacija parametara fluorescencije Chl *a* i fotosinteze 7-og lista biljaka uzrasta 6 nedelja.

Table 11. - Correlation between parameters Chl *a* fluorescens and photosynthesis of 7-th lea of plants 6 weeks old.

| | F_v/F_m | F_v/F_0 | Φ PS II | qP | F_v/F_m | ETR | NPQ |
|--------------|-----------|-----------|--------------|---------|-----------|---------|----------|
| F_v/F_m | | 0,966** | 0,518** | 0,463 | 0,516** | 0,467* | -0,366 |
| F_v/F_0 | | | 0,595** | 0,546** | 0,579** | 0,509** | -0,471* |
| Φ PS II | | | | 0,956** | 0,949** | 0,921** | -0,943** |
| qP | | | | | 0,890** | 0,890** | -0,919** |
| F_v/F_m | | | | | | 0,879** | -0,855** |
| ETR | | | | | | | -0,802** |
| NPQ | | | | | | | |

p<0,05*, p<0,01**

DISKUSIJA

Sadržaj hlorofila izmeren SPAD-metrom i metanolskom ekstraktu

Na osnovu merenih parametara sadržaja hlorofila (ukupni hlorofil, hlorofil *a*, hlorofil *b*) između tretmana i kontrole, kod oba hibrida kukuruza (KS i KR), potvrđena je razlika samo za sadržaj hlorofila *a* (Tabela 1). Obzirom da hlorofil *a* ima funkciju u fotohemijski aktivnim centrima fotosistema I i II, tako što apsorbuje svetlost od 698 do 703 nm (P 700) i na 690nm (P 690), promene kod tretiranih biljaka ne treba zanemariti. Ove promene mogu se dovesti u vezu sa položajem hlorofilnih zrna u tilakoidama membrane hloroplasta (Branton, 1969; cit.: Esau, 1977), gde bi primena glifosata mogla da utiče na njihovu brojnost i funkciju, koja je povezana sa sintezom hlorofila (Kitchen i sar., 1981) i aktivnošću fotosistema u celini (van Rensen, 1974, cit.: Muñoz-Rueda i sar., 1986). Sadržaj ukupnog hlorofila kod oba hibrida kukuruza 2 DPP opada usled dejstva herbicida (Grafikon 1), nakon čega su se trendovi razlikovali: kod KR hibrida je utvrđen trend rasta ($b = 2,568$), a kod KS hibrida je nastavljen trend pada ($b = -1,964$).

Takođe, primena herbicida je uticala na promene u sadržaju hlorofila *b* u odnosu na vrednosti izmerene pre primene herbicida, pri čemu su razlike kod KS hibrida bile izraženije (izmerene vrednosti: min. 11,07, max. 14,34 u toku prvih 6 DPP herbicida, a kod kontrole 16,85 mg g⁻¹ sveže mase) u odnosu na KR hibrid (min. 11,40, max. 20,58 u toku prvih 6 DPP herbicida, a kod kontrole 15,57 mg g⁻¹ sveže mase). Utvrđene razlike su odgovor na razlike u aktivnosti fotosistema osetljivih i glifosat otpornih biljaka (Zarco-Tejada i sar., 2002). Obzirom da su hlorofilna zrna estri dikarbonske kiseline (hlorofilina), glifosat inhibira sintezu hlorofila inkorporacijom u prekursor hlorofila δ -aminolevulinsku kiselinu (Kitchen i sar., 1981), posebno nakon primene subletalnih količina (Cobe, 1985).

Merenjem sadržaja hlorofila SPAD-metrom su potvrđene razlike između tretiranih i kontrolnih biljaka oba hibrida kukuruza, osim 2 DPP kod KR hibrida (Tabela 1). Iako je SPAD-metar manje osetljiva metoda u poređenju sa merenjem sadržaja hlorofila, posle ekstrakcije sa metanolom, ta metoda može se koristiti kao preliminarna metoda (skrining), pri praćenju osetljivosti biljaka na glifosat trimezijum, ali ne i za definisanje nivoa rezistentnosti/otpornosti. Do sličnih rezultata o korišćenju SPAD-metra došli su Božić i sar. (2007). Pokazali da se ova nedestruktivna metoda može koristiti u svrhu razdvajanja rezistentnih i osetljivih biljaka nakon primene herbicida inhibitora acetolaktat sintetaze. Merenje ukupnog sadržaja hlorofila SPAD-metrom omogućava brzo, relativno pouzdano i jednostavno razdvajanje R od S biljaka i može se koristiti kao prihvatljiv indirektni

pokazatelj reakcije biljaka na stres herbicidom (Jinwen, J. i sar., 2009; Pavlović, 2005; Pavlović i sar., 2006; Božić i sar., 2007).

Sadržaj i status hlorofila određen u ekstraktu DMF i fluorescencijom hlorofila

U drugoj seriji oglada pratili smo reakciju ZPSC 704 hibrida kukuruza na dejstvo herbicida sulfosata. Praćena je reakcija fotosintetskog aparata na osnovu sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata i parametara fotosinteze i fluorescencije Chl *a*. Pomenuti pristup, je zamišljen kao kombinacija jedne destruktivne i jedne nedestruktivne metode, dao je mogućnost razmatranja načina dejstva herbicida sulfosata u cilju njegove optimalnije primene u praksi. Istraživanja su nam pokazala da preparat «Touchdown» inhibira fotosintezu i uzrokuje degradaciju ukupnog hlorofila u listovima L i RP biljaka kukuruza, ali bez gubitaka antenskih funkcija fotosinteze, povezanih sa fotoprotektivnim gašenjem fluorescencije Chl *a* (parametar NPQ). Nasuprot biljkama L i RP, kod biljaka S uočeno je smanjenje antenskih funkcija fotosinteze i gašenje fluorescencije Chl *a* u listovima što je povezano sa RC PS II. O uticaju morfoloških promena (promena odnosa nadzemni deo biljke:koren) na reakciju fotosinteze biljaka na stres raspravljali su Lang i Thorpe (1985), Farrar i Gunn (1998) i Poorter i Nagel (2000). Oni konstantuju da su preraspodela asimilata, fotosinteza i bioproduktivitet, kao i prinos biljaka u međusobnoj vezi i pod velikim uplivom faktora spoljašnje sredine, posebno stresnih. Znači, neki manipulativni pristupi, kojima se menja zapremina korena, broj listova, kao i dodatna prihrana azotom, menjaju morfološki odnos nadzemni deo biljke:koren, ali menjaju i osetljivost fotosinteze i fotosintetskog aparata kukuruza na dejstvo sulfosata, kao stresnog faktora. Ova činjenica može se objasniti i uticajem fitotoksičnog procesa izazvanog tim herbicidom na status korena, što može biti u vezi sa metabolizmom citokinina (sintetišu se u korenu i deluju na razviće i metabolizam listova; Nešković i sar., 2003) ili sa izmenjenim odnosima fitohormona tokom razvoja biljke (Nikolić, 2007).

Promene parametara fluorescencije Chl *a*, fotosinteze i sadržaja fotosintetskih pigmenata opadaju tokom merenog perioda kod tretiranih biljaka kukuruza uzrasta 5 i 7 nedelja, za razliku od istih biljaka uzrasta 6 nedelja, što ukazuje na moguće definisanja uzrasne razlike u reakciji biljaka kukuruza na ovaj herbicid.

Obzirom da ne postoje istraživanja ovakvog tipa u oblasti herbologije, dobijeni rezultati imaju veliki naučni i praktični doprinos, tim pre što naši zaključci odgovaraju literaturnim podacima iz drugih oblasti fiziologije stresa biljaka. Pored toga, izvedena istraživanja i dobijeni rezultati pokazuju i da se merenjem sadržaja fotosintetskih pigmenata i prinosa fluorescencije hlorofila mogu pratiti

stresni efekti herbicida na biljke kukuruza i definisati razlike između tretiranih i netretiranih biljaka, što je podatak od praktičnog interesa.

LITERATURA

- Anderson, D. M., Swanton, C. J., Hall, J. C., Mersey, B. G. (1993) The influence of temperature and relative humidity on the efficacy of glufosinate-ammonium. *Weed Research*, 33, 139.
- Ashton F. M., Krafts, A. S. (1973) Mode of action of Herbicides. 2nd Edition, John Wiley & Sons, New York, str. 504.
- Beckie, H. J., Friesen, L. F., Nowolsky, K. M., Morrison, I. N. (1990) A Rapid Bioassay to Detect Trifluralin-Resistant Green Foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technology*, 4, 505-508.
- Božić, D., Vrbničanin, S., Barać, M., Stefanović, L. (2007) Determination of Jonsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) level of sensitivity to nicosulfuron. *Maydica*, 52 (3), 271-277.
- ByngJoo, L., Mikyoung, W., DongHee, L., DongGi, S. (2001) Changes in SPAD chlorophyll value of chrysanthemum by photoperiod and light intensity. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 19, 555-559.
- Cobe, D. J. (1983) The effects of environmental factors on the metabolism of herbicides in plants. *Aspects Applied Biology*, 4, 245.
- Esau, K. (1977) *Anatomy of seed plants*. 2nd Edition, John Wiley and Sons, New York.
- Farrar, J., S., Gunn (1998) Allocation: allometry, acclimation-and alchemy? in: "INHERENT VARIATION IN PLANT GROWTH. Physiological mechanisms and ecological consequences", Lambers, H., Poorter, H., Van Vuuren, M.M.I., eds., pp. 183-198, Backhuys, Leiden, Holland.
- Gronwald, J. W. (1995): Resistance to photosystem II inhibitor herbicides. *Proceedings of abstracts of International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicide*, Cordoba, Spain.
- Holt, J. S. (1996) Ecological fitness of herbicide resistant weed. *Proceedings of the second international weed control congress*, Copenhagen, Denmark, 1-4, 387-392.
- Jinwen, L., Jingping, Y., Pinpin, F., Junlan, S., Dongsheng, L., Cgangshui, G., Wenyue, C. (2009) Responses of rice leaf thickness, SPAD readings and chlorophyll a/b ratios to different nitrogen supply in paddy field. *Field Crops Research*, in press.
- Kastori, R. (1995) *Fiziologija biljaka*. Feljton, Novi Sad.

- Kitchen, L. M., Wit, W. W., Rieck, C. E. (1981) Inhibition of aminolevulinic acid synthesis by glyphosate. *Weed Science*, 29, 571.
- Lang, A., M.H., Thorpe (1985) Partitioning of assimilates at the whole plant level. in: "PHOTOSYNTHESIS AND PHYSIOLOGY OF THE WHOLE PLANT", OECD Workshop, Braunschweig, Germany, pp. 108-135, OECD, Paris, France.
- Lichtenthaler, H. K. (1996) Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14.
- Lichtenthaler, H. K., Babani, F. (2004) Light Adaptation and Senescence of the Photosynthetic Apparatus. Changes in Pigment Composition, Chlorophyll Fluorescence Parameters and Photosynthetic Activity. in: *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Papageorgiu, G.C., Govindjee, eds., Springer, Netherlands, str. 713-736.
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*, 603, 591-592.
- Maxwell, J., Johnson, N. G. (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659-668.
- Milivojević, D. B., Nikolić, B. (1998) Effects of diquat on pigment-protein complexes of thylakoid membranes in soybean and maize plants. *Biologia Plantarum*, 41 (4), 597-600.
- Moreland, D. E. (1980) Mechanism of action of herbicides. *Annual Review of Plant Physiology*, 31, 597-638.
- Muñoz-Rueda, A., Gonzales-Murua, C., Becerril, J. M., Sanchez-Diaz, M. F. (1986) Effects of glyphosate on photosynthetic pigments, stomatal response and photosynthetic electron transport in *Medicago sativa* and *Trifolium pratense*. *Physiologia Plantarum*, 66, 63-68.
- Nešković, M., Konjević, R., Čulafić, Lj. (2003) *Fiziologija biljaka*. NNK-Internacional, Beograd.
- Nikolić, B. (1997) Uticaj herbicida metribuzina, linurona i dikvata na sadržaj fotosintetskih pigmenta lista soje (*Glycine max.* Merr.). *Magistarska teza*. Biološki fakultet, Beograd.
- Nikolić, B. (2007) Inhibicija fotosinteze i rasteња kukuruza (*Zea mays* L.) u uslovi- ma stresa izazvanim herbicidom sulfosatom. *Doktorska disertacija*. Prirodno- matematički fakultet, Kragujevac.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Stojaković, S. (2007a) Different aspects of growth and photosynthesis inhibition by the phosphonate herbicide sulphosate in maize (*Zea mays* L.). 1. Root manipulation. *Acta herbologica*, 16 (1), 29-39.

- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Marković, A. (2007b) *Different aspects of growth and photosynthesis inhibition by the phosphonate herbicide sulphosate in maize (Zea mays L.)*. 2. Leaf canopy manipulation. *Acta herbologica*, 16 (1), 41-49.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Marković, A. (2007c) *Different aspects of growth and photosynthesis inhibition by the phosphonate herbicide sulphosate in maize (Zea mays L.)*. 3. Effect of plant age. *Acta herbologica*, 16 (1), 51-62.
- Pavlović, D. (2005) Utvrđivanje rezistentnosti korova prema herbicidima-inhibitorima fotosinteze. *Magistarska teza*. Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Pavlović, D., Vrbničanin, S., Elezović, I., Jovanović, Lj., Marisavljević, D. (2006) Alterations in amount of chlorophyll as indicator of resistance for *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L. to atrazine. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Vol XX, 131-138.
- Percival, M. P., Baker, N. R. (1991) Herbicides and photosynthesis. in: *Herbicides*. Baker, N.R. and Percival, M.P., eds., Elsevier, Holland, 1-26.
- Poorter, H., O., Nagel (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27, 595-607.
- Ryan, G. F. (1970): Resistance of common groundsel to simazine i atrazine. *Weed Science*, 18, 614-616.
- Zarco-Tejada, P. J., Miller, J. R., Mohammed, G. H., Noland, T. L., Sampson, P. H. (2002) Vegetation stress detection trough chlorophyll a+b estimation and fluorescence effects on hyperspectral imagery. *Journal of Environmental Quality*, 31, 1433-1441.
- www. walz.com (2003)
- Wellburn, A. R. (1994) The Spectral Determination of Chlorophylls *a* and *b*, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144, 307-313.

(Primljeno: 18.08.2010.)

(Prihvaćeno: 1.09.2010.)

CHLOROPHYLL AS INDICATOR OF PLANTS RESPONSE TO HERBICIDE

DANIJELA PAVLOVIĆ*, BOGDAN NIKOLIĆ*, ERIKA PFAF-DOLOVAC, DRAGANA
MARISAVLJEVIĆ, ZORAN MILIĆEVIĆ, SANJA ĐUROVIĆ

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade, Serbia

*e-mail: dulekaca@yahoo.com; bogdannik@mail2world.com

SUMMARY

Chlorophyll is a green pigment important in photosynthesis. By monitoring chlorophyll amount we learn about productivity of photosynthesis. Many herbicides with different modes of action affect the amount of chlorophyll in plant tissue. In our study we examined the amount of chlorophyll in corn plants after application of glyphosate trimesium (sulfosate). We used a non-destructive method: SPAD reading and chlorophyll *a* fluorescence, and a destructive method: extraction of chlorophyll with dimethyl formamide and methanol. Our results show that based on amount of photosynthesis pigments and chlorophyll fluorescence yield we can monitor the stress effect of herbicides on corn plants. Our results also show that we can differentiate between treated and non treated plants.

Key words: Chlorophyll, photosynthesis, glyphosat trimesium.

(Received: 18.08.2010.)

(Accepted: 1.09.2010.)