

**PRIMENA NEDESTRUKTIVNIH METODA ZA ODREĐIVANJE  
STEPENA REZISTENTNOSTI PEPELJUGE  
(*Chenopodium album L.*) NA ATRAZIN**

Danijela PAVLOVIĆ<sup>1</sup>, Ibrahim ELEZOVIĆ<sup>2</sup>,  
Ljubinko JOVANOVIĆ<sup>3</sup> i Dragana MARISAVLJEVIĆ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za zaštitu bilja i životne sredine, Beograd, Srbija i Crna Gora  
<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Zemun, Srbija i Crna Gora  
<sup>3</sup>Institut SRBIJA - Centar za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun,  
Srbija i Crna Gora

Pavlović Danijela, Ibrahim Elezović, Ljubinko Jovanović and Dragana Marisavljević (2004): *Applied non-destructive methods for determination resistance level in common lambsquarters (Chenopodium album L.) to atrazine*. - Acta herbologica, Vol. 13, No. 2, 531-536, Beograd.

The aim of our investigation was to establish the level of atrazine resistance in common lambsquarters (*Chenopodium album L.*) populations collected from different location in Serbia compared with resistance population from Great Britain. Measurements were done by the non-destructive methods chlorophyll fluorescence and Spad-meter. Our results showed that the most sensitive method is chlorophyll fluorescence. Spad-meter measuring is not adequate for distinguish triazine resistant and susceptible plants. In population of *Chenopodium album L.* - collected from Veliki Crljeni, Surcin and Belgrade the atrazine resistance is not confirmed.

*Key words:* atrazine, *Chenopodium album L.*, fluorescence *chl a*, resistance, Spad-meter

## UVOD

Primena herbicida predstavlja osnovni metod borbe protiv korova poslednjih pola veka. Gajenjem useva u monokulturi, zatim primenom herbicida istog mehanizma delovanja u dužem vremenskom periodu kao i minimalna obrada zemljišta doveli su do pojave i širenja rezistentnih populacija korova. Takve promene su najzapaženije u usevu kukuruza gde su u upotrebi triazinski herbicidi već preko trideset godina. U vezi s tim na području naše zemlje konstatovani su neki slučajevi povećane otpornosti jedogodišnjih širokolisnih i travnih korovskih vrsta (*Chenopodium album* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Setaria viridis* L.) na atrazin (JANJIĆ i sar., 1994; ARESENOVIĆ i sar., 1991; KONSTANTINOVIĆ i sar., 2000). Preko procesa fotosinteze, kao primarnog mesta delovanja triazinskih herbicida, mogu se pratiti promene u biljci koje vode ka razvoju rezistentnosti prema atrazinu. Primarno mesto delovanje atrazina je blokiranje transporta elektrona u fotosistemu II pri čemu hlorofil postaje preopterešen energijom i kao rezultat toga u reakcijama fotooksidacije dolazi do njegove razgradnje. Paralelno dolazi do peroksidacije lipida u membrani hloroplasta i njihovog propadanja kod osetljivih biljaka (MORELAND, 1980). Nasuprot ovome, kod rezistentnih biotipova dolazi do mutacije na proteinu D<sub>1</sub> u fotosistemu II pri čemu dolazi do zamena serina 264 sa glicinom čime se onemogućuje delovanje herbicida (FUERST i NORMAN, 1991).

Cilj ovih istraživanja je bio da se pomoću nedestruktivnih metoda utvrdi stepen rezistentnosti korovskih biljaka iz populacija prikupljenih sa različitih lokaliteta u Srbiji poređenjem sa referentnom rezistentnom populacijom iz Velike Britanije. Korišćene su metode fluorescencija hlorofila i očitavanje Spad-metrom.

## MATERIJAL I METODE

Ispitivanja su obavljena tokom 2003. godine u laboratorijama Centra za pesticide i zaštitu životne sredine i Instituta za zaštitu bilja i životne sredine u Beogradu. Semena vrste *Chenopodium album* L. prikupljena su tokom 2001 godine sa površina na kojima su herbicidi na bazi a.m. atrazin primenjivani 5-10 godina i sa površina na kojoj nikada nije bilo primene herbicida (lokalitet Beograd).

Za tretiranje je korišćen preparat Gesaprim (a.m. atrazin, 90%). Svi eksperimenti su urađeni u dve serije od po četiri ponavljanja po sistemu slučajnog odabira uzoraka.

Biljke vrste *Chenopodium album* L. su gajene u fitotronu u kontrolisanim uslovima pri  $t = 28/20 \pm 2$  C, vlažnosti vazduha 70-75%, dužini dana 15 h i intezitetu svetla od  $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Aplikacija herbicida izvršena je hromatografskom prskalicom kada su biljke bile u fazi razvijena 3 lista. Količine primene su bile 2, 4 i 8 kg a. m. h<sup>-1</sup>.

Merenje fluorescencije hlorofila obavljeno je fluorimetrom (Chlorophyll Fluorescence System PAM 101, H. Walz., Germany), a sadržaj hlorofila je meren Spad-metrom (Spad 500 Minolta). Na osnovu rezultata dobijenih merenjem fluorescencije izračunata je fotohemijska efikasnost fotosistema II iz odnosa

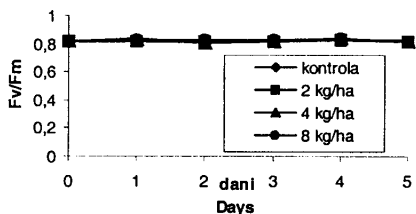
varijabilne ( $F_v$ ) i maksimalne ( $F_m$ ) fluorescencije  $F_v/F_m$  (MAXVELL i JOHNSON, 2000). Da bi se postiglo što efikasnije merenje fluorescencije odnosno aktivnosti fotosinteze biljke su pre merenja držane u uslovima mraka (zatvaranje reakcionih centara fotosistema).

Merenja su urađena pre tretiranja i 1, 2, 3, 4 i 5 dana posle primene preparata. Uporedo je na istim listovima vršeno očitavanje sa Spad-metrom.

Rezultat su statistički obrađeni koeficijentom korelacije i T-testom na nivo značajnosti 0.05% (HADŽIVUKOVIĆ, 1973). Promene u prinosu fluorescencije tretiranih biljaka prikazane su procentualno u odnosu na kontrolne jedinke.

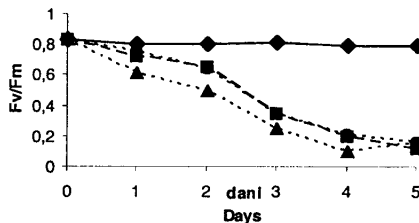
## REZULTATI I DISKUSIJA

Fluorescencija hlorofila je nedestruktivna i osetljiva metoda za praćenje promena u fotosintezi izazvanih različitim vrstama stresa (VAN OORCHOT i VAN LEEUVEN, 1992). Dobijene vrednosti fluorescencije su relativne vrednosti jer se svetlost nepovratno gubi (MAXVELL i JOHNSON, 2000) ali mogu poslužiti kao parametri za praćenje razvoja rezistentnosti. Isti autori navode da vrednost fluorescencije od 0.83 ukazuje da biljke nisu bile izložene stresu. U našim ogleđima nivo fluorescencije svih kontrolnih biljaka se kretao od 0.81 do 0.60. Primena atrazina nije uticala na promenu ovog nivoa kod rezistentne populacije *Chenopodium album* L. (lokalitet Velika Britanija, Grafik 1)



Grafik 1. - Fluorescencija hlorofila rezistentne populacije iz Velike Britanije u zavisnosti od vremena i količine primenjenog atrazina

Figure 1. - Chlorophyll fluorescence of resistant population from UK vs time and atrazine dose

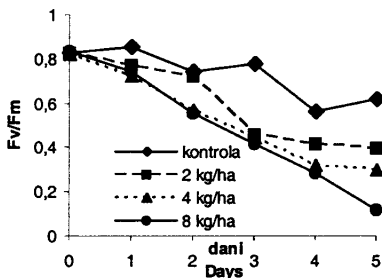


Grafik 2. - Fluorescencija hlorofila populacije iz Beograda u zavisnosti od vremena i količine primene atrazina

Figure 2. - Chlorophyll fluorescence of population from Belgrade vs time and atrazine dose

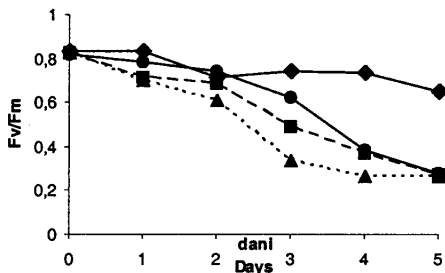
Kod biljaka sa drugih lokaliteta Veliki Crljeni (Grafik 3), Surčin (Grafik 4) i Beograd (Grafik 2) atrazin je značajno uticao na smanjenja fotosintetske aktivnosti što je dovelo do porasta inteziteta fluorescencije na 0.3-0.2. Ovakve vrednosti  $F_v/F_m$  ukazuju na to da je biljka fiziološki neaktivna. Primena atrazina u količini od 2 kg/ha dovela je do povećanja inteziteta fluorescencije osetljive populacije (lokalitet Beograd) i petog dana iznosilo je 86.04% u odnosu na kontrolne biljke, dok su promene kod rezistentne populacije bile minimalne. Kod ostalih ispitivanih populacija porast fluorescencije je bio 58.37% (lokalitet Veliki Crljeni) i 66.96% (lokalitet Surčin). Povećanjem količine primene atrazina na

8 kg/ha prinos fluorescencije je i dalje rastao i kod osetljive populacije iznosilo je 84.82% a kod drugih populacija 74.56% (lokalitet Veliki Crljeni) i 79.95% (lokalitet Surčin) u odnosu na kontrolne biljke. Niži nivo fluorescencije rezistentnih populacija *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* L. u odnosu na osetljive uočili su AHRENES i sar., 1981; JANJIĆ i sar., 1988; JANJIĆ i PEKIĆ, 1990 i drugi. Rezistentnost se kod *Amaranthus retroflexus* L. može dovesti u vezu sa niskim prinosom fotosinteze (HOLT i sar., 1981, cit.: VAN OORCHOT i VAN LEEUWEN, 1989) dok se kod vrste *Chenopodium album* L. ne uočavaju statistički značajne razlike između rezistentnih i osetljivih biljaka (JANSEN i sar., 1986, cit.: VORCHOT i VAN LEEUWEN, 1989).



Grafik 3. - Fluorescencija hlorofila populacije Veliki Crljeni u zavisnosti od vremena i količine primene atrazina

Figure 3. - Chlorophyll fluorescence of population from Veliki Crljeni vs time and atrazine dose



Grafik 4. - Fluorescencija hlorofila populacije Surcin u zavisnosti od vremena i količine primene atrazina

Figure 4. - Chlorophyll fluorescence of population from Surcin vs time and atrazine dose

Vrednosti osnovne fluorescencije ( $F_0$ ) su rasle, a vrednosti varijabilne fluorescencije su se smanjivale zbog primene atrazina kod ispitivanih populacija. Kod rezistentne populacije nisu uočene značajne promene ovih parametara. Poređenjem nivoa fluorescencije posle 5 dana u odnosu na 24 h dobijene su statistički značajne razlike kod svih ispitivanih populacija osim kod referentne rezistentne populacije (lokalitet Velika Britanija). Podaci dobijeni merenjem Spad-metrom pokazuju variranja kod kontrolnih i tretiranih biljaka. Poređenjem vrednosti očitanih Spad-metrom i fluorescencije hlorofila nije utvrđena statistički značajna korelacija (Tabela 1.)

Tabela 1. - Vrednosti koeficijenta korelacije i t vrednosti za ispitivane populacije *Chenopodium album* L., nivo značajnosti \*\* - 0.05% i \* - 0.01 %.

Table 1. - Correlation coefficient values and t values for examined population of *Chenopodium album* L.

Populacije Population of <i>Chenopodium album</i> L.	Koeicijeni korelacije između vrednosti fluorescencije hlorofila i Spad - metra Correlation coefficient values								Fluorescencija hlorofila 24h - 5 dan Chlorophyll Fluorescence 24 h - 5 Days				SPAD - METAR 24h - 5 dan SPAD METER 24 h - 5 Days			
	24h				5 dan				T - test							
	K	2 kg ha <sup>-1</sup>	4 kg ha <sup>-1</sup>	8 kg ha <sup>-1</sup>	K	2 kg ha <sup>-1</sup>	4 kg ha <sup>-1</sup>	8 kg ha <sup>-1</sup>	K	2 kg ha <sup>-1</sup>	4 kg ha <sup>-1</sup>	8 kg ha <sup>-1</sup>	K	2 kg ha <sup>-1</sup>	4 kg ha <sup>-1</sup>	8 kg ha <sup>-1</sup>
V.BRITANIJA UK	0.1	0.6	0.6	0.1	0.7	0.2	-0.03	0.5	1.3	-6.9**	-5.9**	-2.6*	1.2	-2.6*	-0.1	0.2
VELIKI CRLJENI *	0.8	0.6	0.4	-0.6	0.5	0.3	0.4	0.4	2.5	5.8**	9.7**	11.6**	2.9*	-1.7	-3.9**	-2.4*
SURČIN	0.1	-0.9**	0.6	0.5	-0.5	-0.8	-0.1	0.2	-0.3	9.0**	7.2**	8.3**	-0.4	-1.4	-2.1	-0.3
BEOGRAD BELGRADE	0.6	-0.7	0.8*	0.8	-0.1	-0.4	-0.2	0.6	1.2	7.1**	11.5**	17.8**	0.8	-0.2	0.6	1.8

## ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata ovih istraživanja može se doneti sledeće zaključke:

- najosetljivija metoda za određivanje nivoa razlika između rezistentnih i osetljivih populacija je metoda fluorescencije hlorofila.
- rezultati merenja sa Spad-metrom ne pokazuju značajne razlike između kontrolnih i tretiranih biljaka pa se može zaključiti da ova metoda nije dovoljno pouzdana.
- u ispitivanim populacijama *Chenopodium album*, lokaliteti: Veliki Crljeni, Surčin i Beograd (utvrđen je visok intezitet fluorescencije) nije potvrđena rezistentnost prema atrazinu.

## LITERATURA

- AHRENS, W. H., ARNTZEN, C. J., STOLLER, E. W. (1981): Chlorophyll Fluorescence Assay for the Determination of Triazine Resistance. *Weed Science*, 29: 316-322.
- ARSENOVIĆ, M., ŽIVANOVIĆ, M., ŠOVLJANSKI, R. (1991): Weed control on railways in Yugoslavia. *Proceeding of the Brighton Crop Protection Conference Weeds*, 1159-1164.
- FUERST, P. E., NORMAN, A. M. (1991): Interactions of Herbicides with Photosynthetic Electron Transport. *Weed Science*, 39, 458-464.
- HADŽIVUKOVIĆ, S. (1973): Statistički metodi, RU "Radivoj Cirpanović", Novi Sad.
- JANJIĆ, V., PEKIĆ, S. (1990): Fenomen rezistentnosti korovskih biljaka i metode koje se koriste u njenom proučavanju, *Fragmenta herbologica Jugoslavica*, 19: 69-79.
- JANJIĆ, V., VELJKOVIĆ, S., JOVANOVIĆ, LJ., PLESNIČAR, M., ARSENOVIĆ, M. (1988): Utvrđivanje rezistentnosti *Amaranthus retroflexus* L. prema atrazinu primenom metode fluorescencije listova. *Fragmenta herbologica Jugoslavica*, 17: 45-54.
- JANJIĆ, V. STANKOVIĆ-KALEZIĆ, R., RADIVOJEVIĆ, LJ., MARISAVLJEVIĆ, D., JOVANOVIĆ, LJ., AJDER, S. (1994): Rezistentnost *Amaranthus retroflexus* L. i *Chenopodium album* L. prema atrazinu. *Acta herbologica*, 3: 63-71.
- KONSTATINOVIĆ, B., MESELDŽIJA, M., ELEZOVIĆ, I. (2000): Metode za utvrđivanje rezistentnih korovskih vrsta na herbicide, *Zbornik radova šestog kongresa o korovima. Herbološko društvo Srbije*, Beograd.

- MAXWELL, K., JOHNSON, N. G. (2000): Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345): 659-668.
- MORELAND, D. E. (1980): Mechanism of action of herbicides. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 597-638.
- VAN OORCHOT, J. L. P., VAN LEEUWEN, P.H. (1992): Use of fluorescence induction to diagnose resistance of *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass) to chlorotoluron. *Weed Research*, 32: 473-482.
- VAN OORCHOT, J. L. P., VAN LEEUWEN, P. H. (1989): Photosynthetic capacity of intact leaves of resistant and susceptible cultivars of *Brassica napus* to atrazine. *Weed Research*, 29: 29-32.

Primljeno 25. marta 2004.

Odobreno 10. aprila 2004.

**APPLIED NON-DESTRUCTIVE METHODS FOR DETERMINATION  
RESISTANCE LEVEL IN COMMON LAMBSQUARTERS (*CHENOPODIUM  
ALBUM* L.) TO ATRAZINE**

Danijela PAVLOVIĆ<sup>1</sup>, Ibrahim ELEZOVIĆ<sup>2</sup>,  
Ljubinko JOVANOVIĆ<sup>3</sup> and Dragana MARISAVLJEVIĆ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

<sup>2</sup>University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Zemun

<sup>3</sup>ARI SERBIA - Pesticide and Environmental Research Centre, Zemun

The aim of our investigation was to establish the degree of atrazine resistance in plants of *Chenopodium album* L. population from Serbia and resistance population from Great Britain. Seeds used in experiments were collected from the corn grown areas treated with atrazine for over ten consecutive years (Surčin and Veliki Crljeni), while the control seeds were collected from untreated areas nearby Belgrade (Belgrade). As a referent population resistant seeds of *Chenopodium album* L. from Great Britain were used. Plants in fully emerged third leaves, from all population, were sprayed with different doses (2, 4 and 8 kg ha<sup>-1</sup>) of atrazine (Gesaprim, 90% a.i. atrazine). As a non destructive methods we used SPAD-meter for measuring chlorophyll content and fluorometer for chlorophyll a fluorescence which is expressed as ratio between variable (Fv) and maximal (Fm) chlorophyll fluorescence. Both parameters were measured at the same leaf before and 1, 2, 3, 4 and 5 days after atrazine treatments. Results shown that the most sensitive method is by using method of chlorophyll fluorescence. SPAD-meter is not adequate for distinguishing triazine resistant and susceptible plants. In populations of *Chenopodium album* L.- collected from Serbia (Veliki Crljeni, Surcin and Belgrade) atrazine resistance is not confirmed.

Received March 25, 2004

Accepted April 10, 2004