

**RAZLIČITI ASPEKTI INHIBICIJE RASTENJA  
I FOTOSINTEZE KUKURUZA (*ZEA MAYS* L.)  
FOSFONATNIM HERBICIDOM SULFOSATOM.  
4. DEJSTVO NA BILJKE RASLE  
U KONTROLISANIM USLOVIMA**

BOGDAN NIKOLIĆ<sup>1</sup>, ZORAN MILIĆEVIĆ<sup>1</sup>, SANJA ĐUROVIĆ<sup>1</sup>, GORAN DRINIĆ<sup>2</sup>,  
VLADAN JOVANOVIĆ<sup>2</sup>, VASKRSIJA JANJIĆ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

<sup>2</sup>Institut za kukuruz „Zemun-Polje“, Zemun, Beograd

<sup>3</sup>Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun, Beograd

U radu se razmatra dejstvo herbicida sulfosata na rastenje, akumulaciju i preraspodelu suve mase, fotosintezu i vodni režim biljaka kukuruza, raslih u kontrolisanim uslovima. Herbicid sulfosat značajno umanjuje akumulaciju suve mase, usporava rastenje biljaka kukuruza i utiče na preraspodelu suve mase u biljci. Poslednji efekat verovatno je u vezi sa specifičnošću metabolizma ugljenih hidrata u stablu kukuruza. Akumulacija suve mase i rastenje kukuruza zavise od preraspodele suve mase u koren i listove, što bi bio jedan od uzroka fitotoksičnog dejstva sulfosata. Pored toga, sulfosat inhibira funkcije korena i vodni režim listova kukuruza. Ipak, najraniji efekat sulfosata jeste fotoinhibicija fotosinteze, za kojom sledi degradacija fotosintetskih pigmenata i struktura. Metoda fluorescencije Chla može se koristiti za *in situ* praćenje funkcionalnog starenja listova u stanju stresa, kao npr. pri dejstvu herbicida sulfosata.

*Ključne reči:* sulfosat, kukuruz (*Zea mays* L.), rastenje biljaka, akumulacija i preraspodela suve mase, vodni režim, fotosinteza, fluorescencija Chla

**Skraćenice:** PEP: fosfoenol piruvat; PAR: fotosintetski aktivna radijacija (identična vidljivoj sunčevoj svetlosti); Chla, Chlb: hlorofili a i b; x, c: karotenoidi tipa ksantofila i karotena; PS<sub>2</sub>: fotosistem 2; Fv/Fm: stvarni kvantni prinos fotosistema 2; qp: fotohemijaska efikasnost PS<sub>2</sub>; Φ PS<sub>2</sub>: kvantna efikasnost PS<sub>2</sub>; ETR: intenzitet transporta elektrona u PS<sub>2</sub> (μmol elektrona m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); RWC: relativni sadržaj vode (%), parametar vodnog režima; RGR: relativna brzina rastenja biljke (mg g<sup>-1</sup> dan<sup>-1</sup>); LMR, RMR, SMR: udeone suve mase listova, korena stabla (g g<sup>-1</sup>)

## UVOD

Fosfonatni herbicidi (glifosat, sulfosat) inhibiraju šikimatni biosintetski put, što predstavlja mehanizam dejstva tih herbicida (Amrhein i sar., 1980). Geiger (Servaites i sar., 1987; Shieh i sar., 1991) je istraživao vrlo ranu inhibiciju (1-2 časa po tretiranju) fotosinteze i sinteze skroba uzrokovanu herbicidom glifosatom. Pomenuti autor smatra da primarna preraspodela asimilata zavisi od sudbine fosfoenol piruvata (PEP), jednog od važnih intermedijera Kalvinovog ciklusa (Geiger i Servaites, 1994), kao i da je PEP jedan od ranih prekursora u šikimatnom biosintetskom putu. Isti autor dokazuje (Servaites i sar., 1987; Shieh i sar., 1991) da pri inhibiciji šikimatnog biosintetskog puta herbicidom glifosatom dolazi do iscrpljivanja pula PEP, inhibicije Kalvinovog ciklusa i ukupne fotosinteze, ali i sinteze skroba. Pri tome ne dolazi do prekida sinteze saharoze, pa se floemski eksport asimilata (i herbicida glifosata!) odvija se nesmetano i više dana po tretiranju biljaka (Geiger i Bestman, 1990). Mišljenja smo da opisani rani poremećaj fotosinteze i sinteze skroba pri fitotoksičnom dejstvu fosfonatnih herbicida uslovljava inhibiciju rasteanja, kao i drugih fizioloških procesa biljaka.

## MATERIJAL I METODE

Biljke kukuruza (*Zea mays* L.; hyb. ZPSC 704) gaje se na glistenjaku (plastične saksije V=3 l) u fitotronsnoj komori (PAR=300-400  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , fotoperiod: 14/10 h, temperatura: 22/18 $\pm$ 2  $^{\circ}\text{C}$ , vlažnost vazduha: 55/65 $\pm$ 5%). Biljke su gajene do uzrasta 5-og skoro potpuno formiranog lista (4 nedelje stare biljke). Kukuruz se tretira herbicidom sulfosatom (pripada grupi fosfonata) u vidu komercijalnog preparata "Touchdown" (Syngenta, UK; sadrži 480 g/l a.s. sa odgovarajućim okvašivačem) u koncentraciji  $10^{-2}$  mol (Shieh i sar., 1991; preliminarni ogled). Tretiranje biljaka izvršeno je leđnom prskalicom (tip „Solo“), pri pritisku od 0,4 MPa, do potpunog kvašenja listova. Tretiranje i postretman vrši pri slabom svetlu, nakon čega se biljke prenose u fitotron, gde se čuvaju do kraja ogleda.

PAM-fluorimetrijom (PAM 101/103 fluorimetar, Walz, Effeltrich, Gemany) prati se indukcija i gašenje fluorescencije Chla. Parametri gašenja fluorescencije Chla (qP, Fv/Fm,  $\Phi$  PS<sub>2</sub>; definisani po Maxwell i Johnson, 2000), iako zametni za određivanje, pružaju nam obilje informacija o funkciji fotosistema 2 i ukupne fotosinteze u normalnim uslovima i pri izloženosti biljke nekom stresu (Lichtenthaler, 1996; Maxwell i Johnson, 2000; Lichtenthaler i Babani, 2004).

Merenja fluorescencije Chla vršena su na 20-25 cm od vrha najmlađeg, potpunog formiranog lista PAM 101/103 fluorometrom. Kod C<sub>4</sub> biljaka parametar  $\Phi$  PS<sub>2</sub> koristi se za procenu fotosintetske fiksacije CO<sub>2</sub> (Krall i Edwards, 1992; Oberhuber

i Edwards, 1993), mada nema saglasnosti o tome (Maxwell i Johnson, 2000). Pomenuti parametri). Merenje „svetlosnih krivi“ parametara fluorescencije Chla i fotosinteze vršeno je po metodi Rascher-a i saradnika (2001). Merenje intenziteta fotosintetski aktivne radijacije (PAR) vršeno je „svetlomerom“ (Quantum Data Loger) *LI-1000* (*LI-COR*, Lincoln, NE, USA) na najmlađem potpuno razvijenom listu kukuruza, kao i većina merenja fluorescencije Chla.

Po merenju parametara fluorescencije Chla, na početku i na kraju oglada (sem ako nije drugačije naznačeno), uzimani se uzorci za analizu suve mase, fotosintetskih pigmenata i RWC. Uzorci ( $P_{\text{uzorka}}=1,57 \text{ cm}^{-2}$ ) za fotosintetske pigmente i RWC uzimani su borerom sa mladih, potpuno razvijenih listova, 20-25 cm od vrha lista i mereni na analitičkoj vagi. Ostatak uzoraka sušen je (na  $t=80^{\circ} \text{C}$ ) do vazdušno suvog stanja i meren na tehničkoj vagi radi određivanja suve mase. Pri izolaciji korena (ispira se pri umereno jakom mlazu vode), pored određivanja sveže mase određivana je zapremina korena na osnovu Arhimedovog zakona (Sarić i sar., 1986). Ekstrakcija fotosintetskih pigmenata iz uzoraka vršena je pasivno u 3,5 ml DMF-a na  $-20^{\circ} \text{C}$ . Iz ekstrakta direktno su na spektrofotometru (rezolucija 1-4 nm) očitavane apsorbance uzoraka na 664, 647 i 480 nm ( $A_{664}$ ,  $A_{647}$  i  $A_{480}$ ). Onda su izračunavani (po: Wellburn, 1994) sadržaji *Chla* ( $C_a$ ), *Chl<sub>b</sub>* ( $C_b$ ) i ukupnih karotenoida ( $C_{x+c}$ ) u ekstraktu uzorka lista. Sadržaj fotosintetskih pigmenata preračunat je na jediničnu površinu ( $\text{mg m}^{-2}$ ):

$$1) C=c \times V \times R / 0.1 p,$$

gde je  $C$  ( $\text{mg m}^{-2}$ ) koncentracija pigmenata po jediničnoj površini lista,  $c$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) koncentracija pigmenata po jediničnoj zapremini ekstrakta,  $V$  (ml) ukupna zapremina ekstrakta,  $R$  faktor razblaženja (ukoliko je ekstrakt razblaživan),  $p$  označava površinu uzorka lista ( $\text{cm}^{-2}$ ). Određivanje RWC (relativni sadržaj vode: %), određivano je merenjem sveže mase uzoraka listova (FW: g) uzetih sa istog mesta gde je merena fluorescencija Chla. Zatim su inkubirane 4 časa na destilovanoj vodi u mraku, posle čega je (višak vode sa uzoraka se uklanja) merena turgidna tj. masa vlaženja uzorka (TW: g). Uzorci su sušeni na  $105^{\circ} \text{C}$ , pa je merena suva masa uzorka (DW: g). Iz tih vrednosti (FW, TW, DW) izračunavan je RWC (Sarić i sar., 1986).

$$2) RWC= ((FW-DW) / (TW-DW)) \times 100$$

Na osnovu morfometrijske analize izračunavan je RGR parametar rastenja. On predstavlja relativnu brzinu rastenja biljke (brzina povećanja/akumulacije suve mase po jedinici suve mase u vremenu:  $\text{mg g}^{-1} \text{ dan}^{-1}$ ) i izražava se:

$$3) RGR= 1000 \times (\ln W(t_f) - \ln W(t_0)) / (t_f - t_0),$$

gde su  $t_0$  i  $t_f$  vremena početka i završetka oglada, a  $W$  srednja suva masu biljaka u datom trenutku (De Groot i sar., 2002). Pre izračunavanja ovog parametra izvršena je ln-transformacija (srednje) suve mase biljaka ( $W$ ) (Poorter i Garnier, 1996). Preraspodela suve mase u biljci izražavana je alometrijskim koeficijenti-

ma, tj. koeficijentima preraspodele suve mase (udeona suva masa pojedinih biljnih organa u ukupnoj suvoj masi biljke) (Farrar i Gunn, 1998; Lambers i sar., 1998). To su: LMR (udeona suva masa listova:  $\text{g g}^{-1}$ ), RMR (udeona suva masa korena:  $\text{g g}^{-1}$ ) i SMR (udeona suva masa stabla:  $\text{g g}^{-1}$ ).

Statistička obrada rezultata započeta je izračunavanjem srednje vrednosti svakog parametra ponaosob (kompjuterski program *M Stat C*, Michigan Stat University, USA). Testiranje statističke značajnosti vršeno je analizom varijanse (isti kompjuterski program; testiranje vršeno bilo za pojedinačne oglede, bilo za više ogleada urađenih po istoj shemi), na nivou 5% (\*) i 1% (\*\*) praga statističke značajnosti, odnosno početka ogleada. Statistički značajna razlika 5% praga značajnosti data je i pomoću slovnih i drugih simbola. Testiranje veza pojedinih parametara akumulacije i preraspodele suve mase, rastenja, zapremine korena i RWC parametra vodnog režima, zatim različitih parametara fluorescencije Chla i fotosinteze, kao i sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata vršeno je korelativnim računom (pomenuti kompjuterski program), na nivou 5% (\*) i 1% (\*\*) praga statističke značajnosti.

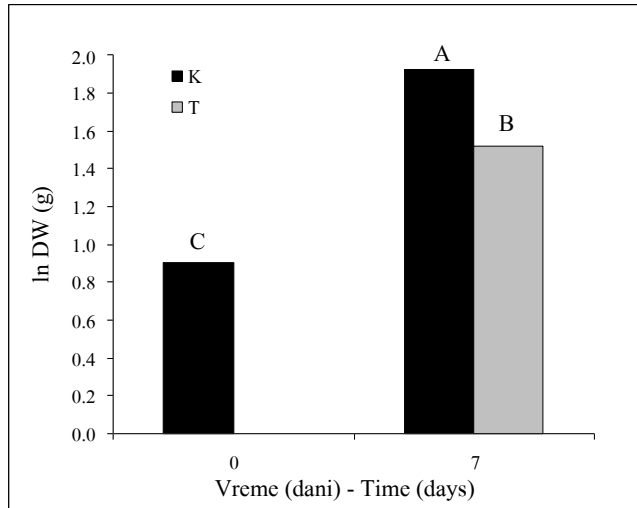
## REZULTATI I DISKUSIJA

U prvom ogledu tretiranje biljaka kukuruza  $10^{-2}$  mol herbicidom sulfosatom tokom oglednog perioda značajno umanjuje akumulaciju suve mase (Tabela 1; Grafik 1), što usporava rastenje ( $\text{RGR}_k=141,57 \text{ mg g}^{-1}\text{d}^{-1}$ ;  $\text{RGR}_r=67,57 \text{ mg g}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) kod tretiranih u odnosu na kontrolne biljke.

**Tabela 1** – Parametri preraspodele (RMR, SMR i LMR:  $\text{gg}^{-1}$ ) i akumulacije suve mase (ln DW: g) i RWC (%; 4-ti list) parametra vodnog režima kukuruza raslog 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 1** – Parameters of allocation (RMR, SMR i LMR:  $\text{gg}^{-1}$ ) and acumulation (ln DW: g) of dry matter and RWC (%; 4-th leaf) parameter of water regime of 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

Parametar dan/tretman (K/T)	RMR	SMR	LMR	ln DW	RWC
0/K	0,144	0,288	0,556	0,900	99,23
7/K	0,200	0,306	0,494	1,923 **	96,05
7/T	0,162	0,443 **	0,412 **	1,526 **	85,48 **
LSD <sub>0,05</sub>	0,059	0,068	0,110	0,148	6,43
LSD <sub>0,01</sub>	0,082	0,094	0,136	0,205	8,92



**Grafik 1** – Akumulacija suve mase kontrolnih (K) i tretiranih (T:  $10^{-2}$  mol sulfosat) biljaka kukuruza tokom 7-dnevnog oglednog perioda. Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima (Prema Tabeli 1).

**Graph 1** – Dry-matter accumulation of controled (K) and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) maize plants during 7th days trial period. 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

Tretiranje kukuruza sulfosatom dovelo je do statistički značajne preraspodele suve mase prema stablu, na „račun“ asimilatornog tkiva (Tabela 1). RWC parametar 4-og lista tretiranih biljaka značajno je manji u odnosu na isti list kontrolnih biljaka (Tabela 1). Taj nalaz tumačimo specifičnim ugljenohidratnim metabolizmom stabla kukuruza (ne sadrži skrob) (Setter i Meler, 1984), što bi mogao biti razlog relativnog uvećanja SMR pri inhibiciji sinteze skroba sulfosatom.

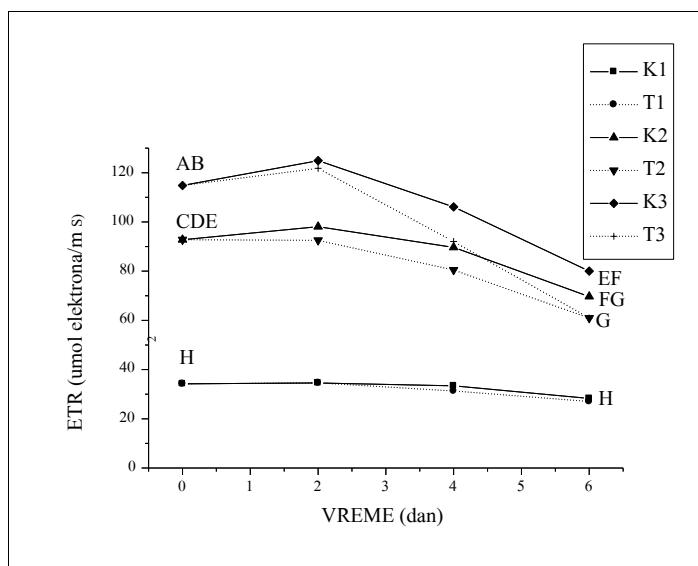
Akumulacija suve mase (ln DW) značajno je korelisana sa udeonom suvom masom korena, a negativno značajno korelisana sa parametrom LMR (Tabela 2). Parametri RWC i LMR nalaze se u pozitivnoj korelaciji (Tabela 2), nasuprot negativnoj korelaciji parametara RWC i SMR, kao i SMR i LMR (Tabela 2).

Zapaženo je da ETR parametar fotosinteze opada tokom ogleda kod kontrolnih i kod tretiranih biljaka (Grafik 2). Međutim, taj trend je izraženiji kod biljaka tretiranih sulfosatom, posebno pri intenzivnijoj aktinskoj svetlosti ( $PAR=348,69$  i  $466,39 \mu\text{mol (fotona) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). To ukazuje na fotoinhibiciju fotosinteze uzrokovanu dejstvom sulfosata, što je saglasno literaturnim podacima (Shieh i sar., 1991). Na sličan način sulfosat deluje na parametre fluorescencije  $Chla$  qP i  $\Phi PS_2$  (nije prikazano). Parametri  $\Phi PS_2$  i ETR nisu u korelativnoj vezi.

**Tabela 2** – Korelativni odnosi parametara akumulacije i preraspodele suve mase, kao i RWC parametra vodnog režima. Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima (Prema Tabeli 1).

**Table 2** – Corelative relationship between parameters of alocation and acumulation of dry matter and RWC parameter of water regime of 4th weeks old maize plants grown in controlled environment (According to Table 1).

	ln DW	RWC	RMR	SMR	LMR
ln DW		-0,305	0,413*	0,189	-0,432*
RWC			0,049	-0,705**	0,683**
RMR				-0,291	-0,315
SMR					-0,804**
LMR					



**Grafik 2** – Promene ETR parametra fotosinteze 5-og lista tokom 6-dnevnog ogleadnog perioda. Kontrolne i tretirane ( $10^{-2}$  mol sulfosat) biljke kukuruza rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. K1, K2, K3, T1, T2, T3: kontrolne, tj. tretirane biljke osvetljavane aktinskom  $PAR_1$  ( $=118,52 \pm 24,07 \mu\text{mol (fotona) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),  $PAR_2$  ( $=348,69 \pm 30,17 \mu\text{mol (fotona) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) i  $PAR_3$  ( $=466,39 \pm 26,86 \mu\text{mol (fotona) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ).

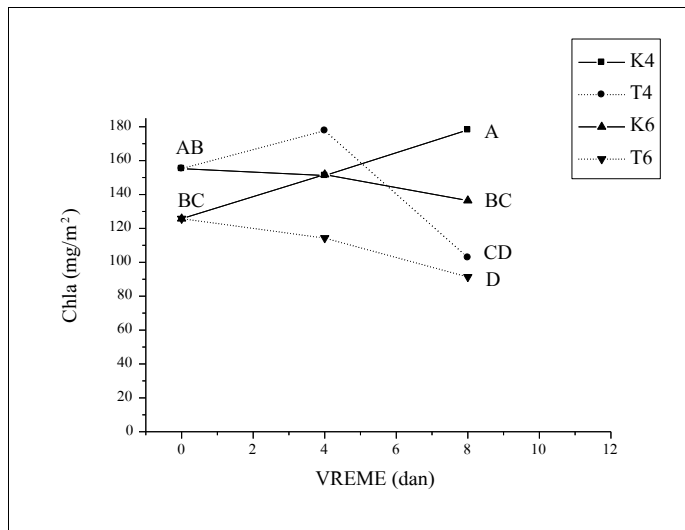
**Graph 2** – Changes of ETR parameter of photosynthesis of during 6th days trial period. Controlled (K) and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) 4th week old maize plants grown in controlled environment. K1, K2, K3, T1, T2, T3: control and treated plants irradiated with actinic light of  $PAR_1$  ( $=118,52 \pm 24,07 \mu\text{mol (photons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ),  $PAR_2$  ( $=348,69 \pm 30,17 \mu\text{mol (photons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) and  $PAR_3$  ( $=466,39 \pm 26,86 \mu\text{mol (photons) m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ).

U drugom ogledu praćene su promene RWC parametra 5-og lista (Tabela 3), promene sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata 4-og i 6-og lista (Tabela 4, Grafik 3) i promene parametara fluorescencije *Chla* i fotosinteze 4-og, 5-og i 6-og lista (Tabele 5 i 6, Grafik 4).

**Tabela 3** – RWC (%) parametar vodnog režima 5-tog lista biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 3** – RWC (%; 5-th leaf) parameter of water regime of 4th weeks old maize plants grown in controled environment

Parametar dani po T/tretman (K/T)	RWC
0/K	98,82
8/K	97,05
8/T	75,70 *
LSD <sub>0,05</sub>	4,12
LSD <sub>0,01</sub>	5,78



**Grafik 3** – Promene sadržaja hlorofila a (Chla) u 4-tom i 6-om listu kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  mol sulfosat) biljaka kukuruza tokom 8-dnevnog oglednog perioda. Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. K4, K6, T4, T6: 4-ti i 6-ti list kontrolnih i tretiranih biljaka.

**Graph 3** – Changes of contents of chlorophyll a (Chla) in 4th and 6th leaf of control and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) maize plants during 8th days trial period. Four weeks old maize plants grown in controled environment. K4, K6, T4, T6: 4th and 6th leaf of control and treated plants

**Tabela 4** – Korelativni odnosi parametara sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenta 4-og i 6-og lista kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  mol sulfosat) biljaka kukuruza raslih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 4** – Corelative relationship between parameters of content and ratios of photosynthetic pigments of 4th and 6th leaves of controled and treated ( $10^{-2}$  mol sulphosate) 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

	Chla	Chlb	Chla+b	Chla/Chlb	x+c	Chla/x+c
Chla		0,974**	0,998**	0,607**	0,729**	0,520**
Chlb			0,985**	0,418*	0,763**	0,436*
Chla+b				0,563**	0,741**	0,502**
Chla/Chlb					0,186	0,650**
x+c						-0,193
Chla/x+c						

**Tabela 5** – Parametri fluorescencije Chla, qP i  $\Phi$  PS<sub>2</sub>, 4-og, 5-og i 6-og lista kukuruza gajenog 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. Mereno pri PARaktinsko=360,00±3,17  $\mu$ mol (fotona) m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

**Table 5** – qP and  $\Phi$  PS<sub>2</sub> parameters of fluorescence of Chla of 4th and 6th leaves of 4th weeks old maize plants grown in controled environment. Measured in actinic light of PAR=360,00±3,17  $\mu$ mol (photons) m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

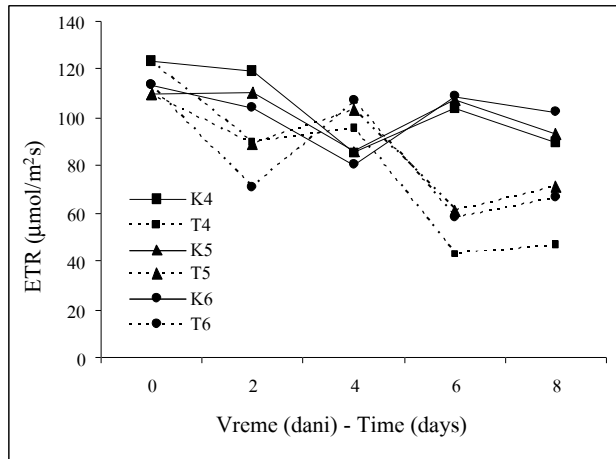
parametar/ list dan/ tretman (K/T)	qP/4	qP/5	qP/6	$\Phi$ PS II/4	$\Phi$ PS II/5	$\Phi$ PS II/6
0/K	0,917	0,912	0,886	0,684	0,610	0,630
2/K	0,906	0,900	0,870	0,660	0,612	0,578
2/T	0,793 **	0,775 **	0,745 **	0,499 **	0,490 *	0,390 **
4/K	0,816 *	0,814 *	0,822	0,474 **	0,478 **	0,443 **
4/T	0,795 **	0,845	0,860	0,531 **	0,575	0,594
6/K	0,852	0,871	0,891	0,578 *	0,597	0,602
6/T	0,655 **	0,789 **	0,780 *	0,240 **	0,341 **	0,326 **
8/K	0,839	0,799 **	0,804 *	0,499 **	0,517	0,567
8/T	0,660 **	0,679 **	0,601 **	0,264 **	0,395 **	0,371 **
LSD <sub>0,05</sub>		0,082			0,094	
LSD <sub>0,05</sub>		0,108			0,125	



**Tabela 6** – ETR parametar fotosinteze 4-og, 5-og i 6-og lista kukuruza gajenog 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. Mereno pri PARaktinsko=360,00±3,17  $\mu\text{mol}$  (fotona)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

**Table 6** – ETR parameter of photosynthesis of 4th and 6th leaves of 4th weeks old maize plants grown in controlled environment. Measured in actinic light of PAR=360,00±3,17  $\mu\text{mol}$  (photons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

parametar/list dan/tretman (K/T)	ETR/4	ETR/5	ETR/6
0/K	123,00	109,80	113,30
2/K	118,80	110,20	104,10
2/T	89,87 **	89,10 *	70,48 **
4/K	85,25 **	86,04 **	79,70 **
4/T	95,58 **	103,50	106,90
6/K	104,00	107,50	108,40
6/T	43,14 **	61,38 **	58,62 **
8/K	89,89 **	93,12	102,10
8/T	47,46 **	71,16 *	66,78 **
LSD <sub>0,05</sub>		16,91	
LSD <sub>0,05</sub>		22,33	



**Grafik 4.** – Promene ETR parametra fotosinteze 4-og, 5-og i 6-og lista kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  mol sulfosat) biljaka kukuruza tokom 8-dnevnog oglednog perioda. Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima (Prema Tabeli 6). K4, K5, K6, T4, T5, T6: 4-ti, 5-ti i 6-ti list kontrolnih tj. tretiranih biljaka kukuruza.

**Graph 4.** Changes of ETR parameter of photosynthesis of 4th, 5th and 6th leaf of controlled and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) maize plants during 8th days trial period. Four weeks old maize plants grown in controlled environment (According Table 6). K4, K5, K6, T4, T5, T6: 4-th, 5-th and 6-th leaf of controlled and treated maize plants.

Herbicid sulfosat tokom oglednog perioda statistički značajno umanjuje vrednost RWC parametra vodnog režima u odnosu na kontrolu (Tabela 3), a slično važi i u slučaju parametara sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata (Tabela 4, Grafik 3).

Parametri fluorescencije *Chla* i fotosinteze ( $qP$ ,  $\Phi PS_2$  i ETR) 4-og, 5-og i 6-og lista kukuruza statistički su značajno manji kod tretiranih odnosno kontrolnih biljaka, već od 2-og dana po tretmanu (Tabele 5 i 6, Grafik 4). Mada kasnije dolazi i do obrnute situacije (to možemo protumačiti kompenzatornim procesima), do kraja ogleda ponovo dolazi do inhibicije fotosinteze pod dejstvom sulfosata (Tabele 5 i 6, Grafik 4). Zapažene razlike u vrednosti parametara fotosinteze i fluorescencije *Chla* između različitih listova kukuruza nisu statistički značajne (Tabele 5 i 6, Grafik 4).

Iz prikazanih rezultata da se zaključiti da promene parametara fotosinteze (Tabela 6, Grafik 4) i fluorescencije *Chla* (Tabela 5), prethode promenama parametra RWC (Tabela 3), kao i sadržaja i odnosa fotosintetskih pigmenata (Tabela 4, Grafik 3). Na osnovu toga mišljenja smo da je funkcionalna inhibicija fotosinteze rani simptom fitotoksičnog dejstva herbicida sulfosata i prethodi promenama vodnog režima i strukturnim promenama fotosintetskog aparata, barem u ovom ogledu.

U trećem ogledu nađeno je da primenjeni sulfosat umanjuje akumulaciju suve mase (Tabela 7, Grafik 5) i usporava rastenje biljaka kukuruza ( $RGR_K = 50,92 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ;  $RGR_T = 10,23 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ). Tretiranje biljaka sulfosatom uvećava akumulaciju suve mase u stablu, na „račun“ listova (Tabela 7), što je ekvivalentno situaciji iz prvog ogleda (Tabela 1). Znači, sulfosat izaziva slične efekte, iako su vrednosti parametra RGR biljaka u ova dva ogleda vrlo različite. Ovaj herbicid inhibira porast zapremine korena, što ukazuje na inhibiciju funkcija tog organa pod njegovim dejstvom (Tabela 7).

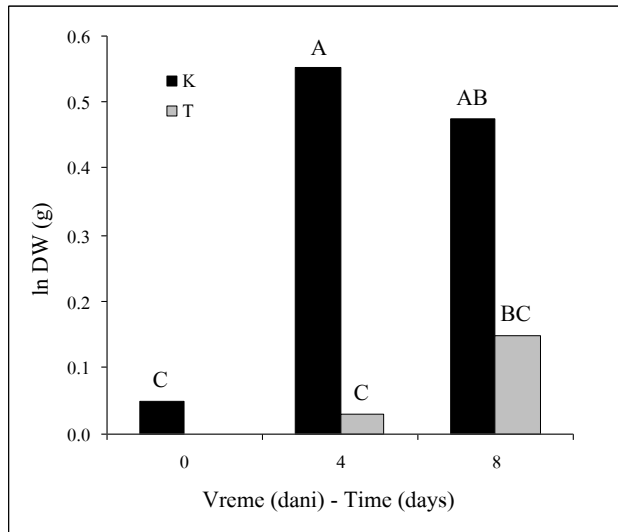
Akumulacija suve mase je u značajnoj negativnoj korelativnoj vezi sa RMR, dok je u značajno pozitivno korelisana sa LMR (Tabela 8), što je suprotno rezultatima prvog ogleda (Tabela 2). Parametar LMR je značajno negativno korelisana sa parametrima RMR i SMR (Tabela 8).

Iako vrednosti PAR aktinske svetlosti (korišćene u određivanju "svetlosnih krivi" parametara fluorescencije *Chla* i ETR parametra fotosinteze) nisu u potpunosti ekvivalentne (Tabela 9), može se zaključiti da su dobijeni rezultati (Tabele 10 i 11, Grafik 6) realni pokazatelji funkcionalnih promena fotosintetskog aparata kukuruza pod dejstvom sulfosata. Posebno zato što maksimalne vrednosti PAR ( $PAR_9$  i  $PAR_{10}$ ) odgovaraju PAR aktinske svetlosti pri kojoj glifosat inhibira fotosintezu (Shieh i sar., 1991).

**Tabela 7** – Parametri preraspodele (RMR, SMR i LMR:  $\text{gg}^{-1}$ ) i akumulacije (ln DW: g) suve mase, kao i zapremine korena (Vr:  $\text{cm}^3$ ) biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 7** – Parameters of allocation (RMR, SMR i LMR:  $\text{gg}^{-1}$ ) and acumulation (ln DW: g) of dry matter and root volume (Vr:  $\text{cm}^3$ ) of 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

parametri dan/tretman (K/T)	RMR	SMR	LMR	ln DW	Vr
0/K	0,252	0,478	0,269	0,048	2,00
4/K	0,162	0,308 **	0,531 **	0,552 **	2,12
4/T	0,193	0,308 **	0,522 **	0,030	1,25 *
8/K	0,168	0,295 **	0,538 **	0,474 *	2,20
8/T	0,176	0,358 **	0,465 **	0,148	1,17 **
LSD <sub>0,05</sub>	0,093	0,054	0,054	0,379	0,61
LSD <sub>0,05</sub>	0,127	0,073	0,073	0,517	0,83



**Grafik 5** – Akumulacija suve mase kontrolnih (K) i tretiranih (T:  $10^{-2}$  mol sulfosat) biljaka kukuruza tokom 8-dnevnog oglednog perioda. Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Graph 5** – Dry-matter accumulation of controled (K) and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) maize plants during 8th days trial period. Four weeks old maize plants grown in controled environment.

**Tabela 8** – Korelativni odnosi parametara akumulacije i preraspodele suve mase i zapremine korena biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 8** – Corelative relationship between parameters of alocation and acumulation of dry matter and root volume (Vr: cm<sup>3</sup>) of 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

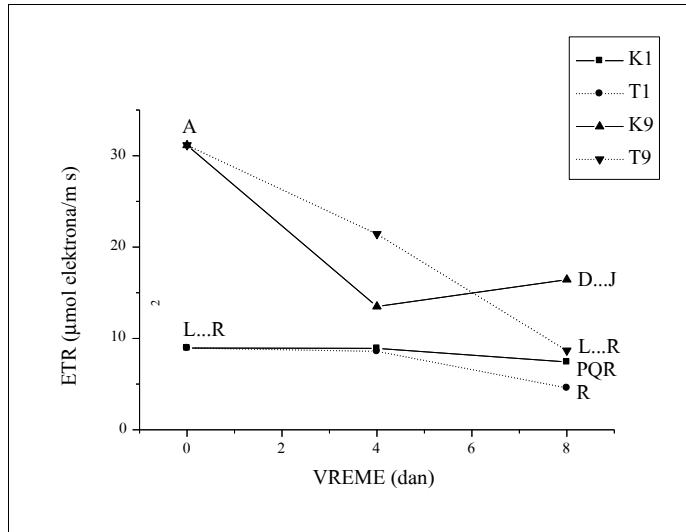
	ln DW	Vr	RMR	SMR	LMR
ln DW		0,198	-0,498**	-0,130	0,526**
Vr			0,029	0,057	-0,122
RMR				0,017	-0,591**
SMR					-0,731**
LMR					

**Tabela 9** – Aktinska svetlost (10 različitih PAR:  $\mu\text{mol}$  (fotona)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) korišćena prilikom određivanja "svetlosnih krivi" parametara fotosinteze i fluorescencije Chla. Merenja obavljena na 4-tom listu biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 9** – Actinic light of ten different PARs ( $\mu\text{mol}$  (photons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) used during determination of „light currves“ of parameters of photosynthesis and Chla fluorescence. This determinations performed on 4th leaf of 4th weeks old maize plants grown in controled environment.

dan/ tretman (K/T)	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T	LSD <sub>0,05</sub>	LSD <sub>0,01</sub>
PAR							
1	33,10	35,57	35,38	30,09	30,46		
2	45,98	49,98	49,74	42,29	42,74		
3	64,58	70,09	69,26	58,18 *	59,02		
4	90,10	98,50	98,09	82,56	83,39		
5	123,60	135,20 *	133,60	111,70 *	113,60		
6	173,00	189,70 **	188,80 **	158,60 **	160,10 *	10,84	14,32
7	198,10	216,40 **	214,30 **	178,00 **	180,90**		
8	277,10	304,10 **	304,20 **	254,60 **	256,80**		
9	404,60	406,30	404,30	335,50**	336,40**		
10	509,10	553,90 **	553,50 **	467,50 **	465,70**		

Nađeno je da se PAR i parametri fluorescencije *Chla* nalaze u značajnoj negativnoj korelativnoj vezi, dok se PAR i ETR parametar fotosinteze nalaze u pozitivnoj značajnoj ko-relaciji (Tabela 11). ETR parametar fotosinteze (u uslovima izvedenog oglada) nije u korelativnoj vezi sa merenim parametrima fluorescen-



**Grafik 6** – Promene ETR parametra fotosinteze 5-og lista kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  mol su-lfosat) biljaka kukuruza tokom 8-dnevnog oglednog perioda. Parametar ETR određivan je pri aktinskoj  $PAR_1$  i  $PAR_9$  (Saglasno Tabeli 9). Biljke rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. K1, K9, T1, T9: kontrolne, tj. tretirane biljke osvetljavane aktinskom  $PAR_1$  i  $PAR_9$ .

**Graph 6** – Changes of ETR parameter of photosynthesis of 5th leaf of controled and treated (T:  $10^{-2}$  mol sulphosate) maize plants during 8th days trial period. ETR parameter determined under actinic ligts of  $PAR_1$  and  $PAR_9$  (According Table 9). Four weeks old maize plants grown in controled environment. K1, K9, T1, T9: controled and treated maize plants irradiated with actinic light of  $PAR_1$  and  $PAR_9$ .

cije Chla, dok su oni međusobom u pozitivnoj značajnoj korelaciji (Tabela 11). Zapažamo da se parametar ETR i PAR nalaze u sigmoidnom odnosu (Tabela 10), što liči na odnos fotosintetske fiksacije  $CO_2$  i PAR. To ukazuje da se parametar ETR može koristiti za procenu ukupne fotosinteze, barem u uslovima izvedenog ogleda.

Znači, tokom goreopisanog ogleda: a) ETR, kao pokazatelj fotosinteze, opada (Tabela 10, Grafik 6) (na kraju ogleda ETR kontrolnih biljaka je oko 2 puta, a ETR tretiranih biljaka je oko 3 puta niži od nivoa ETR na početku ogleda); b) sredinom ogleda (4-ti dan) ETR tretiranih biljaka viši je od ETR kontrolnih biljaka, što ukazuje na moguće kompenzacione procese (Tabela 10, Grafik 6); c) "Svetlosna kriva" ETR pokazuje sigmoidnu zavisnost (Tabela 10) od PAR aktinske svetlosti, slično odnosu fotosintetske asimilacije  $CO_2$  i PAR.

**Tabela 10** – "Svetlosna kriva" ETR ( $\mu\text{mol}$  (elektrona)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) parametra fotosinteze. Mereno na 10 različitih PAR ( $\mu\text{mol}$  (fotona)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) na 4-tom listu biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 10** – „Light curves“ of ETR ( $\mu\text{mol}$  (electrons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) parameter of photosynthesis. Measured under the light of ten different PARs ( $\mu\text{mol}$  (photons)  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) on 4th leaf of 4th weeks old maize plants grown in controlled environment.

dan/ tretman (K/T)	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T	LSD <sub>0,05</sub>	LSD <sub>0,01</sub>
PAR							
1	8,95	8,92	8,58	7,42	4,59		
2	11,90	11,35	11,42	9,56	5,85 *		
3	15,30	13,59	13,83	12,17	6,94 **		
4	19,86	15,46	16,33	14,84	8,26 **		
5	23,15	16,79 *	17,57*	16,70 *	7,75 **		
6	26,41	16,33 **	18,46 **	17,22 **	8,06 **		
7	25,58	15,09 **	18,86 *	16,44 **	8,60 **	5,58	7,37
8	26,86	14,91 **	21,64	17,83 **	7,95 **		
9	31,14	13,49 **	21,42 **	16,44 **	8,67 **		
10	29,95	10,94 **	16,42 **	14,06 **	5,98 **		

**Tabela 11** – Korelativni odnosi intenziteta aktinske svetlosti (PAR), parametara fluorescencije Chla i ETR parametra fotosinteze merenih na 4-tom listu biljaka kukuruza gajenih 4 nedelje u kontrolisanim uslovima.

**Table 11** – Corelative relationship between PAR of actinic light, parameters of fluorescence of Chla and ETR parameter of photosynthesis measured on 4th leaf of 4th weeks old maize plants grown in controlled environment.

	PAR	qP	$\Phi$ PS II	Fv/Fm	ETR
PAR		-0,866**	-0,768**	-0,621**	0,274**
qP			0,950**	0,833**	-0,096
$\Phi$ PS II				0,939**	-0,068
Fv/Fm					0,060
ETR					

Promene funkcija kukuruza, raslog u kontrolisanim uslovima, pod dejstvom sulfosata, slične su promenama funkcija kukuruza, raslog u polju i tretiranog sulfosatom (Nikolić i sar., 2007a, b, c). Sulfosat na sličan način remeti iste fiziološke procese kod biljaka raslih u različitim uslovima.

## LITERATURA

- Amrhein, N., Deus, B., Gehrke, P. i H.C. Steinrücken (1980) The Site of the Inhibition of the Shikimate Pathway by Glyphosate. II. Interference of glyphosate with chorismate formation *in vivo* and *in vitro*. *Plant Physiology*, 66, 830-834.
- Babani, F. i H.K. Lichtenthaler (1996) Light-induced and Age-dependent Development of Chloroplasts in Etiolated Barley Leaves as Visualised by Determination of Photosynthetic Pigments, CO<sub>2</sub> Assimilation Rates and Different Kinds of Chlorophyll Fluorescence Ratios. *Journal of Plant Physiology*, 148, 555-566.
- De Groot, C.C., Marcelis, L.F.M., Van den Boogaard, R. i H. Lambers (2002) Inter-active effects of nitrogen and irradiance on growth and partitioning of dry-mass and nitrogen in young tomato plants. *Functional Plant Biology*, 11, 1319-1328.
- Farrar, J. i S. Gunn (1998) Allocation: allometry, acclimation-and alchemy? in: INHERENT VARIATION IN PLANT GROWTH. Physiological mechanisms and ecological consequences. Lambers, H., Poorter, H. and M.M.I. Van Vuuren, eds., pp. 183-198, Backhuys, Leiden, Holland.
- Geiger, D.R. i H.D. Bestman (1990) Self-Limitation of Herbicide Mobility by Phytotoxic Action. *Weed Science*, 38: 324-329.
- Geiger, D.R. i J.C. Servaites (1994) Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C<sub>3</sub> plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 235-256.
- Krall, J.P. i G.E. Edwards (1992) Relationship between photosystem II activity and CO<sub>2</sub> fixation in leaves. *Physiologia Plantarum*, 86, 180-187.
- Lambers, H., Poorter, H. i M.M.I. Van Vuuren (1998) Research on variation in plant growth-introduction. in: INHERENT VARIATION IN PLANT GROWTH. Physiological mechanisms and ecological consequences. Lambers, H., Poorter, H. and M.M.I. Van Vuuren, eds., pp. 1-4, Backhuys, Leiden, Holland.
- Lichtenthaler, H.K. (1996) Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14.
- Maxwell, K. i G. Johnson (2000) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659-668.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović V., Janjić, V. i S. Stojaković (2007) Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) by phosphonate herbicide sulphosate. 1. Root manipulation. *Acta herbologica*, Vol. 16, No. 1, 29-39.

- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović V., Janjić, V. i A. Marković (2007) Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) by phosphonate herbicide sulphosate. 2. Leaf canopy manipulation. *Acta herbologica*, Vol. **16**, No. **1**, 41-49.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović V., Janjić, V. i A. Marković (2007) Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) by phosphonate herbicide sulphosate. 3. Effect of plant age. *Acta herbologica*, Vol. **16**, No. **1**, 51-62.
- Oberhuber, W. i G.E. Edwards (1993) Temperature Dependence of the Linkage of Quantum Yield of Photosystem II to CO<sub>2</sub> fixation in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> Plants. *Plant Physiology*, 101, 507-512.
- Pons, T.L., Jordi, W. i D. Kuiper (2001) Acclimation of plants to light gradients in leaf canopies: evidence for a possible role for cytokinins transported in the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany*, 52 (360), 1563-1574.
- Poorter, H. i E. GARNIER (1996) Plant growth analysis: evaluation of experimental design and computational methods. *Journal of Experimental Botany*, 47, 1343-1351.
- Sarić, M., Kastori, R., Petrović, M., Stanković, Ž., Krstić, B. i N. Petrović (1986) *Praktikum iz fiziologije bilja*. Naučna knjiga, Beograd, Jugoslavija.
- Servaites, J.C., Tucci, M.A. i D.R. Geiger (1987) Glyphosate Effects on Carbon Assimilation, Ribulose Bisphosphate Carboxylase Activity, and Metabolite Levels in Sugar Beet Leaves. *Plant Physiology*, 85, 370-374.
- Setter, T.L. i V.H. Meler (1984) Reserve Carbohydrate in Maize Stem. [<sup>14</sup>C] glucose and [<sup>14</sup>C] sucrose uptake characteristics. *Plant Physiology*, 75, 617-622.
- Shieh, W.-J., Geiger, D.R. i J.C. Servaites (1991) Effect of N-(Phosphonomethyl) glycine on Carbon Assimilation and Metabolism during a Simulated Natural Day. *Plant Physiology*, 97, 1109-1114.
- 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: 03.12.2008.*)

(*Prihvaćeno: 26.02.2009.*)



**DIFFERENT ASPECTS OF INHIBITION OF GROWTH AND  
PHOTOSYNTHESIS BY THE PHOSPHONATE HERBICIDE  
SULPHOSATE IN MAIZE (*ZEA MAYS* L.).**

**4. INFLUENCE ON PLANTS GROWN IN CONTROLLED  
ENVIRONMENT**

BOGDAN NIKOLIĆ<sup>1</sup>, ZORAN MILIĆEVIĆ<sup>1</sup>, SANJA ĐUROVIĆ<sup>1</sup>,  
GORAN DRINIĆ<sup>2</sup>, VLADAN JOVANOVIĆ<sup>2</sup>, VASKRSIJA JANJIĆ<sup>3</sup>

Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

Maize Research Institute „Zemun-Polje“, Zemun, Belgrade

Institute for Pesticides and Environmental Protection, Zemun, Belgrade

**SUMMARY**

Effect of the herbicide sulphosate on the growth, accumulation and distribution of dry weight, photosynthesis and water regime in maize plants grown in controlled environment was investigated. The herbicide sulphosate was found to significantly lowered dry matter accumulation and slow down growth of maize plants. Dry weight accumulation, which ultimately determines growth, was found to correlate highly significantly with dry matter allocation to root and leaves, but this dependence was not unique. Under influence of sulphosate dry matter allocated from leaves to stem. That the phenomena result from a specific carbohydrate metabolism in stem of maize plants (not contain starch). The herbicide sulphosate significantly affect the status and functioning of the root and water regime of maize plants (lowered values of parameters  $V_r$  and RWC). Changes in photosynthesis and photosynthetic structures (degradation of photosynthetic pigments) under the effect of sulphosate precede changes in the water regime of leaves of maize plants. This effects must be seen as photoinhibition of photosynthesis with photooxidation of photosynthetic pigments (particularly Chl<sub>a</sub>) under sulphosate-provoked stress. „Light curves“ of different parameters of Chl<sub>a</sub> fluorescence ( $qP$ ,  $F_v/F_m$ ,  $\Phi PS_2$ ) lowered under increased actinic light. ETR parameter of photosynthesis had sigmoid dependence of PAR, like to kinetic of photosynthetic fixation of CO<sub>2</sub>. Parameters of Chl<sub>a</sub> fluorescence and photosynthesis can be used to monitor and assess the volume of functional senescence of photosynthesis in maize leaves both in the control plants and those exposed to sulphosate-caused stress.

*(Received: 03.12.2008.)*

*(Accepted: 26.02.2009.)*