

UDK: 632.95.025  
*Naučni rad – Scientific paper*

## **Uticaj fitohormona kinetina na razvoj fitotoksičnog procesa uzrokovanih fosfonatnim herbicidom sulfosatom**

Bogdan Nikolić<sup>1\*</sup>, Vladan Jovanović<sup>2</sup>, Sanja Đurović<sup>1</sup>, Zoran Milićević<sup>1</sup>,  
Vaskrsija Janjić<sup>2</sup>, Dejan Dodig<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Dražera 9, 11000 Beograd

<sup>2</sup>Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Banatska 31b, 11080 Zemun, Beograd

<sup>3</sup>Institut za kukuruz, Slobodana Bajića 1, 11080 Zemun-Polje, Zemun, Beograd

\*e-mail: bogdannik@mail2world.com

### **REZIME**

U radu se razmatra dejstvo herbicida sulfosata na rastenje, akumulaciju i preraspodelu suve mase, kao i fotosintezu biljaka kukuruza raslih u poljskim uslovima i izloženih predtretmanu fitohormonom kinetinom, radi provere eventualnog protektivnog (prema herbicidu sulfosatu) dejstva pomenutog fitohormona. Nađeno je da fitohormon kinetin ne obezbeđuje biljkama kukuruza zaštitu od dejstva herbicida sulfosata, zato što dolazi do inhibicije rastenja, akumulacije i preraspodele suve mase, kao i fotosinteze biljaka kukuruza, nezavisno od toga da li su biljke prethodno tretirane ili ne fitohormonom kinetinom. Takođe je nađeno da su Fv/Fm i R<sub>Fd</sub> parametri fluorescencije Chla dobri nedestruktivni pokazatelji fiziološkog stanja biljaka, kod kontrolnih i kod sulfosatom tretiranih biljaka kukuruza.

**Ključne reči:** *Zea mays* L., sulfosat, kinetin, preraspodela suve mase, Chla, fotosinteza, parametri fluorescencije

### **UVOD**

Pored inhibicije sekundarnog metabolizma (Amrhein et al., 1980) fosfonatni herbicidi (glifosat i sulfosat) vrlo brzo (1-2 h) po primeni inhibiraju fotosintezi i sintezu skroba (Shieh et al., 1991). U tom smislu razmatran je međuodnos fotosinteze i rastenja biljaka kukuruza izloženih herbicidu sulfosatu (Nikolić i sar., 2004 a, b; Nikolić i sar., 2005 a, b). Nađeno je da sulfosat u različitoj meri inhibira fotosintezu i rastenje kukuruza, zavisno od tzv. „proizvođač-potrošač“ odnosa u biljci (Nikolić i sar., 2004b; Nikolić i sar., 2005a). Kao objašnjenje, izneto je

nekoliko alternativnih tumačenja razvoja fitotoksičnog procesa uzrokovano ovim herbicidom. Jedno od tih tumačenja odnosi se na značaj citokininskih fitohormona u održanju fotosinteze, rastenja i tzv. „proizvođač-potrošač” odnosa u biljkama (Nikolić, 2007). Pretpostavljeno je da bi citokininski fitohormoni mogli protektivno delovati na biljku u odnosu na fitotoksično dejstvo fosfonatnih herbicida. Osnovu za takvu pretpostavku čini i nalaz Pline i saradnika (2003) da giberelinski fitohormon GA<sub>3</sub> delimično uklanja posledice fitotoksičnog dejstva glifosata na glifosat-rezistentne transgene biljke pamuka.

## MATERIJAL I METODE

Biljke kukuruza (*Zea mays* L; cv. ZPSC 704) uzgajane su 5 nedelja u poljskim uslovima tokom jula i avgusta 2005 godine. Tokom 4 dana pre početka ogleda svakodnevno je vršena aplikacija po 2 ml 10<sup>-6</sup> M vodenog rastvora kinetina (polovina biljaka, KIN „+“ biljke) ili 2 ml vode (druga polovina biljaka; KIN „-“ biljke) po biljci. Na početku ogleda jedna polovina KIN „+“ i jedna polovina KIN „-“ biljaka tretirana je sa 10<sup>-2</sup> M vodenim rastvorom sulfosata („Touchdown”, Syngenta; 480 g a.s./L); ostale biljke bile su KIN „+“ i KIN „-“ kontrola. Tokom 8 dana od početka ogleda praćeni su parametri indukcije fluorescencije hlorofila (Chla) pomoću Handy PEA fluorometra (Hansatech, UK), kao i parametar gašenja fluorescencije Chla R<sub>Fd</sub> na PAM 101/103 fluorometru (Walz, Germany). Po Lichtenthaler-u parametar RFd predstavlja pokazatelj ukupne fotosinteze (Lichtenthaler and Miehe, 1997). Pre samog merenja delovi najmlađih, potpuno formiranih listova inkubirani su 3 časa u tami. Takođe su određivani parametri akumulacije i preraspodele suve mase, kao i RWC parametar vodnog režima. Rezultati su dati kao srednje vrednosti sa standardnim devijacijama.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Primetno je da su vrednosti parametara indukcije fluorescencije Chla (F<sub>0</sub>, Fm, Fv/Fm, Fv/F<sub>0</sub>) na početku ogleda više kod KIN „+“ biljaka, kao i u slučaju parametra R<sub>Fd</sub> (tabele 1 i 2). Tokom ogleda svi parametri fluorescencije Chla opadaju, nezavisno od tretmana, ali su njihove vrednosti više kod KIN „+“ biljaka. Posebno je to izraženo kod parametra R<sub>Fd</sub>.

Na kraju ogleda, kod sulfosatom tretiranih KIN „+“ biljaka zapažamo više vrednosti (u odnosu na KIN „-“ biljke) parametara fluorescencije Chla (tabele 1 i 2). Te razlike nisu velike. Pošto kontrolne KIN „-“ biljke imaju znatno više vrednosti (u odnosu na KIN „+“ biljke) parametra R<sub>Fd</sub>, smatramo da, imajući u vidu i ostale parametre fluorescencije Chla, predtretiranje biljaka kinetinom nema značajnog uticaja na fotosintezu, niti deluje protektivno prema fitotoksičnom dejstvu herbicida sulfosata (tabele 1 i 2), barem kod kukuruza navedenog uzrasta. Izdvajamo parametre Fv/Fm i R<sub>Fd</sub> kao pogodne za detekciju promena vezanih za gore opisane i slične pojave.

**Tabela 1.** Parametri indukcije ( $F_0$ , Fm, Fv/Fm, Fv/ $F_0$ ,  $P_{index}$ , Tfm, area) i gašenja ( $R_{Fd}$ ) fluorescencije Chla kod KIN „-“ biljaka kukuruza uzrasta 5 nedelja. Na dan početka ogleda jedna polovina biljaka tretirana je  $10^{-2}$  M rastvorom sulfosata (tretirane, T biljke), a druga polovina biljaka nije tretirana (kontrolne, K biljke).

**Table 1.** Chla fluorescence parameters of induction ( $F_0$ , Fm, Fv/Fm, Fv/ $F_0$ ,  $P_{index}$ , Tfm, area) and extinction ( $R_{Fd}$ ) of the KIN “-” maize plants aged 5 weeks. Half of the plants were treated with  $10^{-2}$  M sulphosate (T plants) and the other half were control plants (K plants).

parametar	dani/tretman				
	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T
Fo (r.u.)	410,00±87,72	382,00±16,99	504,00±60,12	344,25±12,55	494,50±69,56
Fm (r.u.)	2094,75±478,31	1488,25±46,22	1317,75±229,22	1813,50±61,06	957,00±214,83
Fv/Fm	0,804±0,005	0,743±0,012	0,600±0,101	0,810±0,006	0,456±0,169
Fv/Fo	4,095±0,115	2,902±0,188	1,711±0,805	4,263±0,185	1,011±0,759
$P_{index}$	3,701±1,499	1,615±0,238	0,587±0,610	5,012±0,968	0,158±0,200
T <sub>fm</sub> (ms)	600,00±163,30	600,00±0,00	500,00±81,65	600,00±81,65	442,50±182,28
area (bms)	53125,00±3369,90	37475,00±2904,45	26275,00±9460,58	61950,00±4275,00	8000,00±5630,80
$R_{Fd}$	3,641±0,229	3,604±0,241	3,987±0,272	3,780±0,579	1,959±1,266

**Tabela 2.** Parametri indukcije ( $F_0$ , Fm, Fv/Fm, Fv/ $F_0$ ,  $P_{index}$ , Tfm, area) i gašenja ( $R_{Fd}$ ) fluorescencije Chla kod KIN „+“ biljaka kukuruza uzrasta 5 nedelja. Na dan početka ogleda jedna polovina biljaka tretirana je  $10^{-2}$  M rastvorom sulfosata (tretirane, T biljke), a druga polovina biljaka nije tretirana (kontrolne, K biljke).

**Table 2.** Chla fluorescence parameters of induction ( $F_0$ , Fm, Fv/Fm, Fv/ $F_0$ ,  $P_{index}$ , Tfm, area) and extinction ( $R_{Fd}$ ) of the KIN “+” maize plants aged 5 weeks. Half of the plants were treated with  $10^{-2}$  M sulphosate (T plants) and the other half were control plants (K plants).

parametar	dani/tretman				
	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T
Fo (r.u.)	411,75±100,75	357,75±18,37	392,25±19,16	343,90±9,50	430,25±45,11
Fm (r.u.)	2209,25±572,72	1615,75±71,02	1515,00±133,14	1805,75±74,57	999,50±438,38
Fv/Fm	0,818±0,011	0,778±0,022	0,739±0,023	0,810±0,009	0,515±0,177
Fv/Fo	4,352±0,219	3,539±0,421	2,867±0,337	4,259±0,245	1,312±1,027
$P_{index}$	3,736±1,898	3,290±0,947	2,058±0,224	4,5041±1,078	0,334±0,457
T <sub>fm</sub> (ms)	546,25±134,99	633,75±47,15	500,00±81,65	500,00±141,42	625,00±206,16
area (bms)	43150,00±5808,90	45400,00±3963,16	46200,00±3959,80	52550,00±2918,33	9300,00±206,16
$R_{Fd}$	5,910±3,022	3,871±0,384	3,500±0,417	3,550±0,497	1,8611±0,701

Tokom prve polovine ogleda zapaža se nešto veća akumulacija suve mase kod KIN „+“ biljaka, ali do kraja ogleda ta razlika se gubi (tabele 3, 4). Primećuje se stabilnost akumulacije suve mase korena kod KIN „+“ biljaka, nezavisno od tretmana, što bi mogla da bude indikacija stabilnosti koreninskih funkcija ovih biljaka. Uočavaju se i visoke vrednosti RWC parametra vodnog režima KIN „+“ biljaka tokom prve polovine ogleda (tabela 4). To ukazuje na stabilnost vodnog režima ovih biljaka, nezavisno od tretmana (tabela 4). To nije slučaj kod KIN „-“ biljaka (tabela 3). Međutim, do kraja ogleda tretman sulfosatom uslovjava drastičan pad vrednosti ovog parametra, nezavisno od toga da li su biljke predtretirane kinetinom ili ne. Na osnovu iznetog, može se zaključiti da citokininski fitohormoni ne mogu imati protektivnu

ulogu pri razvoju fitotoksičnog procesa uzrokovanih fosfonatnim herbicidima, barem pri izabranom načinu aplikacije.

**Tabela 3.** Parametri akumulacije ( $WT_T$ ; g) i preraspodele suve mase ( $WT_L$ ,  $WT_S$ ,  $WT_R$ ; g) između biljnih organa (list (L), stablo (S) i koren (R)) KIN „-“ biljaka kukuruza uzrasta 5 nedelja. Date su i vrednosti RWC (%) parametra vodnog režima najmlađeg, potpuno razvijenog (6-ti) lista tih biljaka kukuruza. Na dan početka ogleda jedna polovina biljaka tretirana je  $10^{-2}$  M rastvorom sulfosata (tretirane, T biljke), a druga polovina biljaka nije tretirana (kontrolne, K biljke).

**Table 3.** Parameters of accumulation ( $WT_T$ ; g) and partitioning of dry weight ( $WT_L$ ,  $WT_S$ ,  $WT_R$ ; g) between plant organs (leaf (L), shoot (S) and root (R)) of the KIN “-” maize plants aged 5 weeks. Also, table shows parameter of the water regime RWC (%) of the youngest, fully developed 6<sup>th</sup> leaf of maize plants. Half of the plants were treated with  $10^{-2}$  M sulphosphate (T plants) and the other half were control plants (K plants).

parametar	dani/tretman				
	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T
$WT_L$ (g)	2,46±1,21	3,64±1,39	3,44±0,79	4,93±0,79	3,55±1,38
$WT_S$ (g)	1,98±0,52	2,11±1,00	1,88±0,39	2,22±0,79	1,84±0,78
$WT_R$ (g)	0,34±0,12	0,92±0,38	0,50±0,18	0,71±0,27	0,59±0,09
$WT_T$ (g)	4,78±1,22	6,67±2,45	5,82±1,22	7,85±1,36	5,97±2,14
RWC (%)	95,42±1,68	94,08±0,58	63,06±9,16	96,35±1,51	69,76±32,86

**Tabela 4.** Parametri akumulacije ( $WT_T$ ; g) i preraspodele suve mase ( $WT_L$ ,  $WT_S$ ,  $WT_R$ ; g) između biljnih organa (list (L), stablo (S) i koren (R)) KIN „+“ biljaka kukuruza uzrasta 5 nedelja. Date su i vrednosti RWC (%) parametra vodnog režima najmlađeg, potpuno razvijenog (6-ti) lista pomenutih biljaka kukuruza. Na dan početka ogleda jedna polovina biljaka tretirana je  $10^{-2}$  M rastvorom sulfosata (tretirane, T biljke), a druga polovina biljaka nije tretirana (kontrolne, K biljke).

**Table 4.** Parameters of accumulation ( $WT_T$ ; g) and partitioning of dry weight ( $WT_L$ ,  $WT_S$ ,  $WT_R$ ; g) between plant organs (leaf (L), shoot (S) and root (R)) of the KIN “+” maize plants aged 5 weeks. Also, table shows parameter of the water regime RWC (%) of the youngest, fully developed 6<sup>th</sup> leaf of maize plants. Half of the plants were treated with  $10^{-2}$  M sulphosphate (T plants) and the other half were control plants (K plants).

parametar	dani/tretman				
	0/K	4/K	4/T	8/K	8/T
$WT_L$ (g)	3,17±0,68	4,05±0,92	3,4811,19	4,7011,04	3,45±0,89
$WT_S$ (g)	1,68±0,40	2,43±0,53	1,8010,58	2,3010,46	1,8810,56
$WT_R$ (g)	0,29±0,09	0,68±0,16	0,62±0,23	0,6810,20	0,7410,19
$WT_T$ (g)	5,14±1,06	7,1511,38	5,9011,86	7,6811,42	6,0711,50
RWC (%)	96,1111,21	94,0710,96	85,8415,55	97,9010,44	48,63±17,50

## ZAHVALNICA

Dugujemo zahvalnost rukovodstvu Instituta za poljoprivredna i tehnološka istraživanja iz Zaječara, koje nam je pozajmilo fluorometar *Handy-PEA*. Preparat herbicida «*Touchdown*» dođen je ljubaznošću g-dina Aleksandra Marinkovića (*Syngenta Srbija*, Beograd). Istraživanja predstavljena na ovom radu finansirana su iz projekata Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije TR 31018, TR 31037 i TR 31043.

## LITERATURA

- Amrhein, N., Deus, B., Gehrke, P., Steinrucken, H.C.:** 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, 1980.
- Lichtenthaler, H.K. and Miehe, J.A.:** Fluorescence imaging as a tool for plant stress. Trends in Plant Science, 2, 316-320, 1997.
- Nikolić, B., Janjić, V., Jovanović, V.:** Novi aspekti mehanizma dejstva herbicida grupe fosfonata. Acta herbologica, 13 (2), 347-358, 2004a.
- Nikolić, B., Janjić, V., Ignjatović, S., Jovanović, V.:** Source-sink manipulation in sulfosate-stressed maize (*Zea mays L.*) plants. Proceedings of the XXXIV ESNA Annual Meeting, Novi Sad, str. 478-483, 2004b.
- Nikolić, B., Janjić, V., Jovanović, V.:** Fotosinteza, preraspodela suve mase i rastenje biljaka kukuruza (*Zea mays L.*) izloženih herbicidu sulfosatu. Program i izvodi saopštenja XVI Simpozijuma drustva za fiziologiju biljaka SCg, Bajina Basta, 50-51, 2005a.
- Nikolić, B., Drinić, G., Janjić, V., Šantrić, Lj., Jovanović, V.:** Use of chlorophyll fluorescence in weed science and studies of herbicide effects. 1. Influence of different factors on sulfosate phytotoxicity. Acta herbologica, 14 (2), 57-64, 2005b.
- Nikolić, B.:** Inhibicija fotosinteze i rastenja kukuruza (*Zea mays L.*) u uslovima stresa izazvanim herbicidom sulfosatom. Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, 2007.
- Pline, W.A., Edmisten, K.L., Wilcut, J.W., Wells, R., Thomas, J.:** Glyphosate-induced reductions in pollen viability and seed set in glyphosate-resistant cotton and attempted remediation by gibberellic acid (GA3). Weed Science, 51, 19-27, 2003.
- Shieh, W.J., Geiger, D.R., Servaites, J.C.:** Effect of N-(Phosphonomethyl) glycine on Carbon Assimilation and Metabolism during Simulated Natural Day. Plant Physiology, 97, 1109-1114, 1991.

## Influence of Phytohormone Kinetin on Progress of Phytotoxic Process Induced by Phosphonate Herbicide Sulphosate

### SUMMARY

Effects of the herbicide sulphosate on growth, accumulation and distribution of dry weight and photosynthesis were investigated in maize plants grown in field conditions and previously subjected to influence of kinetin, because of potentially protective role of this phytohormone.

This phytohormone did not protect maize plants from phytotoxic action of herbicide sulphosate, because of inhibition of growth, accumulation and distribution of dry weight and also photosynthesis, irrespective of kind of pretreatment of plants (with or without kinetin). Also we concluded that Fv/Fm and R<sub>Fd</sub> parameters of Chla fluorescence are good nondestructive indicators of plant physiological status, both in control and sulphosate-treated maize plants.

**Keywords:** *Zea mays L.*, sulphosate, kinetin, dry weight distribution, Chla, fluorescence parameters

Primljen: 11.10.2011.

Odobren: 21.11.2011.