

UDK: 632.95.024

Naučni rad – Scientific paper

## Različiti aspekti inhibicije rastenja i fotosinteze kukuruza (*Zea mays* L.) uzrokovanih fosfonatnim herbicidom sulfosatom. 5. Manipulacija statusom korena biljaka raslih u kontrolisanim uslovima

Bogdan Nikolić<sup>1\*</sup>, Goran Drinić<sup>2</sup>, Sanja Stojaković<sup>1</sup>, Vladan Jovanović<sup>3</sup>,  
Ivica Đalović<sup>4</sup>, Zoran Milićević<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Institut za kukuruz, Slobodana Bajića 1, Zemun Polje, 11080 Zemun, Beograd

<sup>3</sup>Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Banatska 31b, 11080 Zemun, Beograd

<sup>4</sup>Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad

\* e-mail: bogdannik@mail2world.com

### REZIME

U radu se razmatra dejstvo herbicida sulfosata na rasteenje, akumulaciju i preraspodelu suve mase, kao i fotosintezu biljaka kukuruza raslih u kontrolisanim uslovima i izloženih manipulaciji statusa korena. Nalazi govore da rasteenje i akumulacija suve mase ne korelišu značajno sa parametrima preraspodele suve mase biljaka kukuruza, ali tip manipulacije korenom utiče na rasteenje biljaka. Nađeno je i da biljke sa ograničenjem rasteenja korena imaju niže vrednosti ETR parametra fotosinteze, nezavisno od tretmana herbicidom. Pošto je koren mesto sinteze citokinina (fitohormon esencijalan za održanje fotosintetskih struktura), pretpostavljamo da sadržaj citokinina kod biljaka kukuruza sa različitim statusom korena utiče na rasteenje i fotosintezu biljaka kukuruza, nezavisno od toga da li su ili nisu tretirane herbicidom sulfosatom.

**Ključne reči:** *Zea mays* L., sulfosat, ograničen rast korena, preraspodela suve mase, Chla, fotosinteza, fluorescencija

### UVOD

Fosfonatni herbicidi (glifosat i sulfosat) inhibiraju šikimatni biosintetski put, što je primarni način dejstva ovih herbicida (Amrhein et al., 1980). Istraživači Servaites i sar. (1987), Geiger i Bestman (1990) i Shieh i sar. (1991) su istraživali vrlo ranu (1-2 h po tretmanu) inhibiciju fotosinteze i sinteze skroba, uzrokovanu herbicidom glifosatom. Pomenuti autori smatraju

da primarna preraspodela asimilata zavisi od sudbine fosfoenol piruvata (PEP), jednog od važnih intermedijera Kalvinovog ciklusa (Geiger and Servaites, 1994). U istom radu autori navode da je PEP jedan od ranih prekursora u šikimatnom biosintetskom putu, tako da pri inhibiciji šikimatnog biosintetskog puta herbicidom glifosatom dolazi do iscrpljivanja pula PEP, a time i inhibicije Kalvinovog ciklusa, ukupne fotosinteze i sinteze skroba (Servaites et al. 1987; Shieh et al. 1991). Pri tome ne dolazi do prekida sinteze saharoze, pa se floemski eksport asimilata (i herbicida glifosata) odvija nesmetano i više dana po tretiranju biljaka (Geiger and Bestman, 1990), što doprinosi ukupnom fitotoksičnom dejstvu ovog herbicida na biljku. U ranijim našim radovima (Nikolić i sar., 2007a, 2007b, 2007c, 2007d), utvrdili smo da u raznim uslovima opisani rani poremećaj fotosinteze i sinteze skroba pri fitotoksičnom dejstvu fosfonantnih herbicida uslovljava inhibiciju rasteanja, kao i drugih fizioloških procesa kod biljaka kukuruza. Ti nalazi razmatraju se kod herbicidom sulfosatom uzrokovane inhibicije fotosinteze i rasteanja biljaka kukuruza gajenih u kontrolisanim uslovima i izloženih „proizvođač-potrošač” (source-sink) manipulacijama statusa korena.

## MATERIJAL I METODE

Biljke kukuruza (*Zea mays* L.; hyb. ZPSC 704) gajene su na glistenjaku u plastičnim saksijama ( $V=0,5L$ ) u kontrolisanim uslovima fitotronske prostorije ( $PAR_{max}=300-400 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ , fotoperiod: 14/10 h, temperatura:  $22/18\pm 4^{\circ}C$  i vlažnost:  $55/65\pm 5\%$ ). Biljke su gajene do uzrasta 5-tog skoro potpuno formiranog lista (biljke uzrasta 4 nedelje). Tri dana pre početka oglada jedna polovina biljaka je presađena u sudove zapremine  $V=3 L$  (tzv. RP biljke), a druga polovina biljaka je ostavljena u manjim sudovima,  $V=0,5 L$  (tzv. S biljke).

Na početku oglada jedna polovina biljaka (i S i RP biljaka) kukuruza je tretirana herbicidom sulfosatom (syn. glifosat-trimezijum; preparat „Touchdown”, Syngenta, UK, 480 g/L a.s., sa odgovarajućim okvašivačem) u koncentraciji od  $10^{-2} M$  (Shieh et al. 1991; Nikolić i sar., 2007a, 2007b, 2007c, 2007d). Tretman je obavljan leđnom prskalicom („Solo”, Germany), uz radni pritisak od 0,4 MPa, do potpunog kvašenja listova. Tretiranje i posttretman (do sušenja listova) su izvođeni pri slaboj svetlosti, posle čega su biljke prenošene u fitotronsku prostoriju, gde su gajene do kraja oglada (8 dana po tretmanu herbicidom sulfosatom).

PAM-fluorimetrijom (PAM 101/103 fluorometar, Walz, Effeltrich, Gemany) prati se indukcija i gašenje fluorescencije Chla (Maxwell and Johnson, 2000). Parametri gašenja fluorescencije ( $qP$ ,  $F_v/F_m$ ,  $\Phi PS II$ ), iako zametniji za određivanje, pružaju nam obilje informacija o funkciji fotosistema 2 i ukupne (u slučaju kukuruza, kao C4 biljke) (Oberhuber and Edwards, 1993; Maxwell and Johnson, 2000) fotosinteze, kako u normalnim uslovima, tako i pri izloženosti biljke nekom stresu (Lichtenthaler, 1996; Maxwell and Johnson, 2000). Merenja fluorescencije Chla vršena su na 20-25 cm od vrha najmlađeg, potpuno formiranog lista PAM 101/103 fluorometrom. Merenje intenziteta fotosintetski aktivne radijacije (PAR), radi proračuna fotosintetskog parametra ETR (Maxwell and Johnson, 2000), vršeno je „svetlomerom” (engl.:

Quantum Data Logger; LI-1000, LI-COR, Lincoln, NE, USA), na istom listu gde su sprovedena merenja fluorescencije Chla.

Po merenju parametara fluorescencije Chla, na početku, 4-tog dana i na kraju ogleđa uzimani su uzorci za analizu akumulacije i preraspodele suve mase. Ti uzorci su sušeni (na  $T=80^{\circ}\text{C}$ ) do vazdušno suvog stanja, posle čega su mereni na tehničkoj vagi. Na osnovu rezultata morfometrijske analize izračunavani su parametri rastenja definisani saglasno Poorter i Garnier (1996) i Lambers i sar. (1998). Izračunavana je RGR, tj. relativna brzina rastenja (brzina povećanja suve mase po jedinici suve mase biljke: mg/g/dan). RGR je izračunavana po formuli de Groot-ove i sar. (2002):  $1) RGR=1000 \times (\ln W(t_f) - \ln W(t_0)) / (t_f - t_0)$ , gde  $t_0$  i  $t_f$  označavaju vreme tretiranja biljke/početak ogleđa i vreme završetka ogleđa, a  $W$  srednju suhu masu biljaka u datom vremenu. Pre izračunavanja parametara rastenja vršena je ln-transformacija vrednosti (srednje) suve mase biljaka ( $W$ ), saglasno Poorter i Garnier (1996). Preraspodela suve mase u biljci izražavana je alometrijskim koeficijentima (udeone suve mase pojedinih biljnih organa prema ukupnoj suvoj masi biljke), definisanim saglasno Farrar i Gunn (1998). Ti parametri (Lambers et al., 1998) su: LMR (udeo suve mase listova u ukupnoj suvoj masi biljke: g/g), RMR (udeo suve mase korena u ukupnoj suvoj masi biljke: g/g) i SMR (udeo suve mase stabla u ukupnoj suvoj masi biljke: g/g).

Statistička obrada rezultata započeta je računanjem srednje vrednosti praćenih parametara (program M Stat C, Michigan Stat University, USA). Testiranje statističke značajnosti vršeno je analizom varijanse (isti program). Mereni parametri testirani su LSD testom za 5% i 1% prag statističke značajnosti. Statistička značajnost izražavana je i slovni i drugim simbolima (grafikon 1 i 2). Korelativnim računom (pomenuti kompjuterski program) testirane su veze parametara preraspodele i akumulacije suve mase i rastenja biljaka kukuruza, kao i parametara fluorescencije Chla i fotosinteze listova kukuruza (simboli \* i \*\* odnose se na 5%, tj. 1% prag korelativne zavisnosti odnosno početka ogleđa; tabele 1 i 2).

Skraćenice: PAR: fotosintetski aktivna radijacija; Chla: hlorofil a; ETR: brzina transporta elektrona u fotosintezi

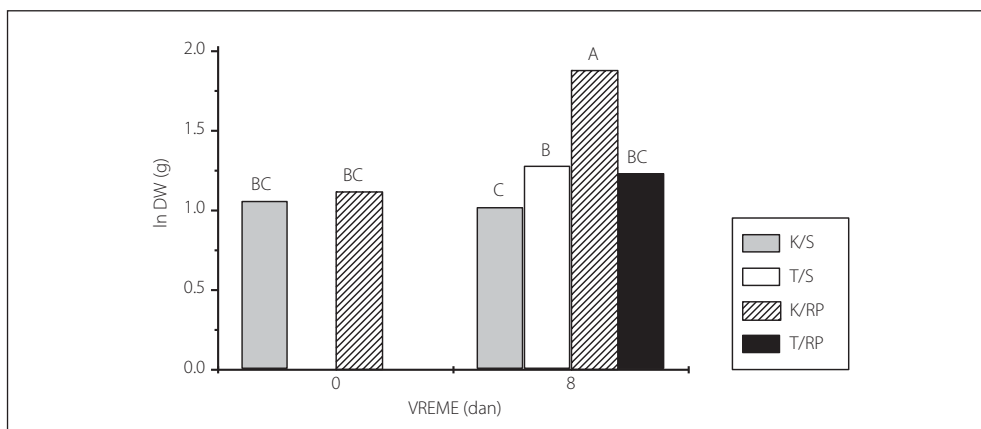
## REZULTATI I DISKUSIJA

Kod S biljaka nema promene preraspodele suve mase, nezavisno od tretmana, a nagomilavanje suve mase i rastenje praktično prestaju (grafikon 1). Tako je RGR parametar kontrolnih S biljaka praktično zanemarljiv ( $RGRK=0,50$  mg/g/d), a isti parametar relativno je mali kod sulfosatom tretiranih S biljaka kukuruza ( $RGRT=33,00$  mg/g/d).

Kod presađenih biljaka (RP biljke) nema promena u preraspodeli suve mase, nezavisno od tretmana, ali zapažamo statistički značajno nagomilavanje suve mase i rastenje kontrolnih ( $RGRK=92,25$  mg/g/d), odnosno tretiranih ( $RGRT=14,25$  mg/g/d) biljaka (grafikon 1). Nagomilavanje suve mase ( $\ln DW$ ) nije korelisano ni sa jednim parametrom preraspodele suve mase, ali je udeona suva masa korena visokoznačajno negativno korelisana sa SMR i LMR, dok su SMR i LMR međusobno negativno korelisani (tabela 1).

**Tabela 1.** Korelativni odnosi parametara akumulacije i preraspodele suve mase kod S i RP biljaka.**Table 1.** Correlations between the parameters of accumulation and partitioning of dry weight in S and RP plants.

	Ln DW	RMR	SMR	LMR
ln DW		0,119	-0,123	0,010
RMR			-0,480**	-0,613**
SMR				-0,340*
LMR				

**Grafikon 1.** Akumulacija suve mase kod kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  M sulfosat) S i RP biljaka kukuruza tokom 8-dnevnog oglednog perioda. Biljke su rasle 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. K/S, K/RP, T/S, T/RP: kontrolne, tj. tretirane S tj. RP biljke.**Figure 1.** Dry weight accumulation in control and treated ( $10^{-2}$  M sulphosate) S and RP maize plants during the 8-day trial. The plants were grown for 4 weeks under control conditions. K/S, K/RP, T/S, T/RP: control or treated, S or RP plants.

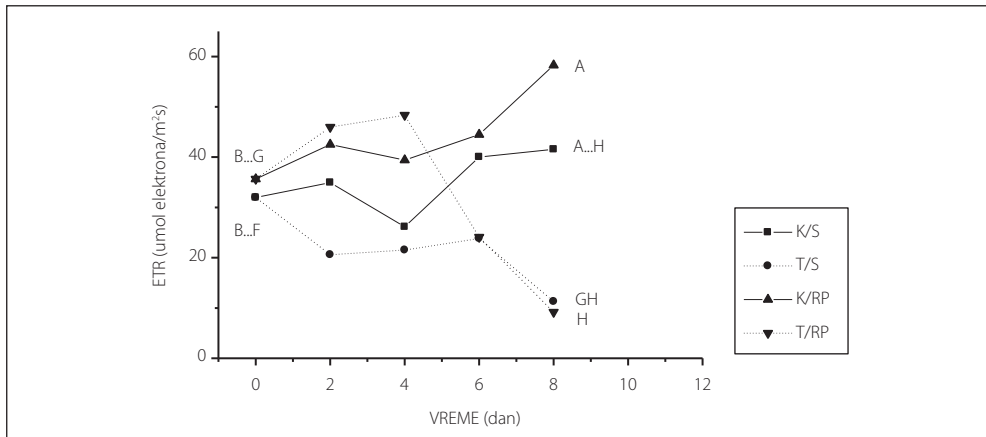
Zapažamo da parametar ETR raste kod kontrolnih, a opada kod tretiranih S biljaka, ali je tek osmog dana ogleđa ta razlika statistički značajna (grafikon 2). Kod parametara fluorescencije Chla i fotosinteze zapaža se značajno manja vrednost parametara  $\Phi$  PS II i Fv/Fm, kod tretiranih S biljaka, od drugog dana, dok se kod parametara qP i ETR, to zapaža tek osmog dana (nije prikazano).

Zapažamo i značajno manju vrednost parametara  $\Phi$  PS II i Fv/Fm, kod tretiranih RP biljaka, počev od šestog dana, a u slučaju parametara qP i ETR, to je primetno tek osmog dana ogleđa (nije prikazano). Slično S biljkama i kod RP biljaka parametar ETR raste tokom ogleđa kod kontrolnih, a opada kod tretiranih biljaka (grafikon 2). Svi parametri fluorescencije Chla i fotosinteze međusobno su visokoznačajno korelisani (tabela 2).

Kod biljaka kod kojih je manipulirano veličinom suda za gajenje, tj. statusom korena (S i RP biljke) nema promena u preraspodeli suve mase nezavisno od tretmana (nije prikazano). Kod kontrolnih S biljaka nagomilavanje suve mase i rasteње praktično prestaju tokom ogleđa, ali kod kontrolnih RP biljaka nagomilavanje suve mase i rasteње značajno je veće tokom ogleđa odnosno tretiranih RP biljaka (grafikon 1). Akumulacija i parametri preraspodele suve mase

**Tabela 2.** Korelativni odnosi parametara fluorescencije Chla i fotosinteze kod S i RP biljaka**Table 2.** Correlations between the parameters of Chla fluorescence and photosynthesis in S and RP plants

	$\Phi$ PS II	qP	Fv/Fm,	ETR
$\Phi$ PS II		0,890**	0,911**	0,946**
qP			0,782**	0,877**
Fv/Fm,				0,848**
ETR				

**Grafikon 2.** Promene ETR parametra fotosinteze 5-tog lista S i RP kontrolnih i tretiranih ( $10^{-2}$  M sulfosat) biljaka kukuruza tokom osmodnevnog oglednog perioda. Biljka raste 4 nedelje u kontrolisanim uslovima. K/S, K/RP, T/S, T/RP: kontrolne, tj. tretirane S tj. RP biljke.**Figure 2.** Change in ETR parameter of photosynthesis on the 5<sup>th</sup> leaf, S and RP, control or treated ( $10^{-2}$  M sulphosate) maize plants during the 8-day trial. The plants were grown for 4 weeks under control conditions. K/S, K/RP, T/S, T/RP: control or treated, S or RP plants

biljaka kukuruza nisu međusobno u značajnoj korelativnoj zavisnosti, a između parametara preraspodele suve mase postoji visokoznačajna negativna korelacija (tabela 1). Očigledno je da ograničenje korena vrlo značajno utiče na rasteenje i akumulaciju suve mase (grafikon 1), bez promena u preraspodeli suve mase. Znači, na rasteenje ovih biljaka utiču drugi faktori, a ne preraspodela suve mase. Koji su to faktori? Sve ukazuje na značaj statusa korena pri inhibiciji rasteenja uzrokovanog dejstvom herbicida sulfosata.

Parametri fluorescencije Chla  $\Phi$  PS II i Fv/Fm, tretiranih S i RP biljaka, počev od drugog tj. šestog dana ogleada, značajno su manji u odnosu na kontrolu, a u slučaju parametara qP i ETR tretiranih S i RP biljaka, to se zapaža tek osmog dana ogleada (nije prikazano). Parametar ETR raste kod kontrolnih, a opada kod tretiranih S i RP biljaka tokom ogleada (grafikon 2). Svi parametri fluorescencije Chla i fotosinteze međusobno su visokoznačajno korelisani (tabela 2). Poredeći vrednosti parametara fotosinteze i fluorescencije Chla kod S i RP biljaka zapažamo da su one kod kontrolnih RP biljaka tokom celog ogleada veće u odnosu na iste S biljke, dok kod tretiranih biljaka ta zakonitost važi do šestog dana ogleada (grafikon 2). Uticaj manipulacije statusom korena na vrednosti parametara fluorescencije Chla i fotosinteze kod

biljaka kukuruza možemo tumačiti tzv. kompenzacionim procesima, karakterističnim za izmenjene „proizvođač-potrošač” odnose (Fondy and Geiger, 1980, 1982). Koje su prirode ti kompenzacioni procesi ne možemo izrično tvrditi, sem što zapažamo da su vrednosti parametara fluorescencije Chla i fotosinteze viši kod biljaka sa manipulativno „favorizovanim” korenom (RP biljke, grafikon 2). Bez obzira na nedovoljnu diskriminativnost korišćenih metoda, možemo, obzirom na značaj statusa korena u reakcijama, kako kod kontrolnih, tako i herbicidom sulfosatom tretiranih biljaka, postaviti hipotezu da, pošto koren predstavlja mesto sinteze citokinina, fitohormona neophodnih za održavanje fotosintetskih struktura (Pons et al., 2001; Nešković i sar., 2003) sve navedene promene mogu imati veze sa statusom citokinina u biljkama kukuruza.

## ZAHVALNICA

Ovaj rad podržan je Projektima TR 31037, 31043 i 31073 Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije. Preparat herbicida Touchdown dobijen je ljubaznošću g-dina Aleksandra Marinkovića (Syngenta Srbija, Beograd).

## LITERATURA

- Amrhein, N., Deus, B., Gehrke, P., Steinrücken, 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.
- De Groot, C.C., Marcelis, L.F.M., Van den Boogaard, R., Lambers, H.:** 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, 2002.
- Farrar, J. and Gunn, S.:** 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., Backhuys, Leiden, Holland, 183-198, 1998.
- Fondy, B.R. and Geiger, D.R.:** Effect of Rapid Changes in Sink-Source Ratio on Export and Distribution of Products of Photosynthesis in Leaves of *Beta vulgaris* L. and *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*, 66, 945-949, 1980.
- Fondy, B.R. and Geiger, D.R.:** Diurnal patterns of translocation and carbohydrate metabolism of *Beta vulgaris* L. *Plant Physiology*, 70, 671-676, 1982.
- Geiger, D.R. and Bestman, H.D.:** Self-Limitation of Herbicide Mobility by Phytotoxic Action. *Weed Science*, 38, 324-329, 1990.
- Geiger, D.R. and Servaites, J.C.:** Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C3 plants. *Annual Revue of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44, 235-256, 1994.
- Lambers, H., Poorter, H., van Vuuren M.M.I.:** Research on variation in plant growth-introduction. In: *Inherent Variation in Plant Growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*. Lambers, H., Poorter, H. and van Vuuren, M.M.I., eds., Backhuys, Leiden, Holland, 1-4, 1998.
- Lichtenthaler, H.K.:** Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14, 1996.
- Maxwell, K. and Johnson, G.:** Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659-668, 2000.

- Nešković, M., Konjević, R., Čulafić, Lj.:** Fiziologija biljaka. NNK Internacional, Beograd, Srbija i Crna Gora, 2003.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Stojaković, S.:** 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, 2007a.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Marković, A.:** 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, 2007b.
- Nikolić, B., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Marković, A.:** 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, 2007c.
- Nikolić, B., Milićević, Z., Đurović, S., Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V.:** Različiti aspekti inhibicije rastenja i fotosinteze kukuruza (*Zea mays* L.) izazvanim fosfonatnim herbicidom sulfosatom. 4. Dejstvo na biljke rasle u kontrolisanim uslovima. Zaštita bilja 58, 259-262, 105-121, 2007d.
- Oberhuber, W. and Edwards G.E.:** Temperature Dependence of the Linkage of Quantum Yield of Photosystem II to CO<sub>2</sub> fixation in C3 and C4 Plants. Plant Physiology, 101, 507-512, 1993.
- Pons, T.L., Jordi, W., Kuiper, D.:** 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, 2001.
- Poorter, H. and Garnier, E.:** Plant growth analysis: evaluation of experimental design and computational methods. Journal of Experimental Botany, 47, 1343-1351, 1996.
- Servaites, J.C., Tucci, M.A., Geiger, D.R.:** Glyphosate Effects on Carbon Assimilation, Ribulose Biphosphate Carboxylase Activity, and Metabolite Levels in Sugar Beet Leaves. Plant Physiology, 85, 370-374, 1987.
- Shieh, W.J., Geiger, D.R., Servaites, J.C.:** Effect of N-(Phosphonomethyl) glycine on Carbon Assimilation and Metabolism during a Simulated Natural Day. Plant Physiology, 97, 1109-1114, 1991.

## Different Aspects of Inhibition of Growth and Photosynthesis by the Phosphonate Herbicide Sulphosate in Maize (*Zea mays* L.). 5. Root Manipulation of Plants Grown in Controlled Environment

### SUMMARY

Effects of the herbicide sulphosate on growth, accumulation and distribution of dry weight and photosynthesis in maize plants grown in controlled environment and subjected to source-sink manipulation at the root were studied. The findings indicate that growth and dry weight accumulation did not significantly correlate with any of the dry mass distribution parameters in those maize plants, but type of the root manipulation influenced parameters of plant growth. Also we found that plants with limited root growth has lower values of ETR parameter of photosynthesis, irrespective of herbicides treatment. As the root is place where cytokinins (plant hormones essential for maintaining photosynthetic structures) are synthesized, we assumed that content of cytokinins in the different manipulated roots influenced growth and photosynthesis of the plants irrespectively of exposition of the plants to the herbicide sulphosate.

**Keywords:** *Zea mays* L., sulphosate, limited root growth, dry weight distribution, Chla, photosynthesis, phluorescence

Primljen: 19.10.2011.

Odobren: 29.11.2011