

Rezultati ispitivanja proizvodne i upotrebe vrednosti hibrida uljane repice tolerantnih na herbicide iz grupe imidazolinona

Ana Marjanović Jeromela¹, Željko Milovac¹, Aleksandra Dimitrijević¹, Danijela Stojanović², Dragana Rajković¹, Miloš Rajković¹, Dragana Miladinović¹, Vladimir Miklić¹

¹Institut za ratarstvo i povrтарstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija

²Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije, Omladinskih brigada 1,
SIV 3, 11070 Novi Beograd, Srbija
Email: dragana.rajkovic@ifvcns.ns.ac.rs

REZIME

U proizvodnji uljane repice korovi predstavljaju jedan od ograničavajućih faktora za postizanje visokih i stabilnih prinosa. Suzbijanje širokog spektra korova omogućavaju herbicidi iz grupe imidazolinona, koji se primenjuju nakon nicanja useva i korova. Clearfield® tehnologija je bazirana na postojanju gena otpornosti prema herbicidima iz grupe imidazolinona (IMI) u gajenim biljkama. Svi hibridi uljane repice čija se otpornost bazira na genima otpornosti iz PM1 i PM2 se nazivaju Clearfield® uljana repica. U ovom radu su analizirani prinos, sadržaj ulja, eruka kiseline i glukozinolata u tri vegetacione sezone. Rađena je i ocena tolerantnosti hibrida na preporučene i duplo uvećane količine herbicida na bazi imazamoksa i metazahlora. Rezultati istraživanja su pokazali da su prosečne vrednosti prinosa ispitivanih Clearfield® hibrida bile manje u odnosu na prinos standardnih hibrida uljane repice. Ispitivani hibridi su imali nizak sadržaj glukozinolata, a sadržaj eruka kiseline je bio daleko niži od dozvoljenih 2%. Fitotoksičnost se ispoljila u vidu hloroze listova na manjem broju genotipova. S obzirom na manje prinose Clearfield® hibrida uljane repice u odnosu na standardne, setva IMI hibrida se preporučuje samo na parcelama na kojima su dominantni korovi, koji se efikasnije mogu suzbiti herbicidima na bazi imazamoksa.

Ključne reči: uljana repica, *Brassica napus*, tolerantnost, herbicidi, imidazolinoni.

UVOD

Uljana repica (*Brassica napus* L.) je najznačajniji izvor biljnog jestivog ulja u Evropi, dok je u svetu druga po značaju (<http://faostat.fao.org>). U Evropskoj uniji se u 2016. gajila na preko šest miliona hektara, a u svetu na preko 35 miliona hektara (Čurović, 2017). Ulje repice se,

osim za ljudsku ishranu koristi u industriji i za dobijanje biodizela. Seme je i izvor proteina visokog kvaliteta. Pogača i sačma uljane repice se koriste u ishrani domaćih životinja. U Srbiji površine na kojima se gaji uljana repica beleže stalni rast. U 2016. u odnosu na 2015. godinu ovaj rast je bio gotovo 122% (sa 18 000 ha na 40 000 ha) (Čurović, 2017). Međutim, to su zanemarljive površine u odnosu na suncokret i soju, jer se uljana repica gaji na tek nešto više od 1% raspoloživih obradivih površina.

Pojava izrazito visokih temperatura tokom leta, uz izraženu zemljiju i vazdušnu sušu, povećala je interesovanje poljoprivrednih proizvođača za setvu ozimih biljnih vrsta. Edukacija proizvođača, definisana tehnološka rešenja u većini kritičnih faza proizvodnje, kao i raznolikost formi i sortimenta, omogućile su razvijanje preduslova za gajenje uljane repice, što je rezultiralo povećanjem površina na kojima se ona proizvodi.

Klijanci uljane repice se sporo razvijaju i potrebno je nekoliko nedelja da bi dostigli veličinu dovoljnu za „nadjačavanje“ korova. Tako su korovi važan ograničavajući faktor u proizvodnji jare i ozime uljane repice (McVetty and Zelmer, 2007). Upotreba herbicida za suzbijanje korova u proizvodnji uljane repice je od izuzetnog značaja. Uslov za njihovo korišćenje je tolerantnost genotipova uljane repice na pojedine herbicide. Postoji nekoliko načina za kreiranje takvih genotipova. Prvi je pronalazak genotipa koji je spontano razvio otpornost na specifičan herbicid, dok drugi podrazumeva upotrebu mutagena, kao i transgenu tehnologiju. Do sada su razvijeni genotipovi uljane repice koji su tolerantni prema triazinima, glufosinat-amonijumu, glifosatu, imidazolinonima i bromoksinilu (Beversdorf et al., 1988; De Block et al., 1989; Cuthbert et al., 2001).

Clearfield® tehnologija je bazirana na postojanju gena za tolerantnost prema herbicidima iz grupe imidazolinona (IMI) u gajenim biljkama i zauzima sve značajnije mesto u savremenoj poljoprivredi. Široko je primenjena kod različitih biljnih vrsta i u svetu postoji veliki broj registrovanih IMI hibrida. Ova tehnologija je prvo razvijena na kukuruzu 1992. godine, nakon čega su razvijene i komercijalizovane tehnologije na bazi mutacija i na uljanoj repici, pšenici, pirinču, suncokretu, sočivu (Pfenning et al., 2008) kao i na crnookici (*Vigna unguiculata*) (Hu et al., 2015). Upotreba ove tehnologije olakšava suzbijanje korova u usevima čineći vreme primene herbicida mnogo fleksibilnijim.

Imidazolinoni su herbicidi inhibitori enzima acetolaktat/acetohidroksi-kisele sintetaze (ALS/AHAS) koji je odgovoran za sintezu aminokiselina valina, leucina i izoleucina. Koriste se u malim količinama posle nicanja useva i korova, povoljnih su ekotoksikoloških osobina i suzbijaju širok spektar korova (Malidža i sar., 2004; Tomlin, 2006). Imazamoks, kao jedan od herbicida iz grupe imidazolinona, dobro suzbija dominantne širokolisne i travne korove u pomenutim Clearfield usevima.

Kod uljane repice se kao izvor otpornosti prema imidazolinonima koriste dve linije PM1 (Pursuit mutant 1) i PM2 (Pursuit mutant 2), koje su razvili Swanson i sar. (1989). Ovi autori su upotreboom mutogeneze mikrospora sorte Topas identifikovali dve linije koje su pokazale viši nivo otpornosti prema imazetapiru (herbicid iz grupe imidazolinona) u odnosu na kontrolu – izvornu sortu Topas. Mutacija koja je dovela do razvijanja otpornosti prema imidazolinonima je promena jednog nukleotida u sekvenci gena koji kodiraju AHAS enzim: *BnAHAS1* kod PM1, odnosno

BnAHAS3 kod PM2 (Tan et al., 2005). Za kreiranje uljane repice otporne na imidazolinone, potrebno je uneti oba gena u isti genotip, te je otpornost kontrolisana sa dva semidominantna gena i nivo otpornosti zavisi od doze (broja alela u genotipu). Svi hibridi uljane repice čija se otpornost bazira na genima otpornosti iz PM1 i PM2 se nazivaju Clearfield® uljana repica (Tan et al., 2005).

Setva uljane repice se obavlja krajem leta, početkom jeseni i zajedno s njom niče veći broj topoljubivih korova. Ovi korovi propadaju tokom zime od niskih temperatura, ali ako su mnogobrojni, mogu da uspore početni rast i razvoj uljane repice i spreče njen optimalan razvoj za ulazak u period zimskog mirovanja. Veću opasnost predstavljaju korovi, koji će prezmeti s repicom i biti konkurencija ne samo tokom jeseni, već i u periodu intenzivnog prolećnog rasta. U oba slučaja neophodno je primeniti herbicide nakon nicanja useva. Zbog svojih prednosti sve češće se u tu svrhu koristi Clearfield® tehnologija.

Još jedna od prednosti Clearfield® sistema proizvodnje uljane repice ogleda se u mogućnosti suzbijanja parazitne cvetnice *Phelipanche ramosa*. Prisustvo *P. ramosa* na uljanoj repici je utvrđeno u: Španiji (Sobrino-Vesperinas, 1982) Francuskoj (Gibot-Leclerc et al., 2001), Bugarskoj (Shindrova and Kostov, 2009) i Grčkoj (Tsialtas and Eleftherohorinos, 2011). U Srbiji nije zabeležena pojava ove parazitske cvetnice na uljanoj repici, ali sa povećanjem površina pod uljanom repicom na jugu Srbije, kao i klimatskim promenama, moguće je očekivati pojavu *P. ramosa* i na ovoj biljnoj vrsti. Izvoz semena uljane repice u područja mediteranske klime u regionu nalaže uvođenje programa oplemenjivanja u kom će problem otpornosti biti rešavan na dva načina: 1. stvaranjem genotipova tolerantnih na *P. ramosa* i 2. stvaranjem genotipova otpornih na herbicide koji uništavaju *P. ramosa*. Ozbiljnost i potencijalnu opasnost od ovog parazita ilustruje podatak da se u pojedinim delovima Indije odustalo od gajenja slačice zbog nepostojanja rešenja za njegovo suzbijanje (Punia, 2014). Sa povećanjem površina pod usevima otpornih prema nekoj grupi herbicida, javlja se i problem suzbijanja korova koji su takođe otporni na iste herbicide, kao i transfer gena spontanim ukrštanjem gajenog, otpornog useva i korova iz iste porodice (Tan et al., 2005).

U Srbiji je uvedeno posebno testiranje hibrida tolerantnih na imidazolinone u takozvanim VCU testovima (Value for Cultivation or Use – odnosno testovi proizvodne i upotrebe vrednosti sorti Odeljenja za priznavanje sorti, Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede). IMI hibrid čije je gajenje dozvoljeno u R. Srbiji mora da ima min. 2% veći prinos ulja od IMI hibrida koji je standard za ovu grupu hibrida uljane repice, kao i da je tolerantan na dejstvo herbicida iz grupe imidazolinona.

MATERIJAL I METOD RADA

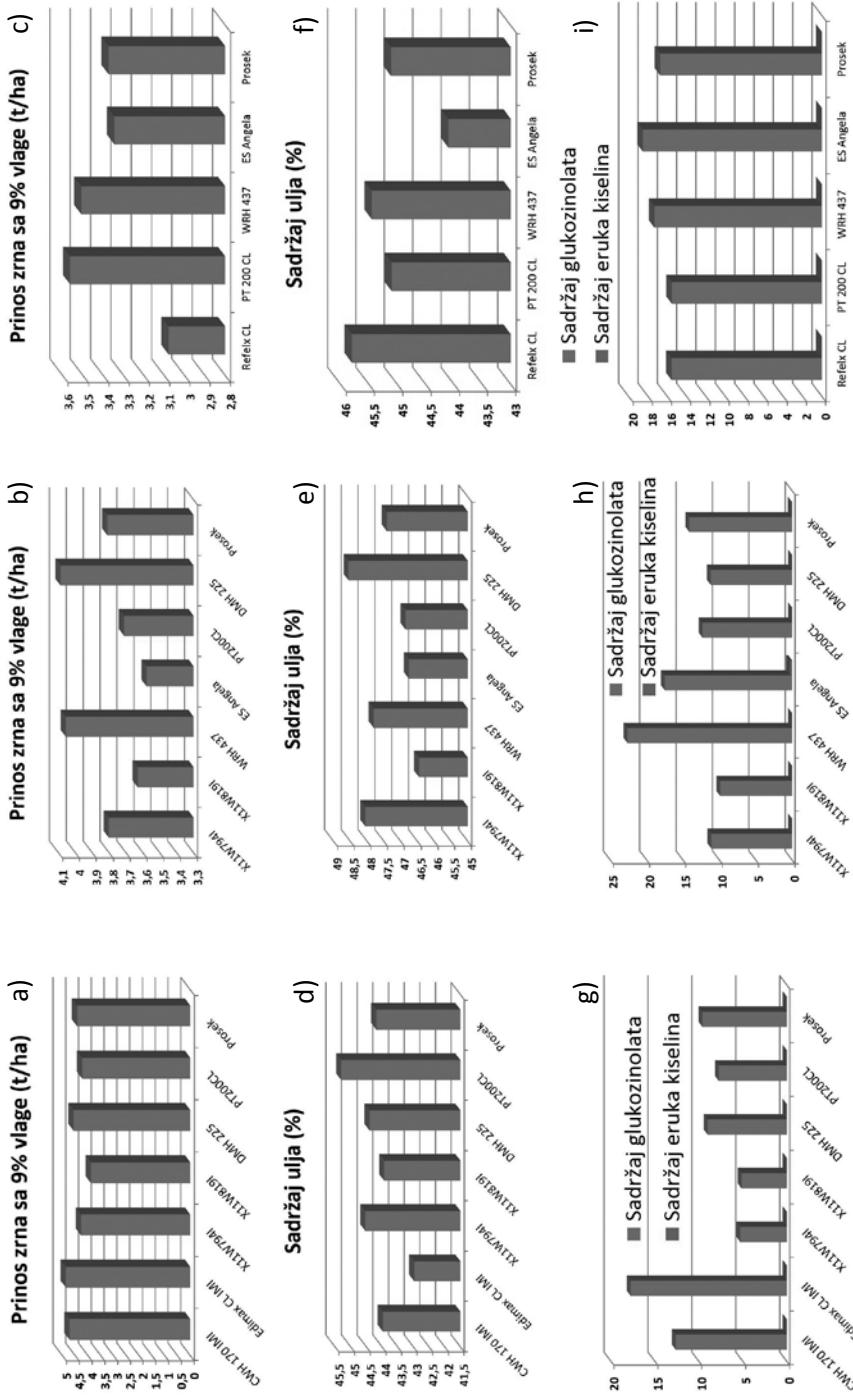
U ovom radu su predstavljeni rezultati ogleda Sortne komisije R. Srbije sa lokaliteta Rimski Šančevi (N 45.333379, E 19.834541), Sombor (N 45.750709, E 19.137817) i Pančevo (N 44.909460, E 20.703288). U testovima proizvodne i upotrebe vrednosti Clearfield® hibrida u periodu 2009-2016. godine ispitivano je redom po godinama: 1, 1, 3, 5, 6, 6, 3 i 5 hibrida, od čega je u 2012. i 2015. godini registrovano po dva, a u 2016. godini jedan hibrid. Setva je

obavljana u optimalnom roku od kraja avgusta do polovine septembra. Po metodici izvođenja ogleda koju propisuje nadležno Ministarstvo (Službeni glasnik RS, 2014) ogledi su postavljeni po potpuno slučajnom blok sistemu u četiri ponavljanja sa razmakom između redova 25 cm. Osnovne parcele su bile dužine 8 i širine 1,25 m, sa 533 000 biljaka po hektaru. Pored prinosa semena, od parametara kvaliteta analizirani su sadržaj ulja, eruka kiseline i glukozinolata u tri vegetacione sezone (2013/14, 2014/15 i 2015/16). Sadržaj ulja je određen iz uzorka mase 500 g metodom NMR (nuklearne magnetne rezonance) prema Granlund i Zimmerman (1975), dok su sadržaj glukozinolata i eruka kiseline određeni iz uzorka mase 200 g metodom MSZ-08-1908 (1989), odnosno GLC (gasno-tečnom hromatografijom). Ocena tolerантности hibrida na odgovarajuće količine primene imidazolinona rađena je vizuelno. Pored netretirane kontrole, herbicid Cleranda ($17,5 \text{ g l}^{-1}$ imazamoksa i 375 g l^{-1} metazahlora) je primenjen uz dodatak okvašivača Dash u preporučenoj količini $2 + 1 \text{ l ha}^{-1}$, kao i u dvostruko većoj od preporučene. Vreme primene herbicida bilo je u fenološkoj fazi razvoja BBCH 11-18 (od prvog do osmog razvijenog lista) (Meier, 2001). Ocene fitotoksičnosti su vršene dve nedelje nakon tretiranja prema skali od 0 (bez simptoma) do 5 (vrlo jaka oštećenja i propadanje biljaka). U periodu 2013-2016. godine hibrid PT 200CL je korišćen kao standard. Pored hibrida koji je standard i pripada Clearfield®, odnosno IMI hibridima, u ogledu je bila uključena i sorta Triangle osjetljiva na herbicide iz grupe imidazolinona kako bi se izvršila kontrola izvođenja ogleda. Žetva ogleda je bila u periodu od polovine juna do početka jula.

REZULTATI I DISKUSIJA

Prosečan prinos semena je varirao u zavisnosti od godine i hibrida i kretao se kod Clearfield® hibrida od 3,08 do 4,86 t ha^{-1} , a kod standarda od 3,56 do 4,22 t ha^{-1} (Grafik 1, a-c). Sadržaj ulja je varirao kod Clearfield® hibrida od 42,97 do 48,55%, a kod otpornog standarda od 45,1 do 46,85% (Grafik 1, d-f). Prosečne vrednosti prinosa ispitivanih Clearfield® hibrida su bile manje u odnosu na prosečan prinos standardnih hibrida uljane repice. U sezoni 2014/2015. godine ovo smanjenje je bilo statistički značajno i iznosilo je 6,73%, a u 2015/2016. godini je bilo 6,92%. Svi ispitivani hibridi su imali nizak sadržaj glukozinolata, a sadržaj eruka kiseline je bio daleko niži od dozvoljenih 2% (Grafik 1, g-i). Testirani hibridi koji su imali veći sadržaj ulja (2% više u odnosu na standard) su ispunili uslove za registraciju, odnosno podaci su dostupni u Registru priznatih sorti.

Prisustvo fitotoksičnosti registrovano je na lokalitetu Rimski Šančevi u vidu blage hloroze (ocena 1). Tokom 2009. godine fitotoksičnost je utvrđena samo na dva genotipa (kod manje od 1% biljaka) i to posle primene dvostruko veće količine preparata Cleranda od preporučene, ali bez značajnijeg uticaja na njihov dalji razvoj. Naredne 2010. godine, rezultati ocena fitotoksičnosti su bili slični, jer je ocena 1 utvrđena kod manje od 3% biljaka jednog genotipa tretiranog dvostruko uvećanom količinom preparata Cleranda. Tokom 2011. godine prisustvo hloroze je utvrđeno na tri genotipa na biljkama tretiranim preporučenom i duplo većom količinom od preporučene preparata Cleranda (2 i 4 l ha^{-1}). Najveći broj biljaka sa prisustvom



Grafik 1. Prinos semena (a, b, c) i parametri kvaliteta (d-i) ulja ujane repice dobijene analizom sa tri lokaliteta (Rimski Šančevi, Sombor, Pančevo) u ogledima proizvodne i upotrebljene vrednosti Clearfield® hibrida u Republici Srbiji u sezonama 2013/2014 (a, d, g), 2014/15 (b, e, h), 2015/16 (c, f, i).

Figure 1. Seed yield (a, b, c) and quality parameters of rapeseed oil from three locations (Rimski Šančevi, Sombor, Pančevo) in VCU tests of Clearfield® hybrids in Republic of Serbia in seasons 2013/2014 (a, d, g), 2014/15 (b, e, h), 2015/16 (c, f, i).

fitotoksičnosti je bio ocenjen ocenama 1 i 2. Naredne, 2012. godine, iako je utvrđen efekat fitotoksičnosti, ona nije bila u dovoljnoj meri izražena i nije uticala na dalji razvoj biljaka za razliku od 2013. godine, kada ni na jednom od genotipova nije utvrđena fitotoksičnost. Tokom 2014. godine fitotoksičnost je utvrđena samo na jednom genotipu i broj propalih biljaka nakon tretmana preporučenom količinom herbicida je u proseku iznosio 90-92%, a nakon tretmana sa dvostuko uvećanom količinom herbicida 98%. Ocena u 2015. godini je bila slična onoj iz prethodne godine, kada je fitotoksičnost (ocene 4 i 5) utvrđena samo na jednom genotipu, na svim biljkama, bez obzira na razliku između primenjene količine preparata Cleranda.

Potrebitno je imati u vidu i da su se u vreme primene herbicida, tj. ocene njegovih efekata posle dve nedelje od primene, temperature vazduha često spuštale i do 0°C što je bio dodatni stres za biljke, usporavajući njihov razvoj i metabolizam, koji je odgovoran za detoksifikaciju herbicida. Takođe, i vreme ocene efekata može uticati na sliku o fitotoksičnosti. Nekada biljke burno reaguju nekoliko dana nakon tretiranja dok se kasnije sasvim oporave od dejstva herbicida. Slične podatke iznose i Haukkapaa i sar. (2005) koji su u prvoj oceni, tj. jedan do sedam dana nakon tretiranja konstatovali prisustvo prolazne hloroze listova na određenom broju biljaka uljane repice.

ZAKLJUČAK

U Srbiji je registrovano pet Clearfield® hibrida uljane repice, poreklom iz različitih oplemenjivačkih centara. U ogledima proizvodnih i upotrebnih vrednosti, po prinosu ulja zadovoljavaju propisane kriterijume (2% viši u odnosu na standard svoje grupe), a po kvalitetu (nizak sadržaj eruka kiseline i glukozinolata) spadaju u „00“ tip. Prosečan prinos Clearfield® hibrida je niži u odnosu na prosečan prinos standardnih hibrida uljane repice. Ovaj rezultat navodi na zaključak da se setva IMI hibrida preporučuje na parcelama kod kojih je potrebno suzbiti korove koji se teško suzbijaju, ili se ne mogu suzbiti herbicidima u konvencionalnim hibridima koji su osetljivi na imidazolinone. Svi registrovani IMI hibridi u Republici Srbiji su ozime forme.

ZAHVALNICA

Rad je deo projekta TR31025 finansiran od strane Ministarstva za nauku, obrazovanje i tehnološki Razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

- Beversdorf, W. D., Hume, D. J., Donnelly-Vanderloo, M. J.:** Agronomic performance of triazine-resistant and susceptible reciprocal spring canola hybrids. *Crop Science*, 28, 932–934, 1988.
- Cuthbert, J. L., McVetty, P. B. E., Freyssinet, G., Freyssinet, M.:** Comparison of the performance of bromoxynil-resistant and susceptible near-isogenic populations of oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Science*, 81, 367–372, 2001.

- Čurović, O.:** Rekrodna proizvodnja i prerada uljanih kultura i njen značaj za spoljnotrgovinsku razmenu Srbije. Zbornik radova „Proizvodnja i prerada uljarica“. 58. Savetovanje industrije ulja, 18-23 jun, 2017, Herceg Novi, Crna Gora, 83-94, 2017.
- De Block, M., De Brouwer, D., Tenning, T.:** Transformation of *Brassica napus* and *Brassica oleracea* using *Agrobacterium tumefaciens* and the expression of the bar and neo genes in the transgenic plants. *Plant Physiology*, 91, 694-701, 1989.
- Gibot-Leclerc, S., Tuquet, C., Corbineau, F., Arjauré, G., Sallé, G.:** New insights on *O. ramosa* L. parasitizing oilseed rape in Western part of France. In the Proceedings of the 7th International Parasitic Weed Symposium, Nantes, A. Fer, P. Thalouarn, D. M. Joel, L. J. Musselman, C. Parker, J. A. C. Verkleij (Eds.). France, 2001, p. 45.
- Granlund, M., Zimmerman, D. C.:** Effect of drying conditions on oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds as determined by wide-line nuclear magnetic resonance (NMR). North Dakota Academy of Science Proceedings, 27, 128-132, 1975.
- Haukkapää, A., Junnila, L., Eriksson, S., Tulisalo, C., Seppänen, U.:** Efficacy of imazamox in imidazolinone-resistant spring oilseed rape in Finland. *Agricultural and Food Science*, 14, 377-388, 2005.
- Hu, M., Pu, H., Kong, L., Gao, J., Long, W., Chen, S., Zhang, J., Qi, C.:** Molecular characterization and detection of a spontaneous mutation conferring imidazolinone resistance in rapeseed and its application in hybrid rapeseed production. *Molecular Breeding*, 35, 46, 2015.
- Malidža, G., Jocić, S., Škorić, D., Orbović, B.:** Clearfield sistem proizvodnje suncokreta. Zbornik radova naučnog Instituta za ratarstvo i povrтарstvo iz Novog sada, Sveska 40, 2004.
- McVetty, P. B. E., Zelmer, C. D.:** Breeding Herbicide-Tolerant Oilseed Rape Cultivars. In: Gupta, S. R. (Ed.), *Advances in Botanical Research: Incorporating Advances in Plant Pathology*, 45, 233-270, 2007.
- Meier, U. (Ed.):** Growth stages of mono-and dicotyledonous plants, BBCH Monograph. 2nd. Edition. Federal biological research centre for agriculture and forestry. Germany, 2001.
- MSZ-08-1908:** Determination of the glucosinolate content of rapeseeds and rapeseed meals, 1989.
- Pfenning, M., Palfay, G., Guillet, T.:** The Clearfield – A new broad-spectrum post-emergence weed control system for European sunflower growers. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Special Issue XXI, 647-651, 2008.
- Punia, S. S.:** Biology and control measures of Orobanche. *Indian Journal of Weed Science*, 46 (1), 36-51, 2014.
- Registar priznatih sorti** <http://www.sorte.minpolj.gov.rs/sadrzajd/registar-priznatih-sorti> Datum prijema stranici 9.10.2018.
- Službeni glasnik RS** broj 87/14 od 22.08.2014.
- Shindrova, P., Kostov, A.:** Broomrape as a future problem for oilseed rape production in Bulgaria. In the Proceedings of the 10th World Congress on parasitic plants, D. Rubiales, J. Westwood, A. Uludang, (Eds.) Kusadasi, Turkey, 2009, p. 61.
- Sobrino-Vesperinas, E.:** *Orobanche ramosa* L., a new rapeseed parasite in southern Spain. *Cruciferae Newsletter* 7, 76-77, 1982.
- Swanson, E. B., Herrgesell, M. J., Arnoldo, M., Sippell, D. W., Wong, R. S.:** Microspore mutagenesis and selection: Canola plants with field tolerance to the imidazolinones. *Theoretical and Applied Genetics*, 78, 525-530, 1989.
- Tan, S., Evans, R. R., Dahmer, M. L., Singh, B. K., Shaner, D. L.:** Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, 61 (3), 246-257, 2005.
- Tomlin, S. (Ed.):** A world compendium. The pesticide manual. Fourteenth edition. British Crop Production Council, 2006.
- Tsialtas, J. T., Eleftherohorinos, I. G.:** First report of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*), wild mustard (*Sinapis arvensis*), and wild vetch (*Vicia spp.*) in northern Greece. *Plant Disease*, 95/10, 2011.

Cultivation and use value of rapeseed hybrids tolerant to imidazolinone herbicides

SUMMARY

In rapeseed production weeds represent one of the limiting factors for achieving high yields. Imidazolinones control wide range of weeds and are applied after the emergence of crops and weeds. Clearfield® technology is based on the existence of a resistance gene against herbicides of imidazolinone (IMI) group in cultivated plants. All rapeseed hybrids whose resistance is based on the resistance gene from PM1 and PM2 are called Clearfield® rapeseed. In this paper content of oil, erucic acid and glucosinolates were analysed during three vegetation seasons. Hybrid tolerance for recommended and double increased amounts of imazamox and metazachlor based herbicide was also graded. Average yield of tested Clearfield® hybrids was less than average yield of standard rapeseed hybrids. Investigated hybrids had low glucosinolate content, and the erucic acid content was far below the allowed 2%. Phytotoxicity was manifested in the form of leaf chlorosis on small number of genotypes. Given the smaller yields of Clearfield® rapeseed hybrids in comparison to standard hybrids, IMI hybrid sowing is recommended only on fields having dominant weeds, which can be more efficiently suppressed by herbicides based on imazamox.

Keywords: rapeseed, *Brassica napus*, herbicide, imidazolinone, tolerant.