

Uticaj simuliranih ostataka imazetapira na sadržaj ukupnih proteina u korenovima različitih gajenih biljaka

Jovanović-Radovanov Katarina
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6,
11080 Beograd-Zemun
e-mail: katarinajr@agrif.bg.ac.rs

REZIME

Imazetapir nije u prometu u zemljama Evropske Unije, ali se ne nalazi na listi zabranjenih aktivnih supstanci, te je i dalje u primeni u nekim evropskim zemljama, kao i na ostalim kontinentima. Zbog dobro proučene sudbine i ponašanja u spoljašnjoj sredini, kao i potvrđenog rizika od fitotoksičnosti veoma je pogodan kao model jedinjenje za herbicide ALS inhibitore. Primenom biotest metode u kontrolisanim uslovima ispitivana je osetljivost izabranih gajenih biljaka (kukuruz, suncokret, pšenica, šećerna repa, uljana repica i slačica) na rezidualno delovanje imazetapira. Merena je zavisnost sadržaja ukupnih proteina u korenovima test biljaka, od promene koncentracije ostataka imazetapira u zemljištu. Za izvođenje oglada pripremljena je serija uzoraka zemljišta sa tačno određenim sadržajem imazetapira i to: 240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75 i 1,875 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$ zemljišta (ppbw). Nakon zasejavanja biljke su se razvijale u kontrolisanim uslovima 14 dana, a potom su pažljivo izvađene iz sudova i korenovi su detaljno oprani pod mlazom vode. Određivanje ukupnih proteina izvedeno je preko utvrđivanja sadržaja azota u korenu biljaka destilacionom metodom. Za svaku koncentraciju urađena su po četiri ponavljanja, a ceo ogled, za svaku biljnu vrstu, ponovljen je dva puta. Za obradu podataka sadržaja ukupnih proteina u korenovima biljaka urađena je analiza varijanse, a značajnost razlika određena je Tuckey testom. Ustanovljeno je da ne postoji zavisnost promene merenog parametra sa promenom koncentracije herbicida. Kod kukuruza je utvrđeno neznatno povećanje sadržaja proteina u korenovima biljaka, slično je i sa biljkama šećerne repe, kao i slačice i uljane repice. Kod pšenice i suncokreta zapaženo je da su pojedini tretmani izazvali smanjenje sadržaja ukupnih proteina u odnosu na kontrolu (kod pšenice za koncentracije $\geq 15 \mu\text{g a.s. kg}^{-1}$, a kod suncokreta primenom nižih koncentracija $\leq 7,5 \mu\text{g a.s. kg}^{-1}$).

Ako se ovi rezultati posmatraju zajedno sa prethodno utvrđenom osetljivošću na imazetapir, može se zapaziti da se kod vrlo osetljivih biljnih vrsta ispoljava povećanje sadržaja ukupnih

proteina u tretmanima sa herbicidima u odnosu na kontrolu. Kod pšenice (najmanje osetljiva na imazetapir od ovde ispitivanih biljka) je utvrđeno smanjenje sadržaja ukupnih proteina i to pri primeni viših koncentracija herbicida.

Ključne reči: imazetapir, rezidualno delovanje, fitotoksičnost, sadržaj ukupnih protein.

UVOD

Imazetapir [(RS)-5-etil-2-(4-izopropil-4-metil-5-okso-2-imidazolin-2-il)-nikotinska kiselina] je selektivni translokacioni herbicid iz grupe imidazolinona, koji se koristi za suzbijanje velikog broja jednogodišnjih travnih i širokolisnih korova u usevu soje i drugih leguminoza, kao i u „Clearfield“ usevima (Bauer et al., 1995; Ballard et al., 1996; Darwent et al., 1997; Sikkema et al., 2005; Wehtje and Mosjidis, 2005). Iako više nije u prometu u zemljama Evropske Unije, on se ne nalazi na listi zabranjenih aktivnih supstanci, te je i dalje u primeni u nekim evropskim zemljama kao i na ostalim kontinentima. Zbog dobro proučene sudbine i ponašanja imazetapira u spoljašnjoj sredini, kao i potvrđenog rizika od fitotoksičnosti veoma je pogodan za mnoga ispitivanja i kao model jedinjenje za grupu inhibitora ALS-a.

Usvajanje imazetapira se odvija i korenom i preko listova (zavisno od vremena primene), a u biljkama se translocira i ksilemom i floemom, što rezultira nakupljanjem u meristemskim tkivima. Najkarakterističnija vidljiva promena kod biljaka osetljivih na imazetapir (i uopšte imidazolinone) jeste izraženi zastoj u porastu, pri čemu biljke mogu ostati normalno zelene i tokom dužeg vremenskog perioda. Imazetapir spada u grupu inhibitora enzima acetolaktat sintaze (ALS; odnosno acetohidroksi acid sintaze – AHAS; E.C.4.1.3.18) koji katališe prve zajedničke reakcije u biosintezi aminokiselina račvastih lanaca: valina, leucina i izoleucina. Kod biljaka koje su korenom usvojile jedinjenje ovakvog mehanizma delovanja, dolazi do zaustavljanja procesa ćelijske deobe u korenu (Rost et al., 1990, cit. po Shaner, 1991), a zatim i do inhibicije u sintezi DNK, povećanja sadržaja slobodnih aminokiselina i opadanja sadržaja rastvorljivih proteina u meristemu korena. Takođe je utvrđeno da dolazi do porasta sadržaja neutralnih šećera u lišću, što ukazuje da proces fotosinteze nije narušen, ali je narušen proces translokacije floemom, tako da ne postoji redistribucija proizvoda fotosinteze (Shaner and Reider, 1986). Narušen proces transporta proizvoda fotosinteze ima za posledicu drastičan uticaj na rast korena, s' obzirom na to da su korenovi u potpunosti zavisni od energije koju dobijaju od izdanaka. Čak je dokazano da je inhibicija rasta korena mnogo osetljivije merilo štetnog delovanja imidazolinona, nego inhibicija u porastu izdanaka (Shaner, 1991; Jovanović-Radovanov i Elezović, 2004). Takođe, utvrđeno je da imidazolinoni ispoljavaju izvesni, sekundarni, uticaj na hormonski status biljaka, jer se njihov mehanizam delovanja ispoljava u zonama rasta, koje su ujedno i mesta stvaranja i delovanja samih hormona (Shaner, 1991).

Perzistentnost imazetapira u zemljištu uslovljena je većim brojem faktora. Dosadašnja ispitivanja pokazala su da se imazetapir ne ispira u dublje slojeve zemljišta, čak ni u uslovima koji potenciraju ispiranje (VanWyk and Reinhardt, 2001). Većina ostataka se, u zavisnosti od vlažnosti zemljišta, nalazi u sloju od 10 do 20 cm, bez obzira na sistem obrade, a sa većom

akumulacijom i uniformnijom distribucijom u prvih 15 cm (Oliveira et al., 2000; Kraemer et al., 2009). Pokretljivost molekula imazetapira direktno je u vezi sa adsorptivnim potencijalom i eventualnim vezivanjem molekula herbicida za čestice zemljišta. Adsorpcija imazetapira se povećava sa smanjenjem pH zemljišta i postoji vrlo izražena pozitivna korelacija između adsorptivnosti i sadržaja gline (Stougaard et al., 1990; Oliveira et al., 1999). Dostupnost imazetapira biljkama bila je veća u zemljištu sa manjim sadržajem organske materije, a perzistentnost kraća. Međutim, na njegovu biodostupnost značajan uticaj imala je i kiselost zemljišta (ostaci herbicida su više dostupni u zemljištima sa niskim pH vrednostima) (Bresnahan et al., 2000). Imazetapir se delimično i vrlo slabo desorbuje, a intenzitet tog procesa značajno opada u funkciji vremena (Gan et al., 1994). U zemljištima sa višim pH, procesi adsorpcije su sporiji, ali je desorpcioni histerezis izraženiji, što znači da su vezani ostaci sve „rezistentniji” na desorpciju i kao takvi sa protokom vremena sve manje biodostupni (Bresnahan et al., 2000). Najizraženija ireverzibilnost adsorpcije bila je u glinovitom zemljištu (Goetz et al., 1990; Johnson and Talbert, 1996). Perzistentnost imazetapira može da varira u istom tipu zemljišta zavisno od meteoroloških uslova, pa je tako utvrđeno da je ovaj herbicid perzistentniji u suvom i hladnom, nego u toplom i vlažnom zemljištu (Goetz et al., 1990; Flint and Witt, 1997; Ayeni et al., 1998; Jourdan et al., 1998). Mikrobiološka degradacija uslovljena je količinom jedinjenja u zemljišnom rastvoru, a što je definisano osobinama zemljišta (Aichele and Penner, 2005). Novijim istraživanjima izolovano je nekoliko vrsta bakterija za koje je utvrđeno da mogu da razgrade 80-90% imazetapira (Ding et al., 2008; Zheng et al., 2009).

Činjenica da perzistentnost imazetapira značajno varira u zavisnosti od brojnih faktora, nameće kao vrlo važno pitanje osetljivost različitih useva i mogućnosti njihovog gajenja u plodoredu nakon primene ovog herbicida. Do sada su u ovakvim ispitivanjima testirane različite biljne vrste, a rezultati istraživanja ukazuju na značajne razlike u osetljivosti, kao i nedoslednost u ispoljavanju fitotoksičnosti u zavisnosti od osobina zemljišta, meteoroloških uslova u godini nakon primene, te količine i vremena primene. Nivo ispoljenih simptoma oštećenja je varirao od prolaznih, ispoljenih u ranim fazama razvoja, do značajnih gubitaka u prinosu, pa i potpunog propadanja useva (Moyer and Esau 1996; Onofri, 1996; Bell and Boutwell, 1999; Hanson and Till, 2001; Hollaway and Noy, 2001; Schmitz et al., 2001; Brighenti et al., 2002; Greenland, 2003; Grichar et al., 2004; Alister and Kogan, 2005).

Imajući u vidu da ostaci imazetapira mogu izazvati fitotoksičnost kod narednih useva u plodoredu, a polazeći od mesta i mehanizma delovanja ovog jedinjenja, cilj ovog rada bio je da se utvrdi da li se rezidualno delovanje manifestuje i na sadržaj ukupnih proteina u korenovima odabranih test biljaka, a koje se razlikuju u pogledi osetljivosti na ovu aktivnu supstancu.

MATERIJAL I METODE

Za ispitivanja je korišćeno seme odabranih gajenih biljaka: kukuruz (NS 444), suncokret (Bačvanin), šećerna repa (Lara), pšenica (Venera), uljana repica (Slavica) i bela slačica (NS Bela) dobijeno iz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu.

Za izvođenje oglada korišćen je preparat herbicida imazetapira namenjen za komercijalnu upotrebu (Pivot 100-E, 100 g a.s. L⁻¹, BASF).

U biotestu je korišćeno netretirano zemljište sa parcele eksperimentalnog polja Instituta za kukuruz „Zemun Polje“, Beograd-Zemun (Tabela 1).

Tabela 1. Osobine zemljišta korišćenog za biotest

Table 1. Properties of soil used in the biotest

Tekstura (%) / Texture (%)			Gustina / Density			
pesak/sand ukupni: 1 - 0,05 (mm)	prah/powder 0,02 - 0,002 (mm)		glina/clay <0,002 (mm)		zapreminska/ volume (g/cm ³)	specifična/ specific (g/cm ³)
3,15	60,31		36,54		1,41	2,70
Ukupna poroznost (%)	Kapacitet za vazduh (%)	Higroskopska vlaga (%)	Retencioni vodni kapacitet (%)	Vlažnost uvenuća (%)	Kapacitet pristupačne vlage (%)	Koeficijent filtracije (cm/s)
47,77	8,92	3,97	38,85	17,42	21,43	6,83x10 ⁻⁵
CaCO ₃ (%)	pH		Humus	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
	H ₂ O	KCl	(%)	(%)	(mg/100g)	(mg/100g)
3,97	8,23	7,53	2,46	0,212	4,19	21,69

Za izvođenje oglada prvo je pripremljena serija rastvora određenih koncentracija, pri čemu najveća koncentracija odgovara količini primene herbicida u polju od 120 g a.s. ha⁻¹, odnosno 1,2 L ha⁻¹ preparata, računato na dubinu zemljišta od 5 cm. Za svaku od koncentracija odmeren je uzorak prosejanog zemljišta (600 g) koji je raspoređen u tankom sloju u plastičnu kadu dimenzija 60x50 cm. Od prethodno pripremljenog rastvora pipetom je odmereno 6 ml i preneto u prskalicu za tankoslojnu hromatografiju koja je priključena na kompresor. Ovom količinom rastvora tretirano je pripremljeno zemljište, ravnomerno po celoj površini, uz konstantni pritisak od 1,2 bar-a. Na ovaj način dobijena je serija uzoraka zemljišta sa tačno određenim sadržajem imazetapira i to: 240, 120, 60, 30, 15, 7,5, 3,75 i 1,875 µg a.s. kg⁻¹ zemljišta (ppbw). Zemljište je odmah nakon primene herbicida izmešano ručno, a potom prebačeno u rotacionu mešalicu u kojoj je dodatno mešano još 7 minuta pri brzini od 60 obrtaja/minuti. Nakon homogenizacije, zemljište je raspoređivano u sudove zapremine 200 ml i zasejavano semenom određene biljne vrste. Paralelno sa ovim tretmanima pripremani su kontrolni tretmani sa netretiranim zemljištem za svaku od ispitivanih biljnih vrsta. Za svaku koncentraciju urađena su po četiri ponavljanja, a ceo ogled, za svaku biljnu vrstu, ponovljen je dva puta. Nakon zasejavanja zemljište je zalivano (do poljskog kapaciteta), a zatim su sudovi odlagani u fitotron u kome su se biljke razvijale u kontrolisanim uslovima dužine trajanja dana i noći (16^h/8^h), temperature (22°C dnevna / 18°C noćna) i intenziteta svetlosti (300 µE m⁻²s⁻¹). Tokom tog perioda biljke su redovno zalivane kako bi se održala odgovarajuća vlažnost zemljišta. Nakon 10 dana biljke su pažljivo izvađene iz sudova. Korenovi su detaljno oprani pod mlazom vode, nakon čega su odlagani u zamrzivač za dalje analize.

Određivanje ukupnih proteina izvedeno je preko utvrđivanja sadržaja azota u korenu biljaka destilacionom metodom (Musinger and Mc Kinney, 1982). Uzorci korenova biljaka stavljeni su na sušenje (75-80°C), a zatim su samleveni. Nakon toga vršeno je razaranje uzoraka dodavanjem katalizatorske smeše ($K_2SO_4:CuSO_4:Se - 10:10:2$) i 5 ml konc. H_2SO_4 . Razaranje traje 2 sata, do obezbojenja, nakon čega se hladi. Posle hlađenja vršena je destilacija (dodavanjem 25 ml 33% NaOH) u trajanju od 3-5 minuta, kako bi se oslobodio amonijak, koji se u prisustvu 25 ml 2% borne kiseline prevodi u amonijum borat. Na kraju je vršena titracija 0,05 M sumpornom kiselinom do neutralizacije nastalog amonijum borata. Uporedo je rađena i slepa proba.

Iz razlike količine sumporne kiseline koja je utrošena za neutralizaciju uzoraka, odnosno slepe probe, a u odnosu na masu uzorka i prema odgovarajućoj formuli, izračunava se % azota.

$$\% N = (\text{ml } 0,05M H_2SO_4 - \text{ml } 0,05M H_2SO_4 \text{ slepe probe}) \times 1,4 \times 100 / \text{masa uzorka (mg)}$$

Imajući u vidu da je u belančevinama sadržaj azota 16%, sadržaj sirovih proteina (%) dobija se kao proizvod: % N (u biljnom materijalu) $\times 6,25$.

Obrada podataka urađena je u SPSS statističkom paketu i to analizom varijanse, a značajnost razlika je određena korišćenjem Tuckey testa.

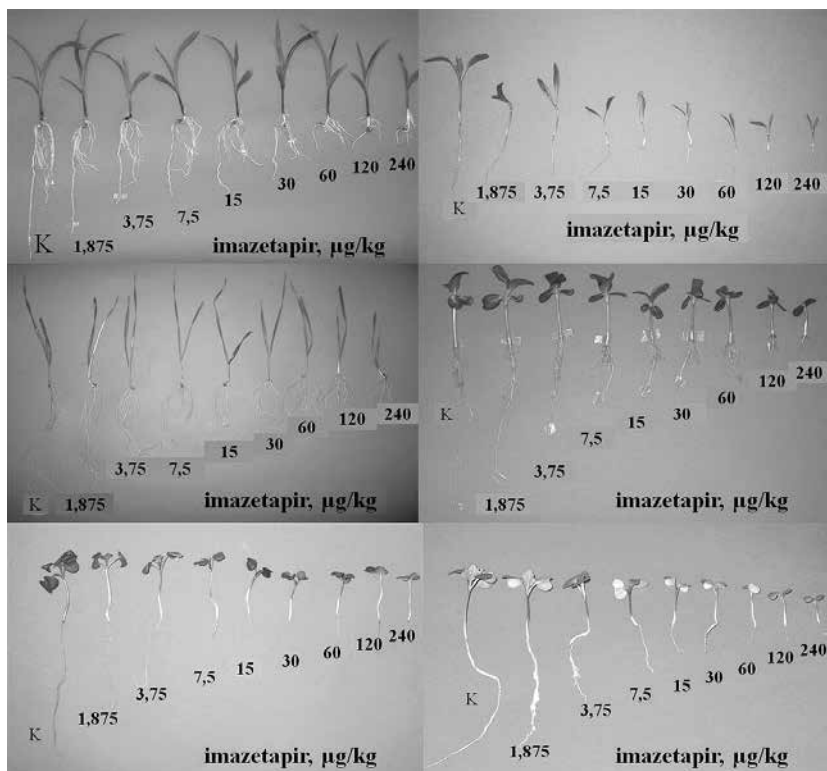
REZULTATI I DISKUSIJA

Primenom serije koncentracija imazetapira (od 1,875-240 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$ zemljišta) ispoljena je inhibicija dužine i sveže mase korena, kao i dužine izdanaka kod svih ispitivanih biljnih vrsta (Slika 1). Na osnovu ispoljenih odgovora za morfološke parametre (rezultati nisu prikazani) uočavaju se jasne razlike u njihovoj osetljivosti, na osnovu kojih se one mogu svrstati u tri kategorije sa sledećim redosledom počevši od najosetljivije: vrlo osetljive (šćerna repa > slačica > uljana repica), osetljive (kukuruz \geq suncokret) i umereno osetljive (pšenica).

Ispitivanjem korenova dobijenih biotestom u kontrolisanim uslovima na sadržaj ukupnih proteina, ustanovljeno je da ne postoji zavisnost promene merenog parametra sa promenom koncentracije herbicida (Grafik 1).

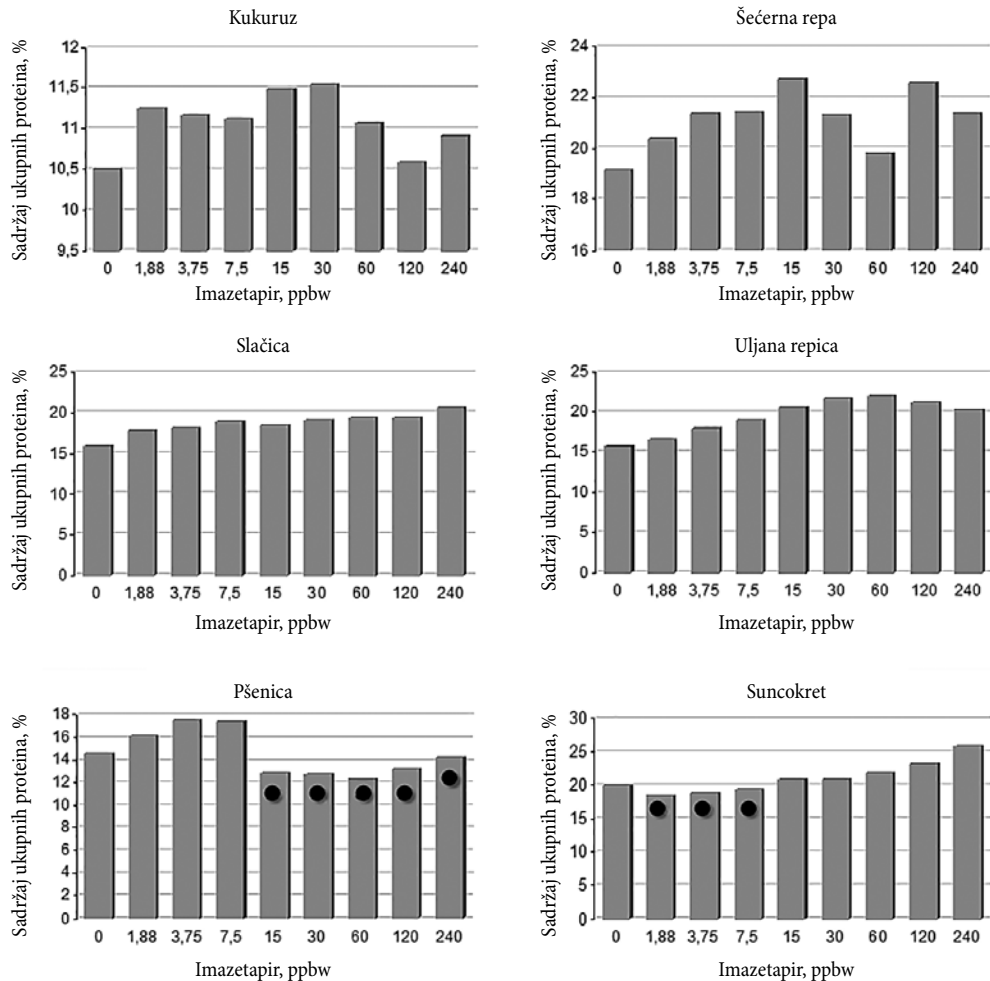
Kod većine biljnih vrsta uopšte ne dolazi do smanjenja sadržaja ukupnih proteina i pored vrlo očiglednih i izraženih morfoloških promena. Kod kukuruza je utvrđeno neznatno povećanje sadržaja proteina u korenovima biljaka (od 0,06-1,04% mg^{-1} mase korena) i te razlike nisu bile statistički značajne ($F= 1,433$ i $F= 0,952$, u prvom, odnosno drugom ponavljanju oglada za nivo značajnosti $\alpha= 0,05$). U korenovima biljaka šćerne repe, utvrđeno je povećanje sadržaja ukupnih proteina u rasponu od 0,25-3,585% /mg mase korena (u proseku za oba oglada). Analizom varijanse u prvom ogledu su utvrđene statistički značajne razlike ($F= 29,19$, $\alpha= 0,05$), a Tuckey testom je potvrđeno da su te razlike statistički značajne između kontrole i svih primenjenih tretmana. U drugom, ponovljenom ogledu, nije bilo statistički značajnih razlika ($F= 1,355$, $\alpha= 0,05$) i pored ispoljenog povećanja sadržaja proteina u primenjenim tretmanima. Kod slačice i uljane repice takođe je utvrđeno povećanje sadržaja ukupnih proteina u svim ispitivanim tretmanima u odnosu na kontrolu i to za 1,79-4,64% /mg mase korena,

odnosno 0,85-6,245% /mg mase korena, tim redom (u proseku za oba ogleda). Utvrđene razlike su bile statistički značajne u oba ponavljanja ($F= 38,369$ i $F= 156,114$, za slačicu, odnosno $F= 24,205$ i $F= 77,232$, za uljanu repicu, $\alpha= 0,05$), što je potvrđeno i Tuckey testom za isti nivo značajnosti. Samo kod pšenice i suncokreta je zapaženo da su pojedini tretmani izazvali smanjenje sadržaja ukupnih proteina u odnosu na kontrolu (kod pšenice za koncentracije od 15-240 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$, a kod suncokreta primenom nižih koncentracija: od 1,875-7,5 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$ imazetapira). Međutim, ta smanjenja od 0,27-2,14% /mg mase korena i 0,62-1,37% /mg⁻¹ mase korena, za pšenicu i suncokret tim redom, nisu bila statistički značajna. Kod pšenice je ispoljena statistički značajna razlika između kontrole i tretmana sa koncentracijama 3,75 i 7,5 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$, ali kao posledica povećanja sadržaja proteina u datim tretmanima (od 1,54-2,98% /mg⁻¹ mase korena) ($F= 10,607$ i $F= 6,404$, $\alpha= 0,05$). Značajnost razlike potvrđena je i Tuckey testom za isti nivo pouzdanosti. Kod suncokreta su statistički značajne razlike utvrđene između kontrole i dve najveće primenjene koncentracije (120 i 240 $\mu\text{g a.s. kg}^{-1}$), takođe usled povećanja sadržaja proteina u datim tretmanima (0,94-5,86% mg⁻¹ mase korena) ($F= 14,516$ i $F= 14,449$, $\alpha= 0,05$ za oba ponavljanja ogleda), što je takođe potvrđeno Tuckey testom za isti nivo pouzdanosti.



Slika 1. Uticaj simuliranih ostataka imazetapira na porast korena i izdanka ispitivanih biljnih vrsta
Figure 1. Influence of the simulated imazethapyr residues of root and shoot growth in the tested plant species

Ako se ovi rezultati posmatraju zajedno sa prethodno utvrđenom osetljivošću na imazetapir, može se zapaziti da se kod vrlo osetljivih biljnih vrsta ispoljava povećanje sadržaja ukupnih proteina u tretmanima sa herbicidima u odnosu na kontrolu. Kod kukuruza (osetljiva biljka na imazetapir) takođe se uočava povećanje sadržaja ukupnih proteina, ali neznatno, dok se kod suncokreta (koji se po prethodnoj klasifikaciji može smatrati nešto manje osetljivim) zapaža izvesno smanjenje sadržaja ukupnih proteina za određene koncentracije herbicida. Samo je kod pšenice (umereno osetljiva biljka na imazetapir) utvrđeno smanjenje sadržaja ukupnih proteina i to pri primeni viših koncentracija herbicida.



Grafik 1. Uticaj imazetapira na sadržaj ukupnih proteina u korenovima ispitivanih biljnih vrsta.

• - tretmani u kojima je utvrđeno smanjenje sadržaja ukupnih proteina

Figure 1. Influence of imazethapyr on the total protein content in roots of the tested plants

• - treatments in which a reduction of the total protein content was observed

Nakon jasno ispoljenih razlika u u pogledu dužine i sveže mase korenova tretiranih biljaka, a imajući u vidu mehanizam delovanja imazetapira, tj. činjenicu da inhibira biosintezu aminokiselina valina, leucina i izoleucina, očekivalo se da bi jedna od posledica delovanja ovog herbicida mogla biti i smanjenje sinteze i sadržaja ukupnih proteina u korenovima ispitivanih biljnih vrsta. Međutim, dobijeni rezultati su pokazali da se takvo inhibitorno delovanje imazetapira ne ispoljava, odnosno, da se u većini tretmana i kod većine biljnih vrsta konstatuje povećanje sadržaja ukupnih proteina. Shaner i Reider (1986) su ispitujući delovanje imazapira (herbicide iz grupe imidazolinona) na klijance kukuruza, utvrdili da se i pri malim koncentracijama ovog herbicida zapaža smanjenje sadržaja u vodi rastvorljivih proteina (i do 40%), ali da je istovremeno evidentno povećanje sadržaja slobodnih aminokiselina (oko 32%) tokom prvih 24 časa izloženosti test biljke herbicidu. Ovi autori su pretpostavili da biljka (endosperm) sadrži dovoljne rezerve dostupnih aminokiselina (uprkos smanjenju sadržaja tri aminokiseline čija je biosinteza inhibirana) što omogućava odvijanje procesa biosinteze proteina još izvesno vreme (produženo i pored delovanja herbicida). S obzirom na to da su u pitanju proteini drugačijeg sastava, biljka je u stanju da do izvesne kritične granice toleriše limitirani nivo određenih aminokiselina, na račun povećanja sadržaja drugih. Ovim, smatraju autori, ujedno može biti objašnjeno karakteristično sporo uginjavanje osetljivih korovskih biljaka u polju.

Ukoliko se prisustvo herbicida posmatra kao faktor stresa u odnosu na biljku (što on nesumnjivo i jeste) te ako se ima u vidu da se kod biljaka osetljivih na imazetapir ispoljavaju značajne morfološke promene u razvoju i porastu korena, kao i da su evidentne promene u potrošnji vode, može se pretpostaviti da zbog smanjenja ukupne mase korena, ove biljke usvajaju manje vode. Biljka koja usvaja manje vode, u izvesnom smislu je uporediva sa biljkom koja je izložena suši, a upravo kod takvih je konstatovana kontinuirana sinteza aminokiselina za sve vreme trajanja stresa. U ispitivanjima Barnett i Naylor (1996) utvrđena je 10-100 puta veća akumulacija slobodnog prolina, 2-6 puta veća akumulacija aspargina i u manjoj meri povećana akumulacija treonina, serina i arginina. Sadržaj ukupnih slobodnih aminokiselina bio je za 39-120% veći u uslovima umerenog stresa, odnosno 91-200% veći u uslovima jakog stresa, dok se istovremeno sadržaj u vodi rastvorljivih proteina smanjio za 33-43%, odnosno 49-60%. Ranijim istraživanjima je utvrđeno da se ove promene ne dešavaju samo u izdancima, nego i u korenovima ispitivanih biljaka, u kojima ukupna sinteza proteina ili nije narušena, ili je to u minimalnom stepenu (Singh et al., 1973). U ispitivanjima sa herbicidima iz grupe imidazolinona utvrđeno je povećanje sadržaja slobodnih aminokiselina u suspenziji čelijske kulture tkiva u prisustvu 1 μM imazapira, tokom 48 časova, i to: glicina (13 puta više), serina (8,7 puta više), fenilalanina (6,6 puta više), treonina (6,4 puta više), dok je sadržaj nekih drugih aminokiselina umanjen u manjem stepenu (tirozin, metionin, lizin, glutaminska kiselina, asparaginska kiselina, alanin) (Anderson and Hibberd, 1985). Sve ovo navodi na pretpostavku da biljni organizam ima adaptivne mehanizme na različite stresne uticaje, ali kako se delovanje herbicida odvija u dužem vremenskom periodu, ti mehanizmi samo ograničeno vreme umanjuju fitotoksično delovanje (u ovom slučaju inhibiciju biosintetskih procesa i posledice koje iz toga proizilaze).

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom istraživanju, evidentno je da je ukupan sadržaj proteina uvek bio veći u tretmanima (nezavisno od koncentracije herbicida) nego u kontroli

kod izrazito osjetljivih biljaka (šećerna repa, slačica i uljana repica), kao i kod kukuruza (osjetljiva biljka). Samo je kod suncokreta i pšenice zapaženo smanjenje sadržaja ukupnih proteina (za određene nivoe prisutnog imazetapira) i to kod suncokreta pri primeni nižih koncentracija, a kod pšenice pri primeni viših koncentracija. Ako se ima u vidu da su to dve najmanje osjetljive vrste, pri čemu je pšenica značajno manje osjetljiva od suncokreta, proizilazi da su koncentracije koje izazivaju smanjenje ukupnog sadržaja proteina ispod nivoa faktora stresa koji indukuje procese i reakcije koji imaju za posledicu povećanje sadržaja slobodnih aminokiselina, a time i proteina koje one izgrađuju.

ZAKLJUČAK

Primena serije koncentracija imazetapira, kao simuliranih nivoa ostataka u zemljištu, nije rezultirala uspostavljanjem doza-odgovor odnosa u pogledu sadržajka ukupnih proteina u korenovima ispitivanih gajenih biljaka, uprkos janso ispoljenoj zavisnosti dužine korena. Inhibicija rasta korena kao posledicu ima njegovu sve slabiju apsorptivnu aktivnost, koja indukuje odbrambene mehanizme u vidu pojačane sinteze određenih aminokiselina. Inhibitrorni efekat na sadržaj ukupnih proteina manifestuje se samo kod manje osjetljivih biljnih vrsta i primenom koncentracija koje ne izazivaju aktiviranje ovog zaštitnog mehanizma. Za neka dalja istraživanja mogla bi se uraditi analiza sadržaja aminokiselina kod biljaka različitog stepena osjetljivosti na imazetapir.

LITERATURA

- Aichele, T. M., Penner, D.:** Adsorption, desorption and degradation of imidazolinones in soil. *Weed Technology*, 19, 154-159, 2005.
- Alister, C., Kogan, M.:** Efficacy of imidazolinone herbicides applied to imidazolinone-resistant maize and their carryover on rotational crops. *Crop Protection*, 24, 375-379, 2005.
- Anderson, P. C., Hibberd, K. A.:** Evidence for the interaction of an imidazolinone herbicide with leucine, valine and isoleucine metabolism. *Weed Science*, 33, 479-483, 1985.
- Ayeni, A. O., Mayek, B. A., Hammerstedt, J.:** Rainfall influence on imazethapyr bioactivity in New Jersey soils. *Weed Science*, 46, 581-586, 1998.
- Ballard, T. O., Foley, M. E., Bauman, T. T.:** Response of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) and giant ragweed (*Ambrosia trifida*) to postemergence imazethapyr. *Weed Science*, 44, 248-251, 1996.
- Barnett, N. M., Naylor, A. W.:** Amino acid and protein metabolism in bermuda grass during water stress. *Plant Physiology*, 41, 1222-1230, 1996.
- Bauer, T. A., Renner, K. A., Penner, D.:** Response of selected weed species to postemergence imazethapyr and bentazon. *Weed Technology*, 9, 236-242, 1995.
- Bell, C. E., Boutwell, B. E.:** After 2 years imazethapyr residues have no effect on crops in Imperial Valley. *California Agriculture*, 53 (3), 36-40, 1999.
- Bresnahan, G. A., Koskinen, W. C., Dexter, A. G., Lueschen, W. E.:** Influence of soil pH-sorption interactions in imazethapyr carry-over. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 1929-1934, 2000.

- Brighenti, A. M., Moraes, J. V., de Oliveira Jr., S. R., Pisa, D. G. L., Barroso, A. L. L., Gomes, J. A.:** Persistence and phytotoxicity of herbicides applied in soybean on the sunflower in succession. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 37 (4), 559-565, 2002.
www.scielo.br/j/pab/a/zXYxwCcmnGTT3JLtcxKprSp/?lang=pt (07.11.2022.)
- Darwent, A. L., Cole, D., Malik, N.:** Imazethapyr alone or with other herbicides for weed control during alfalfa (*Medicago sativa*) establishment. *Weed Technology*, 11, 346-353, 1997.
- Ding, W., Bai, H., Cheng, Z., Qu, J. J., Xu, W. J.:** Isolation and identification of imazethapyr degradable bacteria and its degradation characteristic. *Huan Jing Ke Xue*, 29 (5), 1359-1362, 2008.
- Flint, J. L., Witt, W. W.:** Microbial degradation of imazaquin and imazethapyr. *Weed Science*, 45, 586-591, 1997.
- Gan, J. Weimer, M. R., Koskinen, W. C., Buhler, D. D., Wyse, D. L., Becker, R. L.:** Sorption and desorption of imazethapyr and 5-hydroxyimazethapyr in Minnesota soils. *Weed Science*, 42, 92-97, 1994.
- Goetz, A. J., Lavy, T. L., Gbur Jr., E. E.:** Degradation and field persistence of imazethapyr. *Weed Science*, 38, 421-428, 1990.
- Greenland, R. G.:** Injury to vegetable crops from herbicides applied in previous years. *Weed Technology*, 17, 73-78, 2003.
- Grichar, W. J., Besler, B. A., Baughman, T. A., Dotray, P. A., Lemon, R. G., Senseman, S. A.:** Cotton response to imazapic and imazethapyr residues following peanut. *The Texas Journal of Agriculture and Natural Resource*, 17, 1-8, 2004.
- Hanson, B. D., Thill, D. C.:** Effects of imazethapyr and pendimethalin on lentil (*Lens culinaris*) pea (*Pisum sativum*) and a subsequent winter wheat (*Triticum aestivum*) crop. *Weed Technology*, 15, 190-1904, 2001.
- Hollaway, K. L., Noy, D. M.:** Imazethapyr recropping recommendations for canola are suitable for Australia's neutral-alkaline soils. Australian Society of Agronomy, 2001. <http://agronomyaustraliaproceedings.org/images/sampledata/2001/6/c/hollaway.pdf> (07.11.2022.)
- Johnson, D. H., Talbert, R. E.:** Cotton (*Gossypium hirsutum*) response to imazaquin and imazethapyr soil residues. *Weed Science*, 44, 156-161, 1996.
- Jourdan, S. W., Majek, B. A., Ayeni, A. O.:** Imazethapyr bioactivity and movement in soil. *Weed Science*, 46, 608-613, 1998.
- Jovanović-Radovanov, K., Elezović, I.:** Fitotoksično delovanje imazetapira na hibride kukuruza (*Zea mays* L.) i njegova perzistentnost. *Pesticidi i fitomedicina*, 19, 111-132, 2004.
- Kraemer, A. F., Marchesan, E., Avila, L. A., Machado, S. L. O., Grohs, M., Massoni, P. F. S., Sartori, G. M. S.:** Persistence of the herbicides imazethapyr and imazapic in irrigated rice soil. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, 27 (3), 581-588, 2009.
- Moyer, L. R., Esau, R.:** Imidazolinone herbicide effects on following rotational crops in Southern Alberta. *Weed Technology*, 10, 100-106, 1996.
- Mussinger, R. A., Mc Kinney, R.:** Modern Klejdahl systems. *Am. Lab.* 14, pp. 76-79, 1982.
- Oliveira Jr., R. S., Koskinen, W. C., Ferreira, F. A.:** Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*, 41 (2), 97-110, 2001.
- Oliveira Jr., R. S., Koskinen, W. C., Ferreira, F. A., Khakural, B. R., Mulla, D. J., Robert, P. J.:** Spatial variability of imazethapyr sorption in soil. *Weed Science*, 47, 243-248, 1999.
- Onofri, A.:** Biological activity, field persistence and safe recropping intervals for imazethapyr and rimsulfuron on a silty-clay soil. *Weed Research*, 36, 73-83, 1996.
- Schmitz, G. L., Witt, W. W., Mueller, T. C.:** The effect of wheat (*Triticum aestivum*) straw levels on chlorimuron, imazaquin and imazethapyr dissipation and interception. *Weed Technology*, 15, 129-136, 2001.
- Shaner, D. L.:** Physiological effects of imidazolinone herbicides. In: *The Imidazolinone herbicides* (D. L. Shaner and S. L. O'Connor, Eds.) CRC Press, Boca Raton, Fl., pp. 129-138, 1991.
- Shaner, D. L., Reider, M. L.:** Physiological response of corn (*Zea mays*) to AC 243,997 in combination with valine, leucine and isoleucine. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 25, 248-257, 1986.

- Sikkema, P. H., Deen, W., Vyas, S.:* Weed control in pae with reduced rate of imazethapyr applied preemergence and postemergence. *Weed Technology*, 19, 14-18, 2005.
- Singh, T. N., Paleg, L. G., Aspinall, D.:* Stress metabolism I. Nitrogen metabolism and growth in the barley plant during water stress. *Australian Journal of Biological Science*, 26, 45-56, 1973.
- Stougaard, R. N., Shea, P. J., Martin, A. R.:* Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. *Weed Science*, 38, 67-73, 1990.
- VanWyk, L. J., Reinhardt, C. F.:* A bioassay technique detects imazethapyr leaching and liming-dependent activity. *Weed Technology*, 15, 1-6, 2001.
- Wehtje, G., Mosjidis, J. A.:* Weed control in *Sericea Lespedeza* with imazethapyr. *Weed Technology*, 19, 749-752, 2005.
- Zheng, Y., Xu, J., Li, S., Cao, Z.:* Selection and identification of the effective imazethapyr degradation bacteria. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2009.
http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-DBDN20096012.htm/ (07.11.2022.)

Influence of simulated imazethapyr soil residues on the whole protein content in different crops roots

SUMMARY

The bioassay conducted in controlled conditions was used to investigate the sensitivity of selected crops (maize, sunflower, wheat, sugar beet, oilseed rape and mustard) to imazethapyr carryover. The dependence of whole protein content in test plants roots was measured in regard to different imazethapyr concentrations in the soil. The rates of imazethapyr were established at 240, 120, 60, 30, 15, 7.5, 3.75 and 1.875 $\mu\text{g a.i. kg}^{-1}$ soil (ppbw). After sowing, the plants were grown in a growth chamber for 14 days and afterwards carefully removed from the pots intact, while the soil was removed from the root system by gentle and thorough washing. Whole protein contents were established based on the nitrogen content in roots using distilled method. Each treatment was performed in four replications and bioassays for each plant species were repeated twice. Statistical analysis of the whole protein content was based on ANOVA, and Tuckey test was used to determine the significant differences. There was no dependence of the whole protein content on herbicide concentration. A slight increase of the whole protein content was determined in maize roots. The same goes for sugar beet, mustard and oilseed rape. In wheat roots and sunflower roots there were a decrease in the whole protein content for some treatments in comparison to control (imazethapyr concentrations $\geq 15 \mu\text{g a.i. kg}^{-1}$ soil, for wheat and $\leq 7.5 \mu\text{g a.i. kg}^{-1}$ soil, for sunflower).

If results obtained in this study are considered together with earlier established level of sensitivity to imazethapyr, one can say that in highly sensitive species there is always an increase in the whole protein content in herbicide treatments when compared to the control. In wheat roots (the least sensitive of plant species tested here) a decrease of the whole protein content was observed and only for higher herbicide concentrations.

Keywords: imazethapyr, carryover, phytotoxicity, whole protein content.