

# Utjecaj herbicida na fotosintetsku učinkovitost soje (*Glycine max* (L.) Merr.)

---

Jurišić, Nikola

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:078096>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



**ODJEL ZA  
BIOLOGIJU**  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Nikola Jurišić

**Utjecaj herbicida na fotosintetsku učinkovitost  
soje (*Glycine max* (L.) Merr.)**

Završni rad

Osijek, 2018.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij **Biologija**

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

## UTJECAJ HERBICIDA NA FOTOSINTETSKU UČINKOVITOST

**SOJE (*Glycine max* (L.) Merr.)**

**Nikola Jurišić**

**Rad je izrađen u:** Laboratoriju za staničnu i molekularnu biologiju biljaka

**Mentor:** Dr.sc. Lidija Begović, doc.

**Komentor:** Dr.sc Selma Mlinarić, doc.

### **Kratak sažetak završnog rada:**

Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) je jedna od najznačajnijih kultura uzgajanih na području Hrvatske. Danas, u svrhu boljih prinosa i kvalitete kultura, koriste se razni kemijski preparati. U ovome radu istraživana je utjecaj komercijalnih herbicida za suzbijanje korova na fotosintetsku učinkovitost dvije sorte soje. Mjerenjem fluorescencije klorofila *a* listova soje u različitim razvojnim stadijima, dobivene su vrijednosti parametara koji opisuju fotosintetsku učinkovitost soje. Utvrđeno je kako selektivni herbicidi imaju negativan utjecaj na fotosintetsku učinkovitost soje i da su dvije sorte soje različito osjetljive na njihov utjecaj.

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** Basagran, Laguna, Harmony, fluorescencija klorofila *a*, Ika, Zora

**Rad je pohranjen:** na mrežnim stranicama Odijela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu.

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**

**Department of Biology**

**Undergraduate university study programme in Biology**

**Scientific Area:** Natural Sciences

**Scientific Field:** Biology

**EFFECT OF HERBICIDES ON PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY IN**

**SOYBEAN (*Glycine max* (L.) Merr.)**

**Nikola Jurišić**

**Thesis performed at:** Laboratory of plant cell and molecular biology

**Supervisor:** Lidija Begović, PhD, Asst. Prof.

**Cosupervisor:** Selma Mlinarić, PhD, Asst. Prof.

**Short abstract:**

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) is one of the most important crops cultivated in Croatia. Nowadays, various chemicals are used to improve yield and quality of crops. In this work, the influence of commercial herbicides for weed control on the photosynthetic efficiency of two soybean varieties was investigated. The parameters describing the photosynthetic efficiency of soybean are derived by measuring chlorophyll *a* fluorescence in soybean leaves at different development stages. It was found that the selective herbicides have a negative effect on photosynthetic performance of soybean and that the two soybean varieties showed different sensitivity to their influence.

**Original in:** Croatian

**Key words:** Basagran, Laguna, Harmony, chlorophyll *a* fluorescence, Ika, Zora

**Thesis deposited:** on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
<b>1.1. RAZVOJNI STADIJI SOJE</b>	<b>1</b>
<b>1.2. FOTOSINTEZA I FLUORESCENCIJA KLOROFILA <i>a</i></b>	<b>2</b>
<b>1.3. HERBICIDI</b>	<b>3</b>
<b>1.4. CILJ ISTRAŽIVANJA</b>	<b>4</b>
<b>2. MATERIJALI I METODE</b>	<b>5</b>
<b>2.1. BILJNI MATERIJAL</b>	<b>5</b>
<b>2.2. TRETIRANJE HERBICIDIMA</b>	<b>5</b>
<b>2.3. MJERENJE FLUORESCENCIJE KLOROFILA<math>a</math> i JIP-test</b>	<b>6</b>
<b>2.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA</b>	<b>7</b>
<b>3. REZULTATI</b>	<b>8</b>
<b>4. RASPRAVA</b>	<b>12</b>
<b>5. ZAKLJUČAK</b>	<b>15</b>
<b>6. LITERATURA</b>	<b>16</b>

## 1. UVOD

Soja (*Glycine max*(L.) Merr.) je jednogodišnja zeljasta biljka iz porodice mahunarki (*Fabaceae*). Stabljika je uspravna i razgranata te može narasti do 2 metra visine ovisno o sorti (slika 1). Jedna je od najuzgajanijih mahunarki u tropskim, subtropskim i umjerenim područjima. Bogata je proteinima i uljima koje se koriste u ljudskoj i stočnoj prehrani. Njeno sjeme sadrži više od 36% proteina, 30% ugljikohidrata i značajnu količinu vlakana, vitamina i minerala te 20% ulja što ju čini jednom od najznačajnijih poljoprivrednih kultura koje se koriste za proizvodnju uljnih produkata. Važnost soje odražava se u njenim brojnim svojstvima među kojima su i prevencija raka, pretilosti, upala, starenja kože i zarastanje rana (Lim 2012).



**Slika 1.** Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) (Web1).

### 1.1. Razvojni stadiji soje

Razvojni stadiji soje sastoje se od klijanja, vegetativnih stadija razvoja (VE-V(n)) i reproduktivnih stadija razvoja (R1-R8) (Tablica 1). Klijanje počinje nakon što sjeme soje apsorbira količinu vode jednaku polovici njegove mase. Nicanjem biljke iz zemlje započinje prvi vegetativni stadij razvoja soje. Vlažnost tla, temperatura tla i dubina na kojoj se sjeme nalazi utječu na nicanje biljke iz zemlje (5-14 dana nakon sisanja). Vegetativni stadij razvoja završava nakon što su svi listovi potpuno razvijeni nakon čega slijedi reproduktivni stadij koji započinje početkom cvjetanja. Nakon posljednjeg stadija (R8) vlažnost soje treba biti manja od 15% kako bi bila spremna za žetvu (Web2).

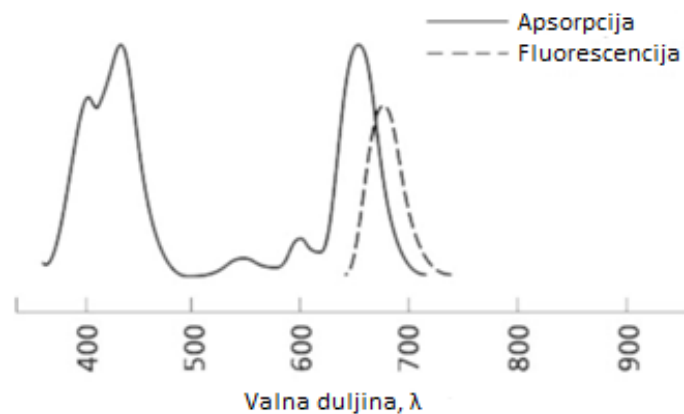
**Tablica 1.** Razvojni stadiji soje (*Glycine max* (L.) Merr.) (Preuzeto i prilagođeno s Web2).

Naziv stadija	Opći opis	Detaljan opis
<b>VE</b>	Nicanje	Nicanje biljke iz zemlje
<b>VC</b>	Kotiledon	Razvijeni prvi jednostavni listovi
<b>V1</b>	Prvi pravi list	Razvijeni prvi listovi troliske
<b>V(n)</b>	Razvoj lista	Potpuno razvijeni listovi troliske
<b>R1</b>	Početak cvjetanja	Jedan otvoreni cvijet na bilo kojem nodiju glavne stabljike
<b>R2</b>	Puna cvatnja	Otvoreni cvijet na jednom od dva najviših nodija glavne stabljike sa potpuno razvijenim listovima
<b>R3</b>	Razvoj mahuna	Početak razvoja mahune na jednom od četiri najviša nodija glavne stabljike sa potpuno razvijenim listovima
<b>R4</b>	Razvijene mahune	Mahune su dostigle 3/4 svoje veličine na jednom od četiri najviša nodija glavne stabljike sa potpuno razvijenim listovima
<b>R5</b>	Razvoj sjemena	Razvoj sjemena unutar mahuna
<b>R6</b>	Razvijeno sjeme	Mahuna sadrži zeleno sjeme koje ispunjava šupljine mahune
<b>R7</b>	Početak zrelosti	Jedna mahuna na glavnoj stabljici je dosegla zrelu smečkastu boju (boja ovisi o sorti)
<b>R8</b>	Zrelost (fiziološka zrelost)	95% mahuna je doseglo zrelu boju mahune

## 1.2. Fotosinteza i fluorescencija klorofila *a*

Fotosinteza je fiziološki proces koji se odvija u kloroplastima biljnih stanica u kojima biljka iz ugljikova dioksida i vode (anorganski spojevi) sintetizira glukozu (organski spoj). Sastoji se od primarnih reakcija (reakcije ovisne o svjetlu) koje se odvijaju u tilakoidnim membranama kloroplasta i sekundarnih reakcija (reakcije neovisne o svjetlosti) koje se odvijaju stromikloroplasta. Reakcije ovisne o svjetlu se sastoje od usklađenih, uzastopnih i serijski povezanih fotokemijskih reakcija koje su vezane za

reakcijske sustave, fotosustav II (PSII) i fotosustav I (PSI). Prilikom apsorpcije Sunčeve svjetlosti, elektron iz molekule klorofila prijeđe u pobuđeno, više energetska stanje. Molekula koja je apsorbirala foton nalazi se u nestabilnom stanju, a elektron koji se nalazi u orbitali više energije se mora vratiti nazad u orbitalu niže energije prilikom čega se dio pobudne energije predaje susjednoj molekuli, a dio će se otpusti u obliku fluorescencije (Nelson i Cox 2013). Fluorescencija je pojava kada pobuđeni elektron pri povratku u osnovno stanje oslobađa foton. Energija fluorescencije iznosi od 2-10% od ukupne apsorbirane svjetlosti i njena valna duljina je drugačija od apsorbirane. Klorofil *a* apsorbira plavu (valna duljina od 430-490 nm) i crvenu svjetlost (valna duljina od 630-760 nm), a uvijek fluorescira u crvenom dijelu spektra (Slika 2) (Denffer i Ziegler 1988).



**Slika 2.** Valne duljine koje apsorbira i fluorescira klorofil *a* (Preuzeto i prilagođeno s Web3).

### 1.3. Herbicidi

Herbicidi su kemijska sredstva za zaštitu bilja namijenjena suzbijanju i/ili zaustavljanju rasta štetnih biljaka (korova). Dijele se na selektivne i neselektivne. Selektivni herbicidi se nanose izravno na zasijane površine, a zbog svoje selektivnosti ne utječu negativno na kulturne biljke. Neselektivni herbicidi uništavaju sve biljke prilikom kontakta s njima. Prema njihovim svojstvima, neselektivne herbicide dijelimo na kontaktne i sistemične. Kontaktni herbicidi oštećuju biljne organe na mjestu dodira sa sredstvom i na



taj način uništavaju sve dijelove biljke osim korijena. Sistemični herbicidi djeluju na način tako što djelatna tvar putuje prema centrima rasta onemogućujući daljnji razvoj korova.

Basagran®480 (je kontaktni herbicid koji se koristi za suzbijanje sjemenskih širokolisnih korova (*Abutilon theophrasti* (Medik.), *Ambrosia artemisiifolia* (L.), *Amaranthus spp.*, *Polygonum spp.* i slično) i smanjenje zakorovljenosti nekih višegodišnjih širokolisnih korova u soji, lucerni, krumpiru, grašku i pšenici. Djelatna tvar je bentazon, a primjenjuje se između prve i treće troliske soje. Bentazon djeluje na način da uzrokuje inhibiciju procesa fotosinteze tako što se ugrađuje u klorofil i remeti fotosintezu (Web 4).

Laguna 75 WG je sistemični i djelomično rezidualni herbicid za suzbijanje širokolisnih i nekih travnih korova u soji. Primjenjuje se od nicanja do razvoja četvrte troliske soje (Web 5).

Harmony SX je sistemični i rezidualni herbicid za suzbijanje širokolisnih korova u soji, kukuruzu, livadama i pašnjacima. Rezidualni herbicidi su oni koji nakon primjene ostaju u tlu u aktivnom obliku određeno vrijeme. Harmony SX pomaže Laguni 75 WG u suzbijanju korova (Web 6).

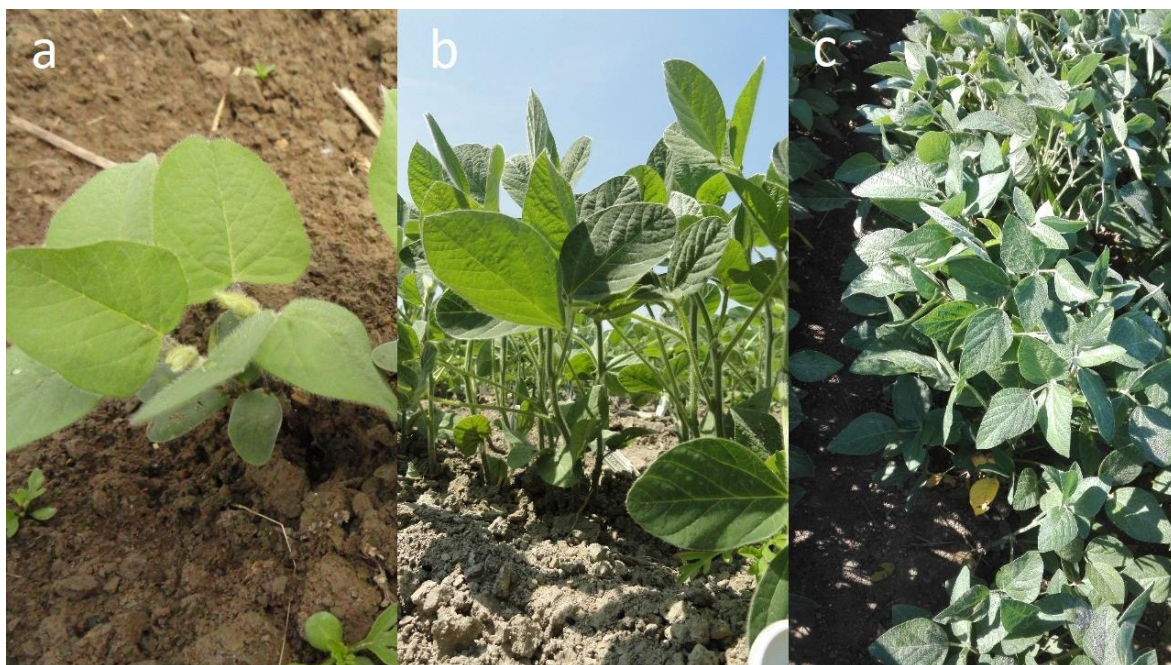
#### **1.4. Cilj istraživanja**

Cilj ovoga rada bio je istražiti djeluju li herbicidi namijenjeni suzbijanju širokolisnih korova u poljoprivrednim kulturama, i na koji način, na fotosintetsku učinkovitost dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.): Ika i Zora u različitim razvojnim stadijima. Također, cilj je bio i utvrditi postoji li razlika u osjetljivosti dviju sorti na isti tretman.

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Biljni materijal

Dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.), Zora i Ika, uzgajane su i uzorkovane na poljima u Cerni, Hrvatska (45°18'52,05"S, 18°70'84,27"E i 45°18'17,25"S, 18°72'07,53"E). Biljke su standardno tretirane herbicidima protiv korova, a dio biljaka je ostavljen netretiran te su služile kao kontrola. Tri mjerenja i uzorkovanja provela su se od svibnja do srpnja 2017. godine (15.5., 6.6., i 8.7.), desetak dana nakon tretiranja herbicidima, u fazama kotiledona (VC), razvoj listova (V3) i početak cvjetanja (R1) (Slika 3).



Slika 3. Soja u fazi a) kotiledona (VC), b) razvoj listova (V3), c) početak cvjetanja (R1)

### 2.2. Tretiranje herbicidima

U ovome istraživanju korištene su tri vrste komercijalnih herbicida: Basagran® 480, Harmony SX i Laguna 75WG. Tretiranje se vršilo tri puta. Prva dva tretiranja su izvedena sa mješavinom herbicida Laguna 75 WG i Harmony SX, dok je za treće tretiranje smjesi dodan i herbicid Basagran® 480.

### 2.3. Mjerenje fluorescencije klorofila *a* i JIP-test

Fotosintetska učinkovitost mjerena je uz pomoć Handy PEA (engl. *Plant Efficiency Analyser*) fluorimetra (Hansatech, UK). Mjerenje se izvodilo na polju, a kvačice su postavljene na listove koji su bliže vrhu biljke. Nakon što su biljke prilagođene uvjetima tame zatvaranjem poklopca na kvačici u trajanju od 30 minuta, na kvačice je pričvršćena senzorna jedinica PEA fluorimetra koji je inducirao fluorescenciju pomoću pulsa crvene saturacijske svjetlosti visokog intenziteta (maksimum 650 nm, 3000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) i izmjerene su promjene u 1 s. Navedeni intenzitet svjetlosti je dovoljan da omogući zatvaranje svih reakcijskih središta, tj. postizanje maksimalnog intenziteta fluorescencije. Dobiveni rezultati su uvršteni u JIP-test kako bi se izračunali parametri učinkovitosti fotosintetskog aparata (Tablica 2).

**Tablica 2.** Podatci i parametri OJIP-testa (Strasser i sur. 2000)

Parametar	Opis i jednadžba
$F_0$	intenzitet fluorescencije nakon 50 $\mu\text{s}$ (O stupanj)
$F_{300}$	intenzitet fluorescencije nakon 300 $\mu\text{s}$
$F_J$	intenzitet fluorescencije nakon 2ms (J stupanj)
$F_I$	intenzitet fluorescencije nakon 30ms (I stupanj)
$F_m$	maksimalni intenzitet fluorescencije (P stupanj)
<b>RC/ABS</b>	omjer koncentracije klorofila reakcijskih središta i antena klorofila; $(RC/TR_0)(TR_0/ABS)$
<b>TR<sub>0</sub>/DI<sub>0</sub></b>	omjer hvatanja ekscitona i otpuštanje energije; $F_v/F_0$
<b>ET<sub>0</sub>/(ET<sub>0</sub>-TR<sub>0</sub>)</b>	transport elektrona dalje od primarnog akceptora Q <sub>A</sub> ; $(F_m-F_J)/(F_J-F_0)$
<b>PI<sub>ABS</sub></b>	indeks fotosintetske učinkovitosti; $(RC/ABS)(TR_0/DI_0) [ET_0/(TR_0-ET_0)]$
<b>DF<sub>ABS</sub></b>	indikator pokretačkih snaga u PSII; $\log(PI_{ABS}) = \log(RC/ABS)$
<b>log<math>\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})</math></b>	doprinos uslijed gustoće reakcijskih središta po količini klorofila i/ili veličine antena PSII
<b>log<math>\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})</math></b>	doprinos svjetlosnih reakcija primarnoj fotokemiji
<b>log<math>\psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})</math></b>	doprinos reakcija neovisnih o svjetlosti, od Q <sub>A</sub> <sup>-</sup> do plastocijana (PC)
<b>SFI<sub>ABS</sub></b>	strukturno-funcionalni indeks; $(Chl_{RC}/Chl_{tot})\phi_{P_0}\psi_0 = ABS/RC \times TR_0/ABS \times ET_0/TR_0$

## 2.4 Statistička obrada podataka

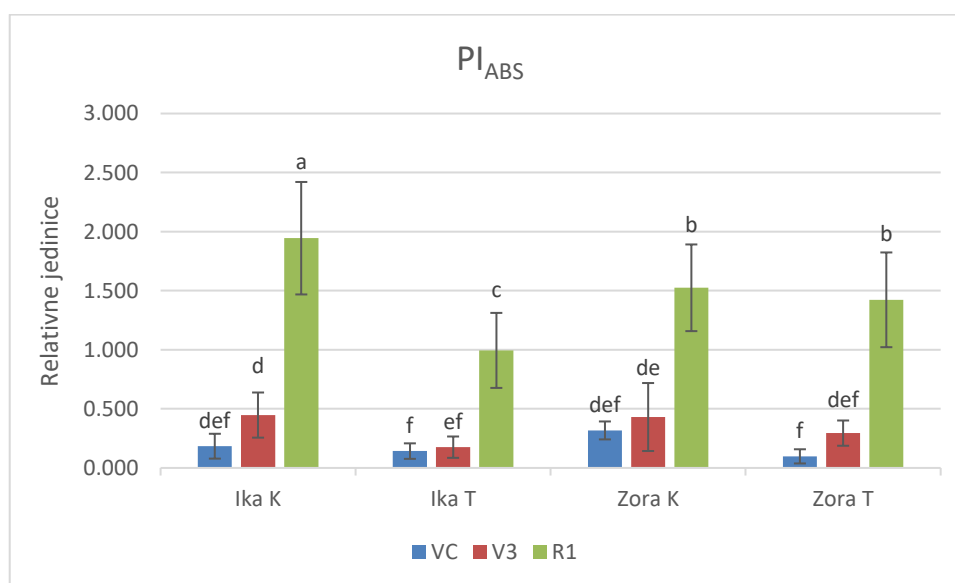
Dobiveni rezultati mjerenja fluorescencije klorofila *a* obrađeni su računalnim programom StatSoft Inc. STATISTICA version 12. Razlike između parametara izmjerenih na listovima kontrolnih i tretiranih skupina, te u različitim razvojnim fazama soje uspoređene su analizom varijance (ANOVA) nakon čega je primijenjen Tukey HSD (engl. *Honest Significant Difference*) *post hoc* test. Značajnost je utvrđena na razini  $P < 0,05$ .

### 3. REZULTATI

Kako bi saznali učinak herbicida na fotosintetsku učinkovitost soje, mjereni su parametri  $PI_{ABS}$  (indeks fotosintetske učinkovitosti),  $SPI_{ABS}$  (strukturno-funkcionalni indeks) i  $DF_{ABS}$  (engl. *driving forces* – pojedinačne pokretačke snage za  $PI_{ABS}$ ) te su na temelju dobivenih rezultata uspoređivane kontrolne i tretirane skupine.

Na grafičkom prikazu (Slika 4) prikazane su srednje vrijednosti i standardne devijacije indeksa fotosintetske učinkovitosti izmjerene na kontrolnim i tretiranim listovima dviju sorti soje: Ika i Zora. Kod sorte Ika vidljiv je značajan porast vrijednosti parametra  $PI_{ABS}$  u fazi početka cvatnje (R1). Porast  $PI_{ABS}$  značajno je veći na kontrolnim biljkama u odnosu na tretirane biljke. U VC (faza kotiledona) kontrolne i tretirane biljke nisu se značajno razlikovale dok je u V3 (faza razvoja listova) vidljiva razlika između kontrole i tretmana kod sorte Ika.

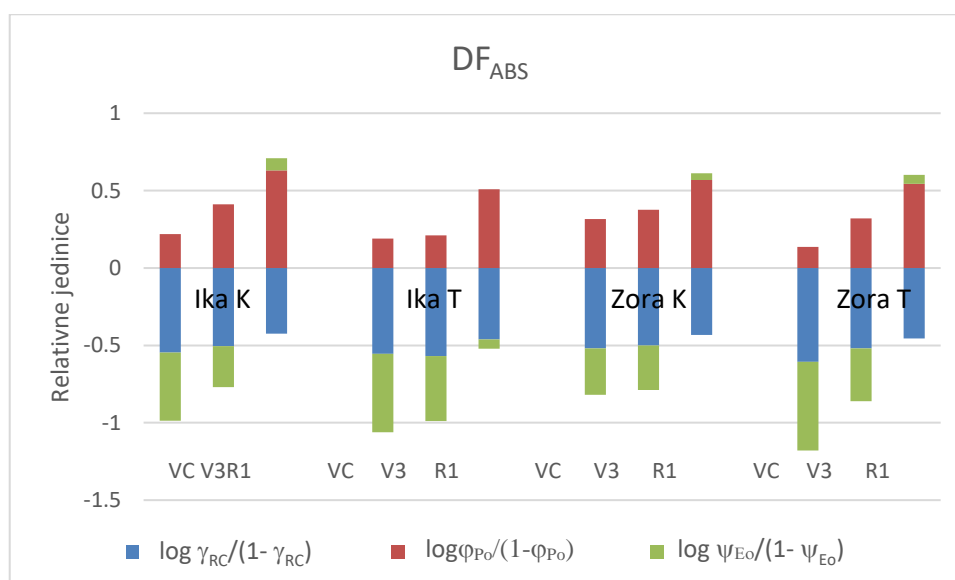
Sorta Zora također je pokazala značajan porast  $PI_{ABS}$  u fazi R1 u odnosu na dvije prethodne faze u obje skupine za razlikuvrijednosti  $PI_{ABS}$  u fazama VC i V3 gdje nema značajne razlike (Slika 4).



**Slika 4.** Prosječne vrijednosti i standardne devijacije indeksa fotosintetske učinkovitosti ( $PI_{ABS}$ ) izmjerene na kontrolnim (K) i tretiranim (T) listovima dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.): Ika i Zora, u tri različite razvojne faze VC (kotiledoni), V3 (razvoj listova) i R1 (početak cvatnje). Različita slova predstavljaju statistički značajne razlike prema HSD testu (ANOVA),  $P < 0,05$ .

Vrijednosti parametra prikazane su u relativnim jedinicama.

Vrijednosti pojedinačnih pokretačkih snaga  $PI_{ABS}$  ( $DF_{ABS}$ ) prikazuju koliko određeni parametar pridonosi ukupnoj promjeni parametra  $PI_{ABS}$  (Slika 5). U Tablici 3 navedene su postotne vrijednosti pojedinačnih pokretačkih snaga koji pridonose  $PI_{ABS}$ , a izražene su kao postotak od ukupne vrijednosti ( $PI_{ABS} = 100\%$ ). Sorta Ika je pokazala značajan porast  $PI_{ABS}$  parametra na kontrolnim biljkama u R1 fazi (Slika 4). Porastu je najviše doprinijelo povećanje pojedinačne pokretačke snage  $\log \phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$  (63,09%) te pozitivna vrijednost pojedinačne pokretačke snage  $\log \psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})$  (7,92%). Iako je zabilježen porast  $\log \phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$  na tretiranim biljkama u R1 fazi, tretman herbicidima je doveo do pojave negativne vrijednosti  $\log \psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})$  (-6,03%) u odnosu na kontrolu. Kod sorte Zora je i kod kontrolnih i tretiranih biljaka došlo do značajnog porasta  $PI_{ABS}$  parametra u R1 fazi (Slika 4) uslijed pozitivnih vrijednosti  $\log \psi_{Eo}/(1-\psi_{Eo})$  u odnosu na VC i V3 fazu. Vrijednost  $\log \phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$  više pridonosi ukupnoj promjeni parametra  $PI_{ABS}$  u kontrolnim skupinama nego u tretiranim skupinama, iako se s vremenom postepeno njihov udio izjednačava: omjer  $\log \phi_{Po}/(1-\phi_{Po})$  u fazi kotiledona (VC) u kontrolnim i tretiranim biljkama sorte Zora je 3:1, dok je omjer u fazi cvatnje (R1) gotovo 1:1. Parametar  $\log \gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$  doprinosi porastu  $PI_{ABS}$  parametra najviše u R1 fazi obje sorte budući da mu se negativna vrijednost smanjuje za ~9-15%.



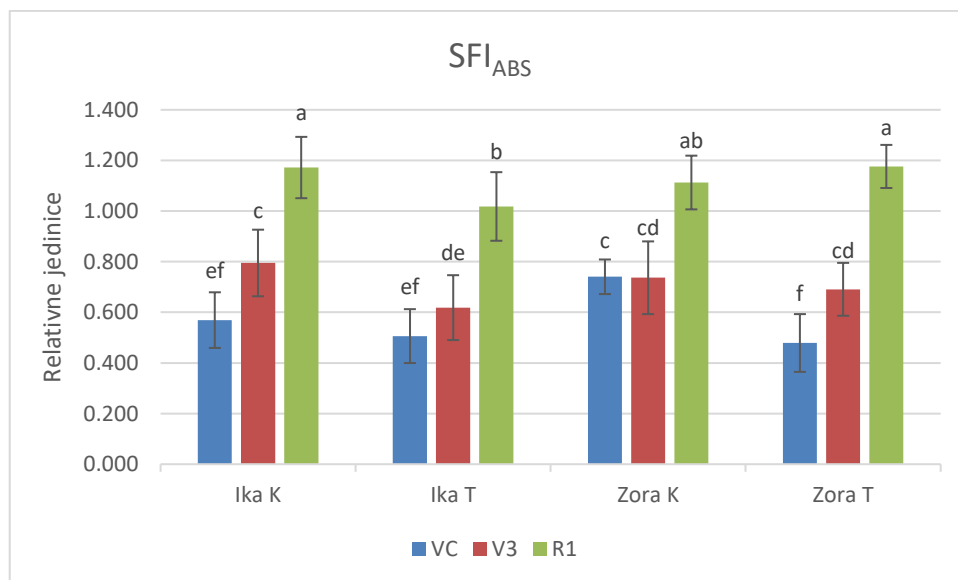
**Slika 5.** Prosječne vrijednosti pojedinačnih pokretačkih snaga  $PI_{ABS}$  izmjerene na kontrolnim (K) i tretiranim (T) listovima dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.): Ika i Zora, u tri različite razvojne faze VC (kotiledoni), V3 (razvoj listova) i R1 (početak cvatnje). Vrijednosti parametra prikazane su u relativnim jedinicama.

**Tablica 3.** Vrijednosti pojedinačnih pokretačkih snaga koji pridonose  $PI_{ABS}$  (izražene kao postotak od ukupne vrijednosti  $PI_{ABS} = 100\%$ )

Sorta	Tretman	Razvojna faza	$\log \gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$	$\log \Phi_{Po}/(1-\Phi_{Po})$	$\log \Psi_{Eo}/(1-\Psi_{Eo})$
<b>Ika</b>	K	VC	-54,68%	21,82%	-44,10%
<b>Ika</b>	K	V3	-50,45%	41,13%	-26,59%
<b>Ika</b>	K	R1	-42,51%	63,09%	7,92%
<b>Ika</b>	T	VC	-55,35%	19,09%	-50,70%
<b>Ika</b>	T	V3	-56,89%	21,14%	-41,99%
<b>Ika</b>	T	R1	-46,20%	50,90%	-6,03%
<b>Zora</b>	K	VC	-51,95%	31,54%	-30,02%
<b>Zora</b>	K	V3	-50,12%	37,71%	-28,68%
<b>Zora</b>	K	R1	-43,21%	56,79%	4,36%
<b>Zora</b>	T	VC	-60,58%	13,63%	-57,29%
<b>Zora</b>	T	V3	-52,03%	32,05%	-34,09%
<b>Zora</b>	T	R1	-45,59%	54,30%	5,81%

K – kontrola; T – tretman; VC – faza kotiledona; V3 – faza tri razvijena lista; R1 – početak cvatnje;  $\log \gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$  - doprinos uslijed gustoće reakcijskih središta po količini klorofila i/ili veličine antena PSII;  $\log \Phi_{Po}/(1-\Phi_{Po})$  - doprinos svjetlosnih reakcija primarnoj fotokemiji;  $\log \Psi_{Eo}/(1-\Psi_{Eo})$  - doprinos reakcija neovisnih o svjetlosti, od  $Q_A^-$  do plastocijana (PC)

Srednje vrijednosti i standardne devijacije strukturno-funkcionalnog indeksa, SFI, izmjerene na kontrolnim i tretiranim listovima soje prikazane su na Slici 6. Najveći porast SFI parametra izmjeren je u R1 fazi obje sorte. U sorti Ika uočava se porast značajan porast vrijednosti od VC do R1 faze u kontrolnoj skupini. U tretiranoj skupini sorte Ika, između faza VC i V3 nema statističke razlike, dok je u R1 fazi došlo do značajnog porasta u odnosu na VC i V3 faze. Tretirane biljke pokazuju značajno niže vrijednosti u V3 i R1 fazi u odnosu na kontrolu. U sorti Zora također je uočen najveći porast parametra SFI u R1 fazi. U kontrolnoj skupini nema statistički značajne razlike između VC i V3 faze, dok se u tretmanu te dvije faze značajno razlikuju. Tretirane biljke sorte Zora pokazale su značajno niže vrijednosti ovog parametra samo u VC fazi u odnosu na kontrolnu skupinu.



**Slika 6.** Prosječne vrijednosti i standardne devijacije strukturno-funkcionalnog indeksa ( $SFI_{ABS}$ ) izmjerene na kontrolnim (K) i tretiranim (T) listovima dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.): Ika i Zora, u tri različite razvojne faze VC (kotiledoni), V3 (razvoj listova) i R1 (početak cvatnje). Različita slova predstavljaju statistički značajne razlike prema HSD testu (ANOVA),  $P < 0,05$ . Vrijednosti parametra prikazane su u relativnim jedinicama.



## 4. RASPRAVA

U ovome radu proučavan je učinak komercijalnih herbicida namijenjenih suzbijanju širokolisnih korova u poljoprivrednim kulturama fotosintetsku učinkovitost soje (*Glycine max* (L.) Merr.). Istraživanja su provedena na dvije sorte soje, Zora i Ika, koje su bile uzgajane i tretirane na poljima u Cerni. Svaka sorta je bila podijeljena u dvije skupine: netretirana skupina, koja je služila kao kontrola i tretirana skupina. Svaki fotosintetski uzorak u bilo kojem fiziološkom stanju nakon osvjetljavanja pokazuje brzi porast fluorescencije koja se povećava od početnog intenziteta fluorescencije  $F_0$  do maksimalnog intenziteta  $F_P$ . Između početnog (minimalnog) i krajnjeg (maksimalnog) intenziteta fluorescencije javljaju se još 2 koraka: J (nakon  $\sim 2$ ms) i I (nakon  $\sim 30$  ms) (Strasser i sur. 2004). Porast fluorescencije klorofila *a* govori o aktivnosti i funkcionalnosti PSII na temelju čega se zasniva OJIP-test. Primjenom OJIP-testa izmjerene vrijednosti fluorescencije klorofila *a* upotrijebljene su kako bi se izveli parametri  $PI_{ABS}$  (indeks fotosintetske učinkovitosti),  $DF_{ABS}$  (engl. *driving forces* - pojedinačne pokretačke snage za  $PI_{ABS}$ ) i  $SPI_{ABS}$  (strukturno-funkcionalni indeks).

Indeks fotosintetske učinkovitosti,  $PI_{ABS}$ , mjeri se kao umnožak omjera koncentracije klorofila reakcijskih središta i antena klorofila ( $RC/ABS$ ), omjera hvatanja ekscitona i otpuštanje energije ( $TR_0/DI_0$ ) i transporta elektrona dalje od primarnog akceptora  $Q_A$  ( $ET_0/(ET_0-TR_0)$ ) (Tablica 2). Parametar  $PI_{ABS}$  možemo još definirati i kao ukupan broj pokretačkih snaga fotosinteze pojedinačnih reakcija unutar promatranog sustava, odnosno uključuje sve pojedinačne pokretačke snage (Strasser i sur. 2000). Parametar pokretačke snage  $PI_{ABS}$  ( $DF_{ABS}$ ) izračunava se kao logaritam pojedinačne vrijednosti parametara iz kojih se parametar  $PI_{ABS}$ .  $DF_{ABS}$  je indikator pokretačkih snaga u PSII izražen u odnosu na količinu apsorbirane energije. Svaka komponenta ili djelomična pokretačka snaga indeksa fotosintetske učinkovitosti omogućuje procjenu koliko pojedinačni parametar doprinosi ukupnoj promjeni  $PI_{ABS}$  parametra s obzirom na koncentraciju aktivnih reakcijskih središta u PSII, primarnu fotokemijsku reakciju i reoksidaciju reduciranog plastokinona  $Q_A^-$  (Goltsev i sur. 2016). Pojedinačna pokretačka snaga  $\log \gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$  predstavlja mjeru za gustoću reakcijskih središta po količini klorofila i/ili veličine antena PSII,  $\log \phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$  predstavlja doprinos svjetlosnih reakcija primarnoj fotokemiji dok  $\log \psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$  predstavlja ravnotežnu konstantu redoks reakcija između PSII i PSI (Krüger i sur. 2014). Prema tome, parametar  $DF_{ABS}$  može se povezati direktno sa parametrom  $PI_{ABS}$ . Naši rezultati su pokazali da u fazama kotiledona (VC), kod

obje sorte, nema statistički značajne razlike u relativnim vrijednostima parametra  $PI_{ABS}$ , na temelju čega se može pretpostaviti kako herbicidi imaju minimalan učinak na fotosintezu soje u ranim fazama (Slika 4). Utjecaj herbicida može se uočiti u fazi razvoja listova (V3) i fazi početka cvjetanja (R1) sorte Ika. Niža vrijednost parametra  $PI_{ABS}$  u R1 fazi tretirane skupine biljaka sorte Ika sugerira da je tretman herbicidima utjecao na smanjenje fotosintetske učinkovitosti. Na temelju rezultata pojedinačnih pokretačkih snaga za  $PI_{ABS}$  (Slika 5), vidljivo je kako su herbicidi negativno djelovali na transportni lanac elektrona budući da je u odnosu na kontrolnu skupinu, tretirana skupina pokazala negativnu vrijednost pojedinačne pokretačke snage  $\log \psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$ , odnosno poremećenu ravnotežu redoks reakcija elektronskog transporta između PSII i PSI, što je utjecalo na sveukupnu fotosintetsku učinkovitost tretirane skupine soje sorte Ika. S druge strane, do nižih vrijednosti u V3 fazi tretirane skupine sorte Ika došlo je zbog negativnije vrijednosti pojedinačne pokretačke snage  $\log \psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$  te zbog niže pozitivne vrijednosti pokretačke snage  $\log \phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$  u odnosu na kontrolu. U sve tri istraživane faze sorte Zora nije primijećen značajan utjecaj herbicida. Budući da u tim razvojnim fazama nema statistički značajne razlike u vrijednostima  $PI_{ABS}$  između tretiranih i kontrolnih biljaka, što ukazuje na to da je sorta Zora manje osjetljiva na djelovanje komercijalnih herbicida za suzbijanje širokolisnih korova. Unatoč tome što između kontrolne i tretirane skupine ne postoji značajna razlika u VC fazi, iz pojedinačnih DF vidljivo je da je tretman herbicidima djelovao na smanjenje parametaralog  $\phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$  i  $\log \psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$ , odnosno, smanjio se doprinos svjetlosnih reakcija i transporta elektrona dalje od primarnog akceptora. S druge strane, do značajnog porasta vrijednosti  $PI_{ABS}$  došlo je između V3 i R1 faze u obje istraživane skupine sorte Zora i to zbog porasta vrijednosti  $\log \phi_{P_0}/(1-\phi_{P_0})$  i  $\log \gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ . Prema vrijednostima parametra  $\log \psi_{E_0}/(1-\psi_{E_0})$  (Slika 5) proizlazi kako herbicidi ponajviše djeluju negativno na transport elektrona. U V3 i R1 fazama kontrolne skupine sorte Ika, njegov udio u porastu vrijednosti parametra fotosintetske učinkovitosti znatno je veći u odnosu na tretiranu skupinu, dok je kod sorte Zora zabilježena znatno veća vrijednost ovoga parametra u VC fazi kontrolne skupine u odnosu na tretiranu. Jedan od razloga je moguća inhibicija reakcijskih središta klorofila *a* ili direktan utjecaj na blokiranje primarnog akceptora  $Q_A$ . Ometanjem funkcije klorofila *a* smanjuje se mogućnost apsorpcije svjetlosti što dovodi do manjeg broja pobuđenih reakcijskih središta, a time u konačnici do smanjenja fotosintetske učinkovitosti.

Mjerenjem strukturno-funkcionalnog indeksa možemo dobiti strukturne i funkcionalne informacije o jakosti utjecaja unutarnjih čimbenika koji pokreću reakcije unutar PSII. Strukturno-funkcionalni indeks izračunavamo prema formuli  $(Chl_{RC}/Chl_{tot})\phi_{P0}\Psi_0$ , odnosno, to je umnožak  $ABS/RC \times TR_0/ABS \times ET_0/TR_0$ . Parametar  $ABS/RC$  je umnožak omjera klorofila  $a$  sadržanog u reakcijskim centrima u PSII i ukupnog klorofila  $a$  sadržanog u PSII ( $Chl_{RC}/Chl_{tot}$ ). Parametar  $\phi_{P0}$ , odnosno  $TR_0/ABS$ , predstavlja maksimum kvantnog iskorištenja primarnih fotokemijskih reakcija (pri  $t = 0$ ) koji opisuje vjerojatnost hvatanja pobuđene energije apsorbiranih fotona koja se preko antena prenosi do reakcijskih središta PSII. Parametar  $\Psi_0$ , odnosno  $ET_0/TR_0$ , pretpostavlja vjerojatnost prijenosa elektrona dalje od primarnog akceptora  $Q_A^-$  (na  $t = 0$ ) tj. učinkovitost kojom eksciton uhvaćen pomoću reakcijskih središta prenosi elektron u transportnom lancu elektrona dalje od  $Q_A$  (Goltsev i sur. 2016). Rezultati našeg istraživanja pokazali su da u fazi kotiledona sorte Ika nema statistički značajne razlike u dobivenim vrijednostima. S druge strane, sorta Zora pokazuje značajno niže vrijednosti u VC fazi nakon tretiranja komercijalnim herbicidima. Nadalje, uspoređujući V3 i R1 faze sorte Ika vidljiva je značajna razlika u vrijednostima između kontrolne i tretirane skupine. Vrijednosti SFI parametra su pokazale značajno niže vrijednosti u odnosu na kontrolu što ukazuje na povećanu osjetljivost sorte Ika na tretman komercijalnim herbicidima. Sorta Zora pak, nije pokazala niže vrijednosti u ovog parametra nakon tretmana herbicidima u V3 i R1 fazama. Moguće je da je razlog nižih vrijednosti u tretmanima sorte Ika je vjerojatno negativno djelovanje korištenih herbicida na klorofil  $a$  u reakcijskim središtima, kao i na ukupan sadržaj klorofila  $a$  u biljci. Naime, poznato je da komercijalni herbicid Basagran® 480 sadrži djelatnu tvar bentazon koja blokira prijenos elektrona tako što se veže na  $Q_B$  vezujuće mjesto na D1 proteinu (de Sousa i sur. 2014). Budući da i bentazon i elektroni konkuriraju za isto mjesto vezanja na D1 proteinu, sigurno je za zaključiti da je ovaj herbicid negativno djelovao na učinkovitost fotosinteze u R1 fazi sorte Ika. S druge strane, niže vrijednosti u ranijim faza obje sorte nisu rezultat djelovanja ovog herbicida već ostala dva korištena komercijalna herbicida, budući da se oba primjenu preko lista i na taj način mogu ometati fotosintetske procese.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata mjerenjem fluorescencije klorofila *a* na listovima dvije sorte soje (*Glycine max* (L.) Merr.) tretiranih sa smjesom herbicida namijenjenih suzbijanju širokolisnih korova u poljoprivrednim kulturama može se zaključiti sljedeće:

1. Fotosintetska učinkovitost najviša je u fazi cvatnje obje sorte soje, odnosno povećava se s razvojem biljaka.
2. Unatoč selektivnosti herbicida korištenih za zaštitu soje od širokolisnih korova, komercijalni herbicidi su pokazali negativan utjecaj ponajviše na transportni lanac elektrona što je u konačnici dovelo do smanjenja fotosintetske učinkovitosti sorte Ika.
3. Utvrđena je različita osjetljivost dviju sorti soje na tretman komercijalnim herbicidima: sorta Ika je pokazala veću osjetljivost u fazi nekoliko razvijenih listova (V3) i na početku cvatnje (R1), dok je sorta Zora pokazala značajnu osjetljivost u razvojnom stadiju kotiledona (VC).

## 6. LITERATURA

Nelson, D. L., Cox, M. M. (2013) *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed., W. H. Freeman and Company, New York.

Denffer, D., Ziegler, H. 1988. *Botanika: Morfologija i fiziologija*. Školska knjiga, Zagreb.

de Sousa, C.P., de Faris, M.E., Schock, A.A., Bacarin, M.A. (2014) Photosynthesis of soybean under the action of a photosystem II-inhibiting herbicide. *Acta Physiologia Plantarum* 36: 3051-3062.

Goltsev, V.N., Kalaji, H.M., Paunov, M., Bąba, W., Horaczek, T., Mojski, J., Kociel, H., Allakhverdiev, S.I. (2016) Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for Assessing Physiological Condition of Plant Photosynthetic Apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology* 63: 869–893.

Krüger, G.H.J., De Villiers, M.F., Strauss, A.J., de Beer, M., van Heerden, P.D.R., Maldonado, R., Strasser, R.J., (2014) Inhibition of photosystem II activities in soybean (*Glycine max*) genotypes differing in chilling sensitivity. *South African Journal of Botany* 95: 85-96.

Lim, T.K., 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, vol 2, Fruits, Springer, Heidelberg.

Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. U: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (ur) *Probing photosynthesis: Mechanism, regulation and adaptation*. Taylor and Francis, London, UK, str. 443-480.

Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. u: *Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis*. Vol. 19 Springer International Publishing AG, Cham, Switzerland, str. 321-362.

Web1. MDidea Exporting Division: Herbextract.

<https://www.mdidea.com/products/herbextract/soy/SoyPhoto02.jpg>

Web2. Corn Agronomy: Crops. <http://corn.agronomy.wisc.edu/Crops/Soybean/L004.aspx>

Web3. MDPI Open Access Journals: Sensors. [http://www.mdpi.com/sensors/sensors-12-11853/article\\_deploy/html/images/sensors-12-11853f4.png](http://www.mdpi.com/sensors/sensors-12-11853/article_deploy/html/images/sensors-12-11853f4.png)

Web4. <https://www.chromos-agro.hr/herbicid/basagran-480/>

Web5. <http://agrochem-maks.com/proizvod/laguna-75-wg/>

Web6. <http://agrochem-maks.com/proizvod/harmony-sx/>