

Elżbieta Skórska, Maria Swarcewicz\*  
Zakład Fizyki  
Akademia Rolnicza w Szczecinie  
\*Zakład Syntezy Organicznej i Technologii Leków  
Politechnika Szczecińska

## **Zastosowanie fluorescencji chlorofilu do oceny skuteczności działania wybranych adiuwantów w mieszaninie z atrazyną**

### **Streszczenie**

W pracy przedstawiono szybką metodę fluorescencji chlorofilu do oceny działania wybranych adiuwantów w mieszaninie z atrazyną na rośliny owsa. Atrazyna jako herbicyd triazynowy jest inhibitorem fotosyntetycznego transportu elektronowego w fotosystemie II, co może być rejestrowane za pomocą specjalnego fluorymetrów. Do pomiarów zastosowano fluorymetr impulsowy PAM-200 firmy Walz, mierzono parametr ETR. Wyniki badań wykazały zróżnicowanie reakcji roślin na zastosowane preparaty zależnie od rodzaju zastosowanego adiuwantu. Spośród badanych mieszanin Break-Thru S-240 i Adbros 85 SL okazały się najbardziej skuteczne, natomiast Adbios 85 SL neutralizował biologiczne działanie atrazyny w mieszaninie z Azoprimem.

**Słowa kluczowe:** adiuwant, *Avena Sativa*, fluorescencja chlorofilu, fotosyntetyczny transport elektronów, herbicydy triazynowe, inhibitor fotosyntezy

### **Wstęp**

Coraz powszechniejsze staje się stosowanie preparatów chwastobójczych zawierających oprócz cieczy użytkowej herbicydu jeszcze dodatkowy adiuwant [Rola i Rola 1996, Swarcewicz 2000; Zabkiewicz 2000; Sprague i in. 2004]. Jest to ekonomicznie uzasadnione, a ma na celu poprawę efektywności zabiegu oprysku roślin. Wprowadzanie na rynek coraz liczniejszych nowych adiuwantów stwarza potrzebę opracowania szybkiej metody testowej oceny ich wpływu na biologiczną aktywność herbicydu. Atrazyna należy do grupy herbicydów będących inhibitorami fotosyntezy poprzez hamowanie fotosyntetycznego transportu elektronowego w fotosystemie II [Murkowski i Skórska 1988; Jansen 1993]. Konsekwencją tego jest obniżenie wydajności kwantowej fluorescencji chlorofilu, co można mierzyć przy użyciu specjalnych fluorymetrów impulsowych [Krause i Weis 1994; Schreiber i in. 1994].

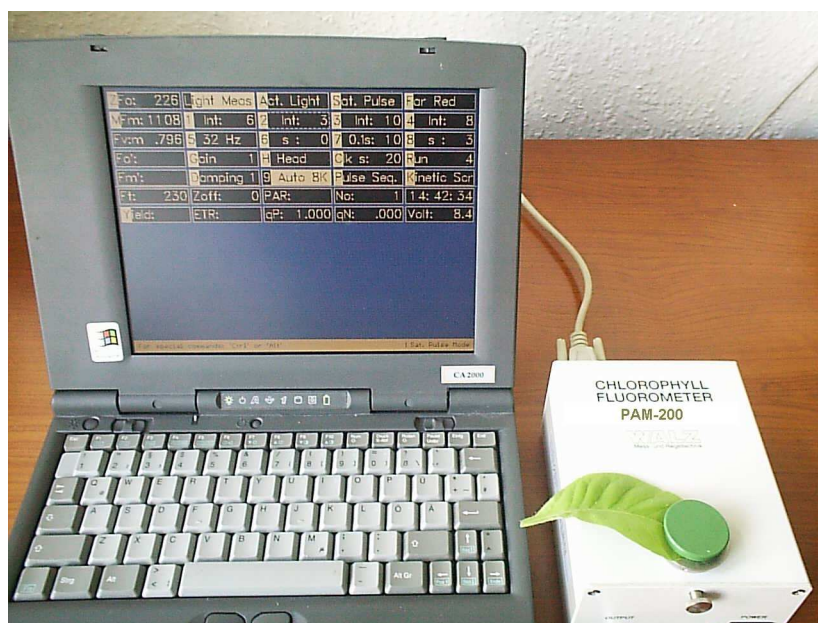
Celem pracy była szybka ocena fitotoksyczności atrazyny z dodatkiem wybranych adiuwantów na biotestowe rośliny owsa poprzez analizę parametru ETR mierzonego przy użyciu modulowanej fluorescencji chlorofilu zawartego w liściach.

## Material i metody

Rośliny owsa (*Avena sativa* L. odm. Sławko) rosły w naczyniach szklanych z 50% pożywką Hoaglanda w kontrolowanych warunkach oświetlenia i temperatury (LRFR 250, PPFD 120  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , fotoperiod 12 h, 20°C/18°C dzień/noc). Z 14-dniowych siewek z górnych części pierwszych liści wycięto po 6 dwucentymetrowych fragmentów, które położono w szalkach Petriego na powierzchni wodnego roztworu herbicydu Azoprim (s.a. atrazyna) o stężeniu 2,5  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  oraz z dodatkiem adiuwanta. Badano następujące adiuwanty: Atpol i Olemix 84 EC z grupy olejów mineralnych; Adpros 85 SL, Olejan 85 EC, Olbras 88 EC z grupy olejów roślinnych; Adbios 85 SL z grupy amin tłuszczowych oraz Break-Thru S-240 jako silikonowy surfaktant. Przygotowane próbki położono na dwie godziny na świetle (PAR = 120  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), a następnie po 15 minutowej adaptacji w ciemności wykonano pomiary fluorescencji chlorofilu za pomocą impulsowego fluorymetru PAM-200 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Niemcy) sterowanego komputerem PC (Rys. 1). Zastosowano w nim słabe czerwone światło pomiarowe ML (650 nm, 0,04  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), impulsowe światło nasycające SP (665 nm, 3200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) oraz światło aktyczne AL (665 nm, 120  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Wykorzystano parametr ETR, określający efektywność fotosyntetycznego transportu elektronowego w fotosystemie II (Rys. 2). W celu sprawdzenia trwałości działania preparatów po pomiarach próbki liści wyjęto z roztworów i położono na wodzie destylowanej, a po 24 h powtórzono pomiary ETR. Przeprowadzono analizę wariancji, która miała na celu separację grup jednorodnych przy użyciu testu Duncana na poziomie istotności  $p < 0,05$ .

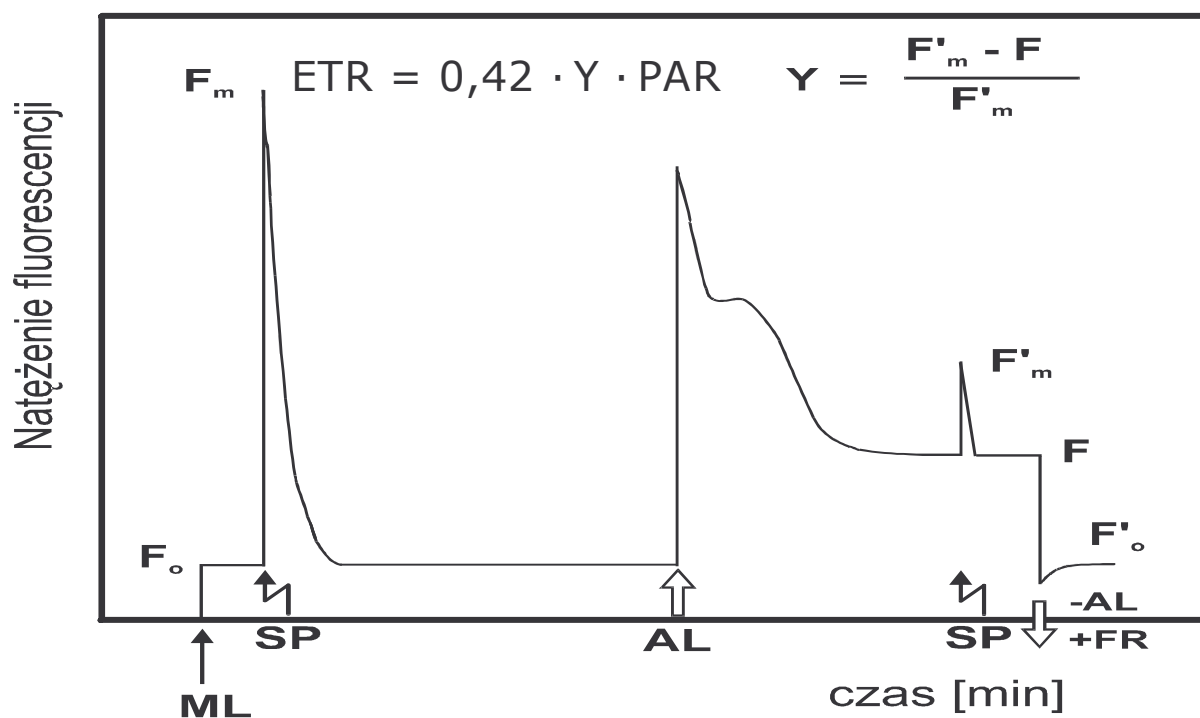
## Omówienie wyników

Atrazyna wchodząca w skład badanego preparatu Azoprim jest inhibitorem transportu elektronowego w fotosystemie II, blokując przejście elektronów między  $Q_A$  i  $Q_B$  w pobliżu białka D1 [Jansen 1993]. Parametr ETR, określający efektywność fotosyntetycznego transportu elektronów w liściach siewek owsa, uległ obniżeniu pod wpływem Azoprimu o ponad 20% w stosunku do siewek kontrolnych, znajdujących się na wodzie destylowanej (Tabela 1). Dodatek adiuwantów, zależnie od rodzaju, miał różny wpływ na wartość tego parametru. Dodatek Adbiosa 85 SL nie spowodował zmiany wartości ETR w stosunku do wartości dla roślin kontrolnych, co świadczy o tym, że nie tylko nie wspomagał działania atrazyny, ale nawet działanie to neutralizował. Podobnie niską skutecznością charakteryzowały się Olejan 85 EC i Olbras. Ten ostatni adiuwant w badaniach nad kinetyką rozkładu w glebie nie wpływał na zmianę czasu zaniku atrazyny, co potwierdza jego niską skuteczność [Swarcewicz 2002].



Rys. 1. Fluorymetr impulsowy PAM-200 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Niemcy), sterowany komputerem PC, do rejestracji fluorescencji chlorofilu w liściach roślin. Szczegółowy opis w pracy Skórskiej [2000].

Fig. 1. Pulse fluorometer PAM-200 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) steered by PC, for recording chlorophyll fluorescence of plant leaves. Detailed description in Skórska [2000].



Rys. 2. Przebieg modulowanej fluorescencji chlorofilu rejestrowanej metodą impulsów nasycających przy użyciu fluorometru PAM-200; ML – światło pomiarowe; SP – impuls światła nasycającego; AL – światło aktyczne; FR – daleka czerwień; Y – wydajność fotosystemu II; ETR – efektywność fotosyntetycznego transportu elektronów;  $PAR = 120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Fig. 2. Course of modulated chlorophyll fluorescence recorded by means of the method of saturated pulses using fluorometer PAM-200; ML – measuring light; SP – light saturated pulse; AL – actinic light; FR – far red; Y – photochemical efficiency of photosystem II; ETR – photosynthetic electron transport efficiency;  $PAR = 120 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Działanie atrazyny zawartej w preparacie Azoprim w znacznym stopniu nasilały Adbros 85 SL, Atpol, Olemix 84 EC i Break-Thru S-240. Ich dodatek powodował, że wartość ETR była od 6 do 3 razy mniejsza niż w przypadku samego Azoprimu. Świadczy to o znacznym zwiększeniu skuteczności działania herbicydu wskutek jego lepszego wnikania do wewnętrznych tkanek liści, co można tłumaczyć obniżeniem sił przylegania na powierzchni liścia [Zabkiewicz 2000]. Być może lepsze wnikanie Azoprimu z dodatkiem Atpolu jest przyczyną dłuższego rozkładu tej mieszaniny w glebie w porównaniu z samym Azoprimem [Swarcewicz 2002].

**Tabela 1****Wartości parametru ETR liści roślin owsa po 2 h działania mieszanin oraz po 24 h od ich wyjęcia (restytucji)**

Table 1. Values of ETR parameter of the oat leaves after 2 hour of separate action and 24 hours after remove of the leaves (recovery)

<b>Wariant</b> – Variant	<b>Typ adiuwanta</b> – Type of adjuvant	<b>Po 2 h działania</b> – After 2 h of action	<b>Po restytucji liści</b> – After recovery of leaves
Woda destylowana	-	28,8 <sup>a</sup>	30,6 <sup>a</sup>
Azoprim	-	22,2 <sup>b</sup>	24,8 <sup>bc</sup>
Adbios 85 SL	amina tłuszczowa	28,7 <sup>a</sup>	27,5 <sup>ab</sup>
Olbras	olej rzepakowy	21,0 <sup>b</sup>	17,7 <sup>c</sup>
Olejan 85 EC	olej rzepakowy	18,9 <sup>b</sup>	22,8 <sup>bc</sup>
Adbros 85 SL	olej rzepakowy	3,5 <sup>c</sup>	13,0 <sup>d</sup>
Atpol	olej mineralny	4,5 <sup>c</sup>	21,1 <sup>bc</sup>
Olemix 84EC	olej mineralny	6,5 <sup>c</sup>	22,9 <sup>bc</sup>
Break-Thru S-240	surfaktant silikonowy	6,8 <sup>c</sup>	2,6 <sup>e</sup>

Średnie w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie  $p < 0,05$  (test Duncana)

Means in the column marked by the same letters do not differ significantly at the level of 0,05 (Duncan test)

Po wyjęciu liści z mieszanin i po 24 godzinnej restytucji w wodzie destylowanej największą trwałość działania wykazał dodatek surfaktantu Break-Thru S-240, pod wpływem którego wartość ETR w liściach roślin była prawie 10-krotnie niższa niż w przypadku samego Azoprimu, a w mniejszym stopniu – Adbros 85 SL - o 50% (Tabela 1). Interesujące, że oba zastosowane oleje mineralne Atpol i Olemix 34EC nie wykazały utrwalonego działania po 24 h.

**Wnioski**

1. Przedstawiona metoda biotestowa okazała się przydatna do oceny skuteczności działania adiuwantów w mieszaninie z atrazyną.

2. Zastosowane adiuwanty wykazały różną skuteczność w działaniu atrazyny na fotosyntezy transport elektronów w liściach badanych roślin, co odzwierciedla parametr ETR impulsowej fluorescencji chlorofilu.
3. Działanie Azoprimum najskuteczniej wspomagały Adbros, Atpol, Olemix oraz Break-Thru, przy czym ten ostatni wykazał największą trwałość działania.
4. Dodatek adiuwanta Adbios okazał się nieprzydatny w mieszaninie z Azoprimum.

## **Bibliografia**

1. Jansen M.A.K., Mattoo A.K., Malkin S., Edelman M., 1993. Direct demonstration of binding-site competition between photosystem II inhibitors at the  $Q_B$  niche of the D1 protein. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 46: 78-83.
2. Krause G.H., Weis E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 313-349.
3. Murkowski A., Skórska E., 1988. The application of the luminescence method to evaluation of wheat and rape susceptibility to certain herbicides. *Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo*, 32 (1/2): 171-174.
4. Rola J., Rola H., 1996. Zasadność łącznego stosowania herbicydów z innymi chemikaliami. *Postępy w Ochronie Roślin* 36(1): 102-109.
5. Schreiber U., Bilger W., Neubauer C., 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis. W: *Ecophysiology of Photosynthesis* (ed. Schulze E.D., Caldwell M.M.), *Ecological Studies* 100: 49-70.
6. Skórska E., 2000. Reakcja wybranych roślin uprawnych na promieniowanie UV-B. *Rozprawy nr 192. Akademia Rolnicza w Szczecinie*: 1-100.
7. Sprague C.L., Kells J.J., Schirmacher K., 2004. Weed control guide for field crops. *Extension Bulletin E-434. Michigan State University Extension*: 1-162.
8. Swarczewicz M., 2000. Influence of atrazine and spray adjuvant Atpol on respiration and nitrification processes in soil. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 472 (II): 627-633.
9. Swarczewicz M. 2002. Studia nad trwałością wybranych herbicydów w środowisku glebowym w obecności innych ksenobiotyków. *Rozprawy nr 208. Akademia Rolnicza w Szczecinie*: 1 – 94.
10. Zabkiewicz J.A., 2000. Adjuvants and herbicidal efficacy – present status and future prospects. *Weed Research*, 40: 139-149.

## **Podziękowanie**

Dziękujemy Panu doc. dr hab. Tadeuszowi Praczykowi z Instytutu Ochrony Roślin w Poznaniu za dostarczone adiuwanty. Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2006 jako projekt badawczy nr 2 P06S 042 26.

## **Use of chlorophyll fluorescence for estimation of some adjuvants efficacy in a mixture with atrazine**

### **Summary**

In the paper is presented a quick chlorophyll fluorescence method for estimation of action of some adjuvants in the mixture with atrazine on oat plants. Atrazine is - a triazine herbicide - is an inhibitor of photosynthetic electron transport in photosystem II, which can be measured by means of the special pulse PAM-200 fluorometer. Results of the ETR measurements show differences between the phytotoxicity of the applied adjuvants. Of the studied mixtures Break-Thru S-240 and Adbros 85 SL were the most effective, whereas Adbios 85 SL neutralised the biological action of atrazine in the connection with Azoprim.

**Key words:** adjuvant, *Avena Sativa*, chlorophyll fluorescence, photosynthetic electron transport, triazine herbicides, photosynthesis inhibitor