

# ASSESSMENT OF HERBICIDE EFFICACY BY MEASURING CHLOROPHYLL FLUORESCENCE

## HODNOCENÍ ÚČINNOSTI HERBICIDŮ POMOCÍ MĚŘENÍ FLUORESCENCE CHLOROFYLU

**Kocurek V., Smutný V., Křen J.**

Department of Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: [xkocurek@node.mendelu.cz](mailto:xkocurek@node.mendelu.cz), [smutny@mendelu.cz](mailto:smutny@mendelu.cz), [kren@mendelu.cz](mailto:kren@mendelu.cz)

---

### ABSTRACT

The possibilities of efficacy detection of three selected herbicides were determined by measuring of chlorophyll fluorescence parameters using FluorCam (fluorescence camera). Application of selected herbicides BASAGRAN SUPER (2 l/ha), CALLISTO 480 SC (0,25 l/ha) + ATPLUS 463 (0,5%) and CLICK 500 SC (2 l/ha) was done in registered doses in growth period of four right leaves of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) plants. Quantum yield (QY) was selected as an assessing parameter of chlorophyll fluorescence, which was compared with subjective assessment and growing parameters. Measurements were done 0, 1, 2, 3, 6, 9 and 15 days after treatment. The obtained results showed that it is possible to detect each of selected herbicides by measuring parameters of chlorophyll fluorescence. Effect of herbicide BASAGRAN SUPER was detected as first, already several minutes after application compared to detection by subjective assessment after 1 day after treatment. Herbicide CLICK 500 SC was detected first day after treatment compared to detection by subjective assessment after 3 days after treatment. Detection on herbicide CALLISTO 480 SC was same for quantum yield and subjective assessment - 3 days after treatment. Obtained results showed that we can detect effect of herbicides BASAGRAN SUPER and CLICK 480 SC even before visible damage of weed plants.

**Keywords:** herbicide efficacy, chlorophyll fluorescence, fluorcam

### Acknowledgements:

This study was supported by the Research plan No. MSM6215648905 “Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change“, which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

## ÚVOD

V současné době je účinnost herbicidů posuzována především subjektivním hodnocením ošetřených rostlin. Při tomto hodnocení mohou nastat určité nepřesnosti, jelikož každý hodnotitel může pomocí svého zraku výsledek vyložit poněkud odlišně. Navíc samotný efekt herbicidu v mnoha případech není viditelný okem, přičemž samotná rostlina už může být velmi vážně a výrazně poškozena. Z tohoto důvodu je vyvíjena řada diagnostických metod pro hodnocení účinnosti herbicidů. Fluorescence chlorofylu je jednou z velmi perspektivních metod, která by mohla do budoucna přinést kvalitní a spolehlivé výsledky a informace o působení herbicidů a jejich účinnosti a to nejen pro firmy produkující přípravky na ochranu rostlin, ale též pro samotné zemědělce.

Fluorescence chlorofylu, jak uvádí Prášil (2003), je metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu, která nalézá stále větší uplatnění v rostlinné fyziologii, ekofyziologii a studiu fotosyntézy při sledování procesů, které s fotosyntézou přímo či nepřímo souvisejí. Podle Soukupové a Roháčka (2003) je sledování fluorescence chlorofylu cestou, jak zkoumat fotosyntetické procesy ve všech fotosyntetizujících organizmech.

Metoda měření fluorescence chlorofylu má několik výhod. Mougeta a Tremblina (2002) uvádějí, že je to metoda nedestruktivní, neinvazivní, rychlá a zároveň velmi citlivá. Používá se ve velké míře k časně detekci abiotického i biotického stresu (vysoká teplota, mraz, sucho, nedostatek živin, infekce, působení herbicidů aj.) (Oukarroum a kol., 2007, Tóth a kol., 2007, Christen a kol., 2007). Některé z nich jsme schopni zaznamenat a především konkrétně změřit ještě dříve, než jsou projevy navenek viditelné. Výsledkem jsou navíc přesná číselná určení sledovaných parametrů vysoké vypovídací hodnoty.

## MATERIÁL A METODIKA

Pokusy byly uskutečněny v herbologické laboratoři Ústavu agrosystémů a bioklimatologie MZLU v Brně. Pěstování rostlin laskavce ohnutého (*Amaranthus retroflexus*) bylo uskutečněno v růstovém boxu v kontrolovaných pěstebních podmínkách. Semena byla vyseta do plastových květináčů černé barvy o straně 8 cm s perforovaným dnem. Do každého květináče bylo vyseto 5-10 semen, která byla získána z rostlin v plné zralosti v okolí Brna. Laskavec byl vyset do směsi zahradnického substrátu a písku v poměru 2:1. Z několika vzešlých rostlin byla ponechána vždy 1 rostlina /na 1 květináč. Květináče byly umístěny na plastových platech s nasákovou textilií na dně, která po pravidelném zalévání sloužila jako zdroj vody pro rostliny laskavce.

Samotná aplikace herbicidů byla prováděna v růstové fázi 4 pravých listů. Byly aplikovány 4 varianty (viz. tab. 1.). Pro postřik byl použit ruční elektrický postřikovač SOLO SPRAYSTAR 460 o objemu 1 litr.

Tab. 1. Přehled variant a aplikovaných herbicidů

Herbicid	Účinná látka	Skupina	Dávka
<b>Kontrola</b>	—	—	—
<b>BASAGRAN SUPER</b>	<b>480g bentazone + 150g aktivátor</b>	<b>benzodiathiazoly</b>	<b>2 l / 300 l</b>
<b>CLICK 500 SC</b>	<b>500g terbuthylazine</b>	<b>triaziny</b>	<b>2 l / 300 l</b>
<b>CALLISTO 480 SC</b>	<b>480g/l mesotrione</b>	<b>triketony</b>	<b>0,25 l / 300 l + smáč.</b>

Z uvedených herbicidů jsou všechny systémově působící kromě BASAGRANU SUPER, který je kontaktní. Tento herbicid patří spolu s herbicidem CLICK 500 SC mezi inhibitory fotosyntézy na fotosystému II (PS II). CALLISTO 480 SC řadíme mezi inhibitory syntézy karotenoidů.

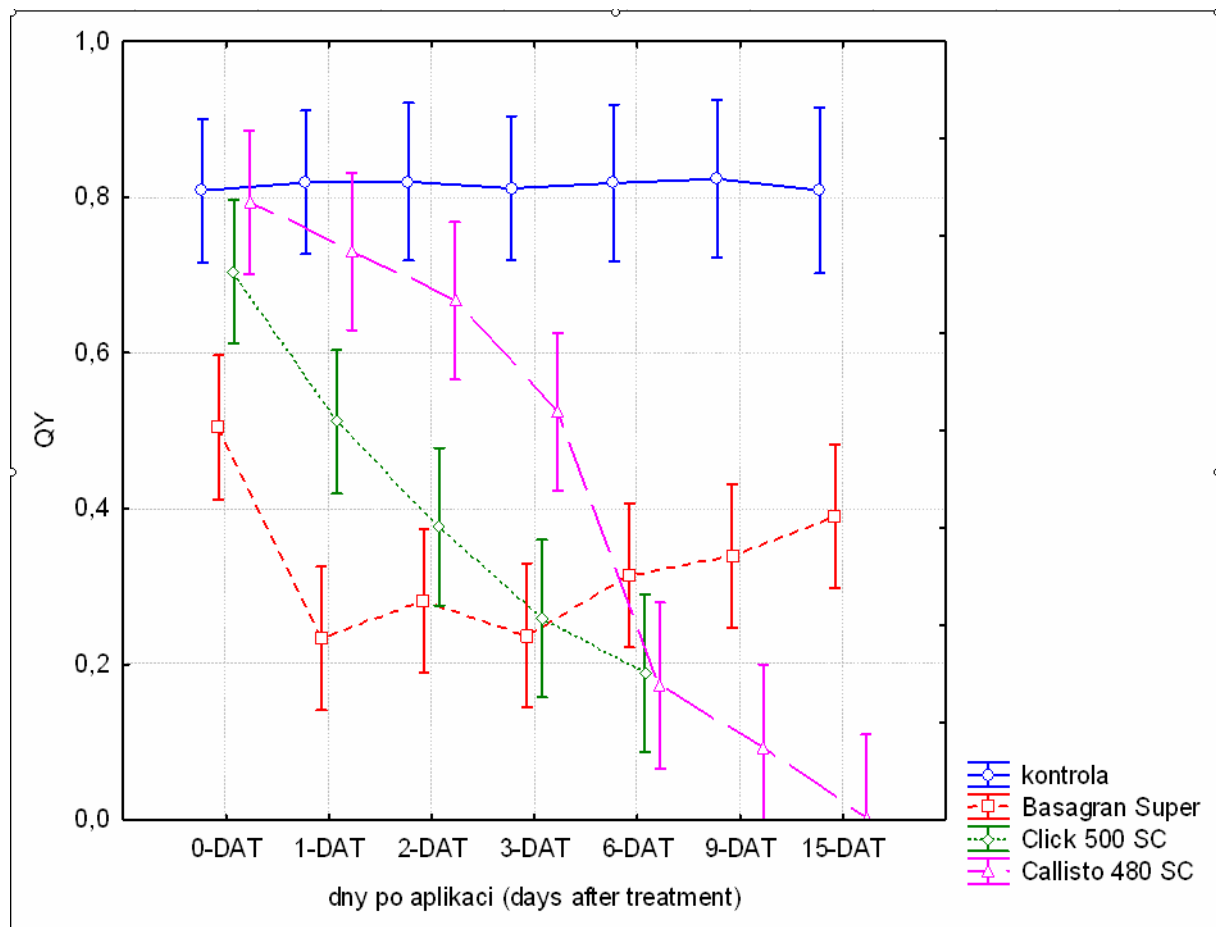
Samotné měření probíhalo s měřicím přístrojem „FluorCam“ a jako hodnotící parametr byl vybrán kvantový výtěžek fluorescence QY (quantum yield), který je vypočítán ze vzorce  $QY = (F_m - F_o) / F_m$ , kde  $F_m$  je maximální fluorescence a  $F_o$  minimální fluorescence snímaného objektu. Tento parametr je v současnosti nejvíce prostudován a také je nejvíce využíván. Pro zjednodušení lze říci, že hodnota QY ve své podstatě poukazuje na „zdravotní stav rostliny.“ Nabývá hodnot od 0 do 1, přičemž zdravé rostliny ve volné přírodě vykazují max. hodnoty okolo 0,8 a snížení pod 0,7 znamená již výrazné zhoršení zdravotního stavu.

Měření byla prováděna v 0, 1, 2, 3, 6, 9 a 15 dnech po aplikaci a současně byly také hodnoceny růstové charakteristiky (výška rostlin, počet listů větších než 5 mm) a subjektivní hodnocení poškození rostlin podle vytvořené desetibodové stupnice (10 = zdravá rostlina, 1 = mrtvá rostlina), která zohledňuje typ herbicidu a jeho charakteristický způsob účinku.

Všechny hodnoty byly statisticky zpracovány na softwaru Statistica, a to analýzou variance, metodou následného testování pomocí Tukeyova testu a výpočtem korelačních koeficientů u naměřených dat.

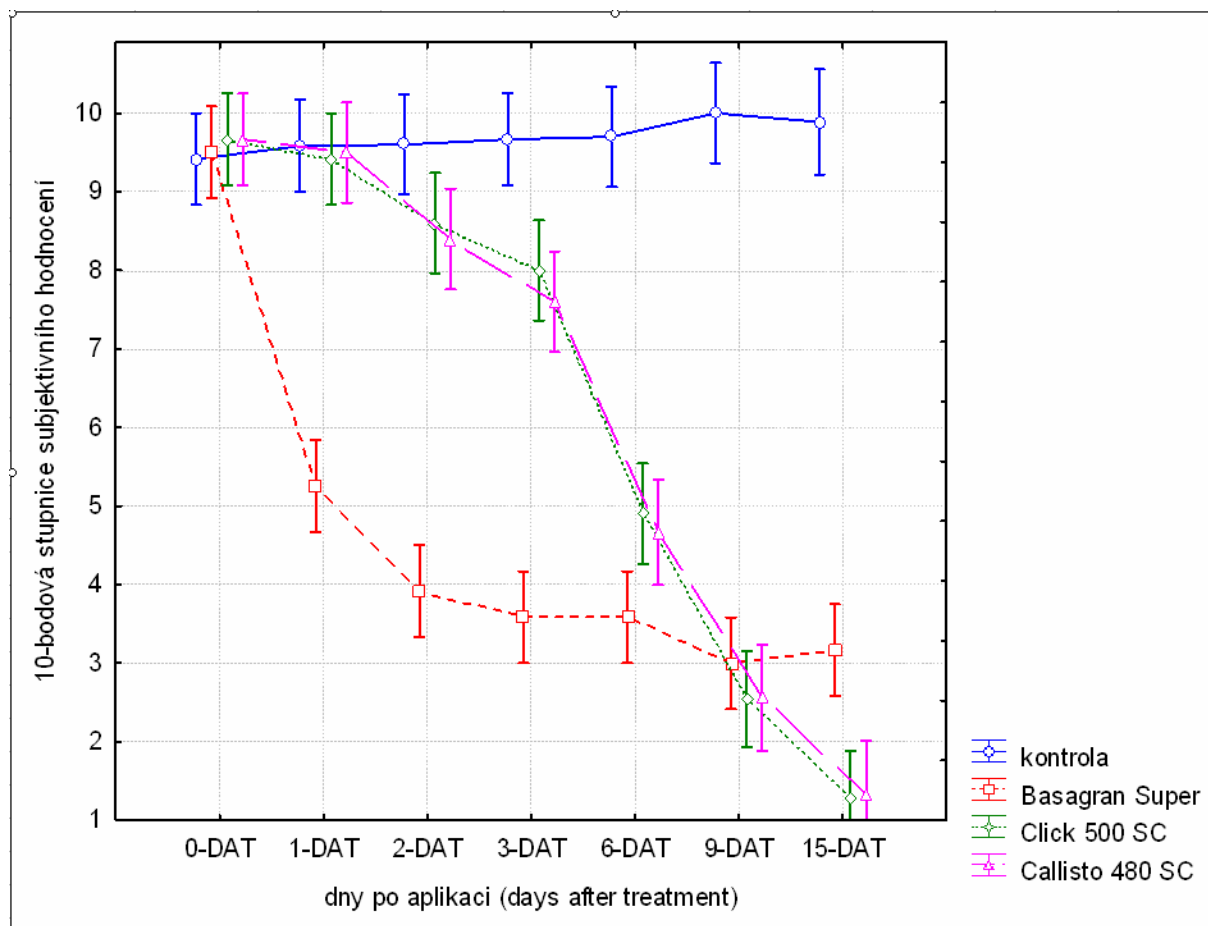
## VÝSLEDKY A DISKUZE

Graf 1. Průměrné hodnoty kvantového výtěžku (QY) pro testované herbicidy ( $p < 0,05$ )



Naměřené hodnoty kvantového výtěžku (QY) ukázaly, že největší a nejrychlejší pokles hodnot QY nastal u inhibitorů fotosyntézy tj. BASAGRAN SUPER a CLICK 500 SC. U herbicidu BASAGRAN SUPER byl průkazný rozdíl oproti kontrole již několik minut po aplikaci (0-DAT). U herbicidu CLICK 500 SC byl zjištěn průkazný rozdíl oproti kontrolní variantě jeden den po aplikaci (1-DAT), zatímco u herbicidu CALLISTO 480 SC došlo k průkaznému poklesu hodnot QY až třetí den po aplikaci (3-DAT). Rostliny ošetřené herbicidem CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC všechny uhynuly, u herbicidu BASAGRAN SUPER díky jeho kontaktnímu charakteru některé rostliny přežily a dále rostly což vysvětluje zvýšení hodnot QY v následujících dnech.

**Graf 2.** Subjektivní hodnocení poškození rostlin podle 10-bodové stupnice (10=zdravá) ( $p < 0,05$ )



Při subjektivním hodnocení zdravotního stavu rostlin nedošlo bezprostředně po aplikaci (0-DAT) k žádným průkazným změnám. Pro herbicid BASAGRAN SUPER byl zjištěn průkazný rozdíl oproti kontrolní variantě až v prvním dni po aplikaci, u herbicidů CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC po třech dnech od aplikace.

**Tab. 2.** Hodnoty korelačních koeficientů ( $p < 0,05$ ) mezi hodnotami QY a ostatními hodnocenými parametry

	Subjektivní hodnocení	Výška rostlin	Počet listů > 5 mm
<b>QY-Basagran super</b>	0,43*	0,45*	0,43*
<b>QY-Click 500 SC</b>	0,84*	0,54*	0,63*
<b>QY-Callisto 480 SC</b>	0,94*	0,57*	0,41*

Z dat uvedených v tab. 2. vyplývá, že nejvyšší závislost mezi hodnotami QY byla zjištěna u herbicidů CLICK 500 SC a CALLISTO 480 SC pro subjektivní hodnocení. Pro tyto herbicidy (systémově působící) má parametr QY vysokou vypovídací schopnost z pohledu

kvantifikace herbicidní účinnosti. Naproti tomu u kontaktně působícího herbicidu BASAGRAN SUPER byla hodnota korelačního koeficientu mezi QY a subjektivním hodnocením nižší (korelační koeficient 0,43). Herbicid BASAGRAN SUPER způsobuje poškození rostliny v místě kontaktu účinné látky s rostlinným pletivem, což výsledně může znamenat úplné zničení rostliny, přestože část rostliny nebyla herbicidem ovlivněna. Měření pomocí fluorescenční kamery však toto nezohledňuje, neboť nehodnotí pouze zasaženou část rostliny, ale celkovou plochu rostliny, která je kamerou snímána. Ostatní sledované růstové parametry se ukázaly jako méně vhodné pro vyjádření míry účinnosti herbicidu, o čemž svědčí nižší hodnoty korelačních koeficientů s QY.

*Tab. 3. Dny po aplikaci, kdy byl zjištěn průkazný rozdíl od kontrolní varianty ( $p < 0,05$ ) u jednotlivých parametrů*

	<b>Výška rostlin</b>	<b>Subjektivní hodnocení</b>	<b>Počet listů &gt; 5 mm</b>	<b>QY</b>
<b>Basagran Super</b>	3	1	1	0
<b>Click 500 SC</b>	6	3	3	1
<b>Callisto 480 SC</b>	6	3	6	3

Pro jednotlivé herbicidy z výsledků vyplývá, že průkazně detekovatelné jsou nejdříve pomocí kvantového výtěžku (QY), poté pomocí subjektivního hodnocení, počtu listů větších než 5mm a nakonec výšky rostlin. Z toho vyplývá, že jsme pomocí měření QY schopni u uvedených herbicidů zjistit jejich účinek ještě před viditelnými známkami poškození rostliny.

## **ZÁVĚR**

Velmi důležitým zjištěním vyhodnoceným na základě výsledků získaných z pokusu je fakt, že působení herbicidů se prokazatelně projeví ve změně fluorescence chlorofylu a kamera FluorCam poskytuje dostatečné možnosti pro využití při hodnocení účinnosti herbicidů. Z výsledků dále vyplývá, že měření fluorescence chlorofylu pomocí přístroje FluorCam lze využít k časnému hodnocení účinnosti herbicidů, které ovlivňují fotosyntézu.

Možnost časného stanovení lze velice dobře odůvodnit faktem, že herbicidní efekt lze zachytit ještě před viditelnými projevy účinnosti, a to především právě díky měření fluorescence, která nám podává reference o aktuálním stavu rostliny, kdežto příznaky poškození herbicidem hodnocené subjektivně se projeví až o něco později. Platí to především pro výsledky u kontaktního herbicidu BASAGRAN SUPER a systémového herbicidu CLICK 500 SC, které patří mezi inhibitory fotosyntézy.

FluorCam nám dále umožňuje zachytit rychlost a intenzitu působení herbicidu v jednotlivých částech rostliny. Zvláště u systémových herbicidů je na fluorescenčních fotografiích jasně viditelný rozdíl u mladých částí rostlin, které jsou herbicidem zasaženy nejvíce.

## LITERATURA

- CHRISTEN, D., SCHÖNMANN, S., JERMINI, M., STRASSER, R. J., DÉFAGO, G. (2007): Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress response to esca disease by in situ chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 504-514.
- MOUGET, J.L., TREMBLIN, G., (2002), Chlorophyll fluorescence *in vivo*, *Aquatic Botany* 74, str. 219-231.
- OUKARROUM, A., MADIDI, S. E., SCHANSKER, G., STRASSER, R. J. (2007): Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll *a* fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 438-446.
- PRÁŠIL, O. (2003): Fluorescence chlorofylu jako metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu, *Časopis Živa*, (6), 246-248.
- SOUKUPOVÁ, J., ROHÁČEK, K., (2003), Fluorescence, fotosyntéza a stres: Jak to spolu souvisí?, Ústav fyzikální biologie JU, AVČR, 14 s.
- TÓTH, S. Z., SCHANSKER, G., GARAB, G., STRASSER, R. J. (2007): Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: The role of internal alternative electron donors to photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1767: 295-305.