

# ASSESSMENT OF REDUCED DOSES EFFICACY OF GLYPHOSATE BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE MEASUREMENT

Kocurek V., Smutný V.

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

E-mail: vojtech.kocurek@seznam.cz

---

## ABSTRACT

The aim of this work was to assess herbicide efficacy of reduced doses of herbicide 'Roundup klasik' with active ingredient glyphosate by measuring chlorophyll fluorescence compared to standard methods of assessing. FluorCam device was used for own measurement and three often used doses were tested. Registered 100% dose ( $3.00 \text{ l.ha}^{-1}$ ) and two reduced doses 75% ( $2.25 \text{ l.ha}^{-1}$ ) and 50% ( $1.50 \text{ l.ha}^{-1}$ ). Experimental plants of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) were grown in controlled laboratory conditions to stage of four right leaves and than treated by herbicide. Measurements were carried out in 0, 1, 2, 3, 6, 9 and 15 days after treatment (DAT). Fluorescence parameter called Quantum yield (QY) was selected for the assessment of herbicide efficacy by FluorCam device. Achieved results were compared with subjective assessment and growth parameters.

The obtained results showed that we are able to detect significant differences and the effect of selected herbicide by chlorophyll fluorescence measurement. We can detect significant difference in QY values compared to control variant in 2-DAT for all variants, for subjective assessment in 1-DAT. Statistically significant difference for QY values between 100% and other doses occurred in 3-DAT, for subjective assessment in 2-DAT. Final effect of herbicide was the same for all doses, 100% of weed plants died. Correlation coefficient between QY values and subjective assessment was 0.93 what means strong correlation and resemblance in results assessed by these two methods.

**Key words:** herbicide efficacy, chlorophyll fluorescence, fluorcam, glyphosate

**Acknowledgements:** This study was supported within project No. 2205 - Innovation of herbology subject by visualization of the effects affecting the application of herbicides which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

## ÚVOD

Účinnost herbicidů je posuzována především subjektivním hodnocením ošetřených rostlin. Při tomto hodnocení mohou nastat určité nepřesnosti. 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 (Kocurek, 2008).

Současný trend, nejen v aplikaci herbicidů, je snižování množství účinných látek aplikovaných na zemědělské plochy a tím také snížení zatížení životního prostředí pesticidy a v neposlední řadě úspora finančních nákladů. Sledování účinnosti herbicidů při nižších dávkách než jaké jsou registrovány je jednou z možností, jak toho dosáhnout. Možnost snížení aplikované dávky však záleží na mnoha dalších okolnostech jako jsou například růstová fáze plevele, teplota při a po aplikaci, množství vody aplikované na 1 ha atd. Nicméně využití měření pomocí fluorescenčních parametrů v porovnání se subjektivním hodnocením nám skýtá velmi zajímavou možnost, jak přesněji hodnotit herbicidní účinnost.

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 organismech. Metoda měření fluorescence chlorofylu má několik výhod. Mougeta a Tremblin (2002) uvádějí, že je to metoda nedestruktivní, neinvazivní, rychlá a zároveň velmi citlivá. Používá se ve velké míře k časné detekci abiotického i biotického stresu (vysoká teplota, mráz, sucho, nedostatek živin, infekce, působení herbicidů aj.); (Oukarroum a kol., 2007, Tóth a kol., 2007, Christen a kol., 2007).

## MATERIÁL A METODIKA

Vlastní pokusy měření byly realizovány v herbologické laboratoři Ústavu agrosystémů a bioklimatologie MZLU v Brně. Jako pokusný materiál byly vypěstovány rostliny laskavce ohnutého (*Amaranthus retroflexus*) do fáze 4 plně vyvinutých pravých listů. Tyto rostliny byly pěstovány v růstovém boxu v kontrolovaných a stálých pěstebních podmínkách. Osivo laskavce bylo získáno z rostlin v plné zralosti na pokusné stanici v Žabčicích. Semena byla vyseta do plastových květináčů černé barvy o straně 8 cm s perforovaným dnem. Do každého květináče bylo vyseto 5 - 10 semen. Laskavec byl vyset do směsi zahradnického substrátu a písku v poměru 2:1. Z několika vzešlých rostlin byla ponechána vždy 1 rostlina / květináč. Květináče byly umístěny na plastových platech s nasávkovou textilí na dně, která po pravidelném zalévání sloužila jako dlouhodobější zdroj vody pro rostliny laskavce. Pro postřik byl použit ruční elektrický postřikovač SOLO SPRAYSTAR 460 o objemu 1 litr (Kocurek, 2008). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí analýzy variance a na základě korelačních koeficientů (viz. tab. 2.).

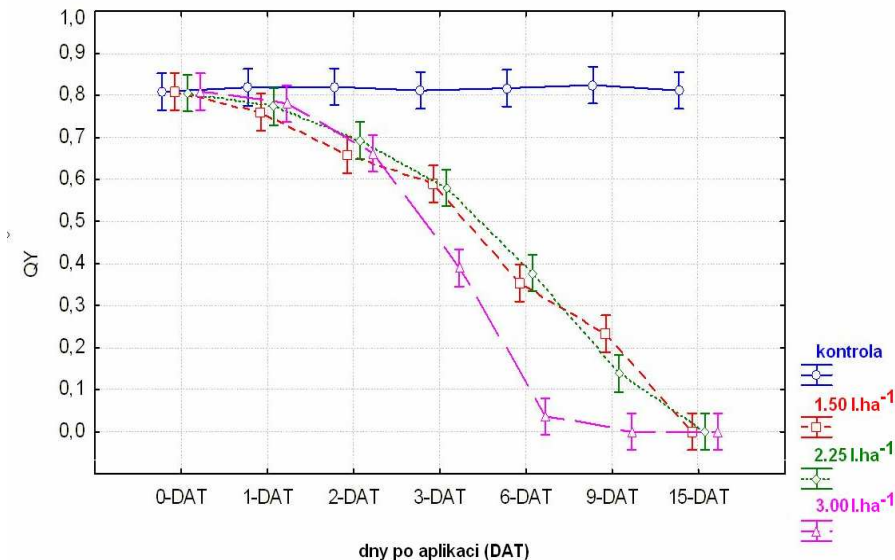
Herbicid Roundup klasik je postřikový neselektivní herbicid se systémovým účinkem pro aplikaci na list, určený k hubení širokého spektra jednoletých a víceletých plevelů. Obsahuje účinnou látku

glyphosate-IPA (480g) a je řazen do skupiny derivátů kyseliny fosforečné. Pro tento pokus byly sledovány 3 různé dávky tohoto herbicidu ( $3,00 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1} / 200 \text{ l}$  vody,  $2,25 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1} / 200 \text{ l}$  a  $1,50 \text{ l}\cdot\text{ha}^{-1} / 200 \text{ l}$ ). Je používán k hubení vytrvalých a jednoletých plevelů na orné půdě, v ovocných sadech, vinohradech, v okrasných kulturách a k likvidaci nežádoucí vegetace na ostatních plochách. Rostliny ho přijímají výhradně zelenými částmi, listy a oddenky a asimilačním prouděním je rozveden do celé rostliny. Příznaky působení jsou postupné vadnutí, žloutnutí, zasychání až zhnědnutí zasažených rostlin během 10 - 14 dnů.

Samotné měření probíhalo s měřicím přístrojem „FluorCam“. 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 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 (viz. graf 1.) a současně byly také hodnoceny růstové charakteristiky (výška rostlin, počet listů větších než 5 mm) (viz tab. 2.) a subjektivní hodnocení poškození rostlin (viz. graf 2.) podle vytvořené desetibodové stupnice (10 = zdravá rostlina, 1 = mrtvá rostlina), která zohledňuje typ herbicidu a jeho charakteristický způsob účinku (Kocurek, 2008).

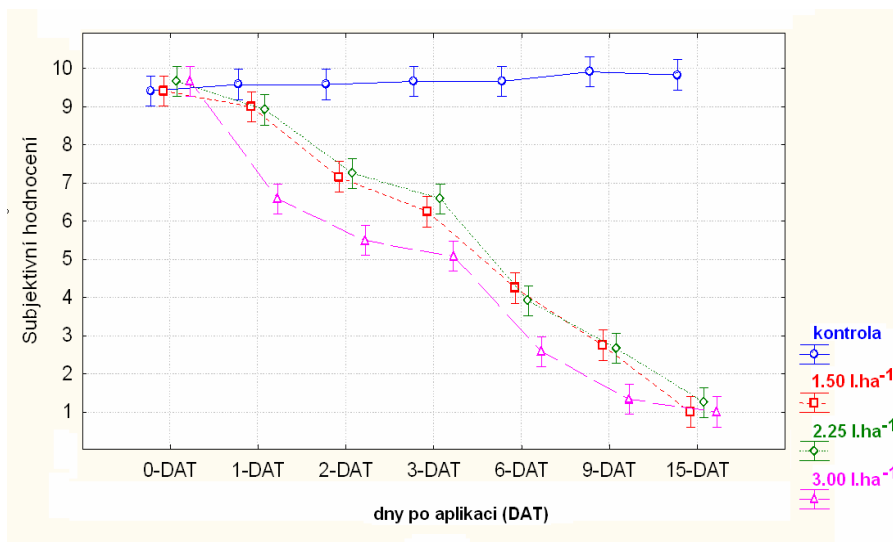
## VÝSLEDKY A DISKUZE

*Graf 1 Průměrné hodnoty kvantového výtěžku (QY) pro jednotlivé dávky herbicidu Roundup Klasik ( $p < 0,05$ )*



Z naměřených hodnot vyplývá, že hodnoty QY se statisticky průkazně lišily od kontrolní varianty již ve 2-DAT u všech dávek herbicidu Roundup klasik. Statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými dávkami byl zjištěn ve 3-DAT, kdy se lišila nejvyšší dávka ( $3,00 \text{ l.ha}^{-1}$ ) od obou nižších dávek ( $2,25 \text{ l.ha}^{-1}$  a  $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$ ). V 9-DAT již byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi všemi variantami. V termínu 15-DAT už všechny varianty nejevily žádný statistický rozdíl, protože rostliny u všech variant byly usmrceny.

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



Pomocí subjektivního hodnocení ošetřených rostlin bylo zjištěn statisticky průkazný rozdíl od kontroly již v 1-DAT pro nejvyšší dávku ( $3,00 \text{ l.ha}^{-1}$ ), pro dávky  $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$  a  $2,25 \text{ l.ha}^{-1}$  byl tento rozdíl zjištěn až 2-DAT. Statisticky průkazný rozdíl mezi jednotlivými dávkami herbicidu Roundup klasik byl zjištěn již 1-DAT u dávky ( $3,00 \text{ l.ha}^{-1}$ ), mezi dávkami  $1,50 \text{ l.ha}^{-1}$  a  $2,25 \text{ l.ha}^{-1}$  nebyl v průběhu sledování zjištěn žádný statisticky průkazný rozdíl. V termínu 15-DAT již došlo k usmrcení rostlin ve všech ošetřených variantách a nebyly tudíž zjištěny statistické rozdíly mezi jednotlivými dávkami

Tab. 1 Hodnoty korelačních koeficientů ( $p < 0,05$ ) mezi hodnotami QY a ostatními hodnocenými parametry

	Výška rostlin	Subjektivní hodnocení	Prům. šířka 4 nejstarších listů	Počet listů > 5mm
QY - kvantový výtěžek	0,79 *	0,93 *	0,50 *	0,63 *

Z hodnot uvedených v tab. 2. vyplývá, že nejvyšší korelační koeficient byl zjištěna mezi hodnotami QY a subjektivního hodnocení. Pro ostatní parametry byla hodnota korelačního koeficientu s hodnotami QY takéž průkazná, ale nedosahovala takové síly jako u subjektivního hodnocení.

Tab. 2. Zobrazení statisticky průkazných rozdílů jednotlivých variant ( $p < 0,05$ ) pro všechny sledované parametry v 1-15 DAT

DAT	Výška rostlin							Subjektivní hodnocení							QY							Počet listů > 5mm						
	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15	0	1	2	3	6	9	15
kontrola	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	
3,00 l.ha <sup>-1</sup>	a	b	b	bc	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	a	a	b	b	b	b	b	a	a	a	b	b	b	b
2,25 l.ha <sup>-1</sup>	a	a	a	bc d	b	b	b	a	a	b	b	b	b	b	a	a	b	b	b	c	b	a	a	a	a	b	b	b
1,50 l.ha <sup>-1</sup>	a	a	a	d	b	b	b	a	a	c	c	c	c	b	a	a	b	c	c	d	b	a	a	a	a	c	c	c

\* pozn.- stejné písmeno znamená, že nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl  
 \* parametry QY a subjektivní hodnocení jsou již popsány v grafech 1 a 2

U výšky rostlin, jako dalšího sledovaného parametru, byl statisticky průkazný rozdíl od kontroly u dávky 3,00 l.ha<sup>-1</sup> od 1-DAT, u ostatních dávek ve 3-DAT. Jednotlivé ošetřené varianty se od sebe průkazně liší pouze v termínech 1, 2-DAT (dávka 3,00 l.ha<sup>-1</sup> se liší od dávek 1,50 l.ha<sup>-1</sup> a 2,25 l.ha<sup>-1</sup>) a v termínu 3-DAT, kde se od sebe průkazně liší varianty 3,00 l.ha<sup>-1</sup> a 1,50 l.ha<sup>-1</sup>). U parametru počet listů větších než 5mm byl shledán statisticky průkazný rozdíl až v termínu 3-DAT (dávka 3,00 l.ha<sup>-1</sup> se lišila od všech ostatních variant včetně kontroly). V termínech 6, 9, 15-DAT byl průkazný rozdíl všech ošetřených variant oproti kontrole a zároveň se dávka 3,00 l.ha<sup>-1</sup> průkazně lišila od dávek 1,50 l.ha<sup>-1</sup> a 2,25 l.ha<sup>-1</sup>).

## ZÁVĚR

Na základě získaných výsledků získaných z pokusu bylo zjištěno, že působení herbicidu Roundup klasik se prokazatelně projevilo ve změně hodnot kvantového výtěžku (QY), subjektivního hodnocení a všech hodnocených růstových charakteristik. Měření parametrů fluorescence chlorofylu pomocí kamery FluorCam je proto vhodné pro hodnocení účinnosti herbicidů s účinnou látkou glyphosate.

Dále bylo zjištěno, že změny hodnocené subjektivním hodnocením a pomocí QY jsou zaznamenatelné nejdříve ze všech sledovaných parametrů. Hodnoty všech parametrů statisticky průkazně korelují se standardním subjektivním hodnocením, přičemž QY vykazuje hodnoty nejvyšší, což znamená vysokou vypovídací schopnost tohoto parametru.

Jednotlivé dávky herbicidu Roundup klasik se od sebe odlišují především v rychlosti nástupu účinnosti a jejího průběhu v období 2-9 DAT. Nejrychlejší efekt v tomto pokusu nastal u nejvyšší dávky (3,00 l.ha<sup>-1</sup>). Pro dosažení cíleného efektu herbicidu (jímž je smrt rostliny) dostačují všechny testované dávky. Termín pro usmrcení 100 % testovaných rostlin byl 15-DAT.

## 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 OLCJIP 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, 14s.

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.

Kocurek, V., Smutný, V., Křen, J. (2008): Hodnocení účinnosti herbicidů pomocí měření fluorescence chlorofylu. Sborník konference MendelNet '08Agro, [CD-ROM] str. 1-7, ISBN 978-80-7375-239-2.