

# USE OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE METHOD FOR OPTIMIZATION HERBICIDE DOSES

## VYUŽITÍ METODY FLUORESCENCE CHLOROBYLU K OPTIMALIZACI DÁVEK HERBICIDŮ

**Vondra M., Křen J., Smutný V.**

Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

E-mail: xvondra@mendelu.cz, kren@mendelu.cz, smutny@mendelu.cz

---

### ABSTRACT

Herbicide efficacy of two different active ingredients was measured by PS1-meter on redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) in pot experiment. There were used herbicides CALLISTO 480 SC (mesotrione, group of triketons) + ATPLUS 463 (surfactant) in three doses (0.25 – 0.1875 a 0.1250 l.ha<sup>-1</sup>) and herbicide BASAGRAN SUPER (bentazone, group of photosynthesis inhibitors) in three doses (2.0 – 1.5 – 1.0 l.ha<sup>-1</sup>). The obtained results showed that dose 0.125 l.ha<sup>-1</sup> by herbicide CALLISTO 480 SC and 1.0 l.ha<sup>-1</sup> by BASAGRAN SUPER had the same herbicide efficacy as registered dose. The statistically significant differences between herbicide doses were not found in any measurements after treatment (1, 4, 6, and 8 days after treatment). The differences by dry aboveground matter of weeds which assessed herbicide efficacy were not statistically different as well. PS1-meter is a good tool for measurement herbicide efficacy by herbicide BASAGRAN SUPER and CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 a few days after treatment.

**Keywords:** herbicide efficacy, CALLISTO 480 SC, BASAGRAN SUPER, PS1-meter, redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*)

### ABSTRAKT

V nádobovém pokusu byla měřena účinnost herbicidních látek na plevelný druh laskavec ohnutý pomocí přístroje PS1-meter. Použitými herbicidy byly CALLISTO 480 SC (skupina triketony) v dávkách (0,25 - 0,1875 a 0,1250 l.ha<sup>-1</sup>) a herbicid BASAGRAN SUPER (skupina herbicidů inhibujících fotosyntézu) v dávkách (2,0 – 1,5 – 1,0 l.ha<sup>-1</sup>). Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že z hlediska účinnosti byla u herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 dostačující dávka 0,125 l.ha<sup>-1</sup> a u herbicidu BASAGRAN SUPER pak dávka 1,0 l.ha<sup>-1</sup>, tzn., že byly dostatečné poloviční dávky při porovnání s dávkou registrovanou. Ani u jednoho z termínů měření tj. (1, 4, 6, a 8 den po aplikaci) nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými dávkami herbicidů. Rozdíly v množství sušiny nadzemní hmoty plevelů, které lze považovat za vyjádření biologické účinnosti, nebyly taktéž statisticky průkazné. Přístroj PS1-meter lze použít k měření účinnosti herbicidů BASAGRAN SUPER

(skupina inhibující fotosyntézu) a CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 (skupina triketony) již několik dní po aplikaci.

**Klíčové slova:** účinnost herbicidů, CALLISTO 480 SC, BASAGRAN SUPER, PS1-meter, laskavec ohnutý (*Amaranthus retroflexus*)

## ÚVOD

Herbicidy jsou v současné době základem chemické regulace plevelů. Při jejich nesprávném použití může dojít nejen k přímému poškození plodiny, ale i životního prostředí (znečištění půdy, vody a ovzduší). Předpokladem efektivní aplikace herbicidů je tak stanovení optimální dávky, která je dostačující k potlačení plevelů v pěstovaných plodinách. K exaktnímu vyjádření rozdílů mezi účinností odstupňovaných dávek různých herbicidů je zapotřebí použití citlivých metod, umožňujících zároveň rychlé měření. Jednou z možností je uplatnění metody založené na exaktním měření fluorescence chlorofylu.

Měření fluorescence chlorofylu je využíváno ke kvantifikaci různých faktorů, které ovlivňují fotosyntézu. Tímto způsobem lze stanovit vyzrálост semen (Jalink et al., 1998), kvalitu ovoce a zeleniny při skladování (Toivonen a DeEll, 1998), ale i účinnost herbicidů, inhibujících fotosyntézu (Kempenaar et al., 2002). Na pracovišti v Nizozemí (Plant Research International ve Wageningen) je princip měření účinnosti fotosyntézy základem pro použití nízkých dávek herbicidů. Tzv. Minimum Lethal Herbicide Dose method (MLHD) umožňuje výpočet minimální dávky herbicidu ze skupiny inhibitorů fotosyntézy potřebné k regulaci plevelů na daném pozemku (Haage et al., 2002). Dávka herbicidu je stanovena v závislosti na plevelném druhu a jeho růstové fázi.

V řadě prací je metoda chlorofylové fluorescence používána k detekci rezistentních plevelů (např. Chodová et al., 1995; Norsworthy et al., 1998). Prášil (2003) uvádí, že měření variabilní fluorescence chlorofylu nalézá stále větší uplatnění v rostlinné fyziologii a v ekofyziologii fotosyntézy při sledování procesů, které s fotosyntézou přímo či nepřímo souvisejí. Využívá se nejen v základním výzkumu (změny fotosyntézy na mikroskopické úrovni chloroplastů až po rostlinná společenství), ale i v celé řadě aplikací (např. diagnostika a selekce odolných kultivarů zemědělských plodin, nebo měření produktivity v hlubinách oceánů).

Cílem nádobového pokusu bylo ověření použitelnosti přístroje PS1-meter ke stanovení účinnosti odstupňovaných dávek herbicidů CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 (smáčedlo) a BASAGRAN SUPER na laskavec ohnutý (*Amaranthus retroflexus*).

## MATERIÁL A METODIKA

Vegetační nádobový pokus byl založen ve skleníku Státní rostlinolékařské správy v Brně. Semena laskavce ohnutého byla vyseta dne 27.4.2005 do nádob o průměru 10 cm. K výsevu byl použit zahradnický substrát smíchaný v poměru 2:1 s pískem. Každá varianta

byla tvořena 8 nádobami (opakování). Do každé nádoby bylo vyseto 5 – 10 semen. Po jejich vzejití se provedlo prothání tak, aby v každé nádobě zůstala pouze jedna rostlina. Semena laskavce ohnutého byla získána ve fázi plné zralosti na rostlinách rostoucích na polích v okolí Brna. K ověření účinnosti na laskavec ohnutý byly vybrány herbicidy CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 a BASAGRAN SUPER (tab. 1).

CALLISTO 480 SC je systémový herbicid, který obsahuje účinnou látku mesotrione 480 g, která patří do skupiny triketonů. Vývoj této účinné látky byl inspirován přírodní látkou, kterou vylučuje rostlina *Callistemon citrinus* (štětkovec). Herbicid CALLISTO 480 SC je určen k pre- a postemergentnímu hubení jednoletých dvouděložných a trávovitých plevelů v kukuřici. Účinná látka je přijímána listy i kořeny, v rostlinách se šíří akropetálně a basipetálně. Účinek se projevuje zbělením listů a nekrózami pletiv zasažených plevelů. Symptomy jsou patrné již za 3 až 7 dní po aplikaci.

BASAGRAN SUPER je kontaktní postemergentní herbicid s účinnou látkou bentazon 480 g řazenou do skupiny inhibitorů fotosyntézy. Rostlinou je přijímán hlavně přes listy, částečně však přes kořeny. Příjem listy je zpravidla rozhodující, účinek je rychlejší. Důležité je aby rostlina měla dostatek listové plochy, jenž by herbicid přijala k dosažení spolehlivého účinku. Účinek se projevuje zbělením, omezením fotosyntézy, a to poškozením buněčných membrán a poruchami transportu elektronů i specifických reakcí CO<sub>2</sub>.

Vlastní aplikace přípravků byla provedena dne 19.5.2005 ručním zádovým postřikovačem SOLO 425 při aplikačním tlaku 0,2 MPa a dávce vody 230 l.ha<sup>-1</sup>. Rostliny laskavce ohnutého měly vytvořeny 4 pravé listy. Během vegetace byly rostliny v pravidelných intervalech zalévány.

Tab. 1 Přehled variant pokusu– laskavec ohnutý

| varianta | použitý herbicid             | dávka (l.ha <sup>-1</sup> ) |
|----------|------------------------------|-----------------------------|
| 1        | Neošetřeno                   | -                           |
| 2        | CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,25 + (0,5 %)              |
| 3        | CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,1875 + (0,5 %)            |
| 4        | CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,125 + (0,5 %)             |
| 5        | BASAGRAN SUPER               | 2                           |
| 6        | BASAGRAN SUPER               | 1,5                         |
| 7        | BASAGRAN SUPER               | 1                           |

Míra poškození fotosyntetického aparátu byla měřena pomocí přístroje PS1-meter v termínech 1., 4., 6. a 8. den po aplikaci. Hodnocení růstu (měření velikosti listů) se provádělo 1., 4., 6. den po aplikaci vždy u čtyř vybraných rostlin.

PS1-meter je přenosný přístroj, který byl vyvinutý na pracovišti ve Wageningen (Nizozemí). Od roku 2002 je používán k měření u fotosynteticky inhibujících herbicidů na Plant Research International ve Wageningen. Přístroj měří % poškození fotosyntetického

aparátu. Předností je možnost měření v polních podmínkách, kdy je list zachycen do „klapky“ (měření není ovlivněno okolním světlem), dále jeho cena a v neposlední řadě rychlost měření. Podle metodiky vypracované v Nizozemí, se měří tzv. nejmladší měřitelný list (minimální velikost listu, který je přístroj schopen změřit je 1 – 2 mm) a přístroj vykazuje hodnoty v rozmezí 0 – 100 (tab. 2).

*Tab. 2 Kategorizace poškození fotosyntetického aparátu*

| hodnoty naměřené přístrojem PS1-meter | předpokládaný efekt na rostlinu                    |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 0 - 15                                | žádný efekt                                        |
| 15 - 30                               | nízký efekt ( redukce fotosyntézy o 20 %)          |
| 30 - 50                               | mírný efekt (redukce fotosyntézy o 40 %)           |
| >50                                   | vysoký efekt (redukce fotosyntézy o více jak 40 %) |

Hodnoty naměřené přístrojem PS1-meter u jednotlivých variant byly porovnávány s intenzitou růstu laskavce ohnutého (počítány listy větší než 1 cm). Po 10 dnech po provedené aplikaci byla u pokusných rostlin plevelů sklizena nadzemní hmota.

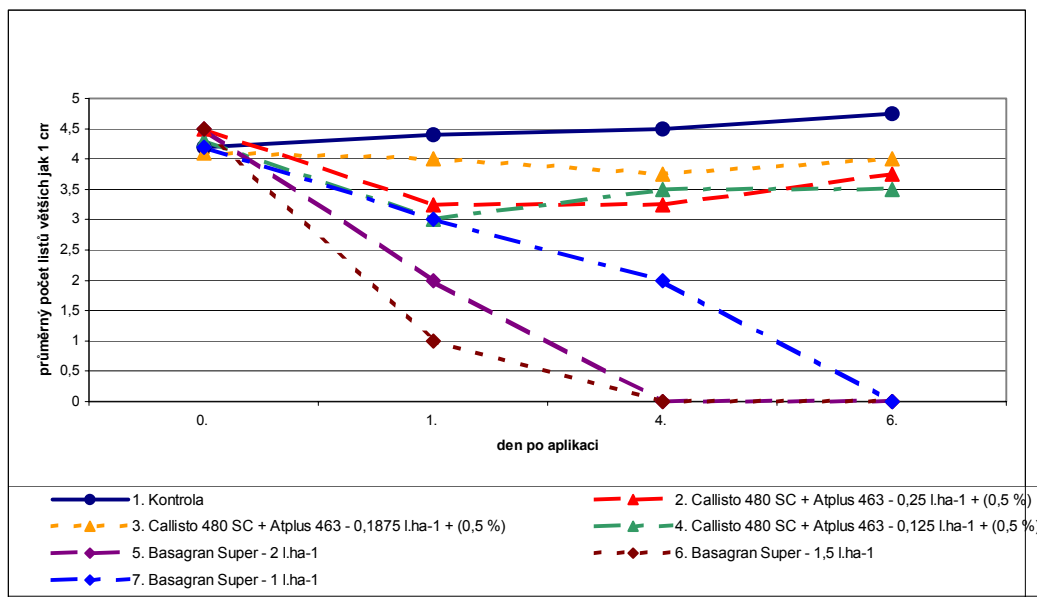
Všechny získané výsledky byly statisticky zhodnoceny analýzou rozptylu v počítačovém programu Unistat. Pro ověření průkaznosti rozdílů středních hodnot jednotlivých variant byla použita metoda minimální průkazné difference (LSD test).

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování účinnosti tří odstupňovaných dávek herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 na laskavec ohnutý byly zjištěny pouze zanedbatelné rozdíly mezi jednotlivými dávkami. U nejvyšší dávky (0,25 l.ha<sup>-1</sup>) došlo již čtvrtý den po aplikaci k zastavení růstu nových listů. Růst starších listů byl zastaven šestý den po aplikaci. U střední dávky (0,1875 l.ha<sup>-1</sup>) docházelo již po čtyřech dnech k zastavení růstu nových i starších listů. Nejnižší dávka (0,125 l.ha<sup>-1</sup>) byla charakterizována zastavením růstu nových listů po čtyřech dnech a šestý den po aplikaci byl růst rostliny zcela zastaven (viz graf 1). Ani u jednoho z termínů měření nebyly mezi jednotlivými dávkami herbicidů zjištěny statisticky průkazné rozdíly u hodnot naměřených přístrojem PS1-meter (LSD test,  $P < 0,05$ ).

Při použití herbicidu BASAGRAN SUPER byla zjištěna již druhý den po aplikaci dostačující účinnost u všech testovaných herbicidních dávek a již čtvrtý den po aplikaci došlo k úplnému zastavení růstu. Ani v tomto případě nebyly mezi jednotlivými dávkami herbicidů u žádného z termínů měření zjištěny statisticky průkazné rozdíly u hodnot naměřených přístrojem PS1-meter (LSD test,  $P < 0,05$ ).

**Graf 1 Růst laskavce ohnutého po aplikaci herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 a BASAGRAN SUPER**



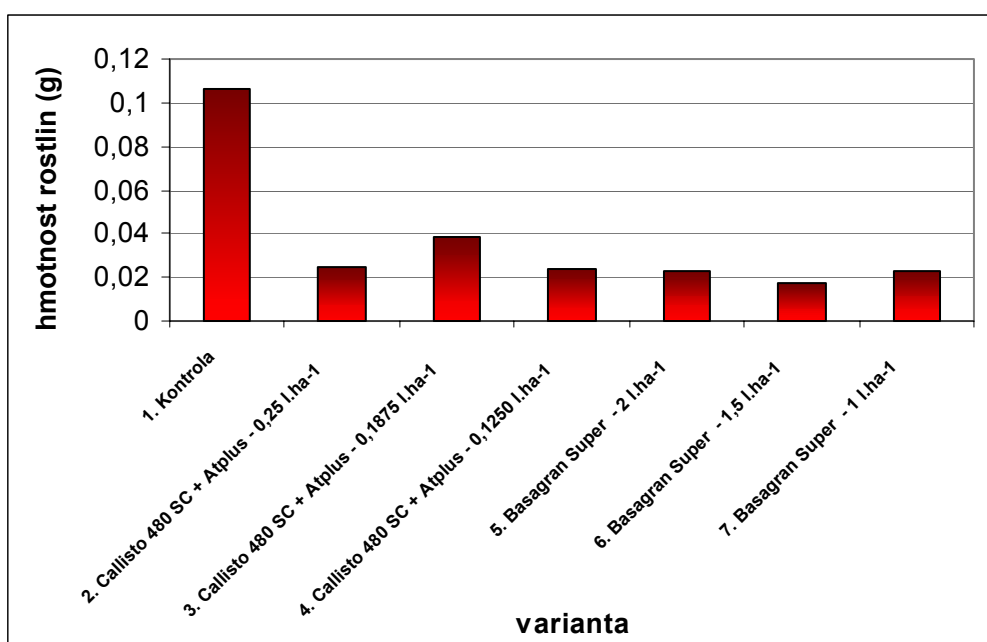
Z tab. 3 jsou dobře patrné rozdíly u hodnot naměřených PS1-metrem mezi variantami s přípravkem CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 a BASAGRAN SUPER. První den po aplikaci se hodnoty u variant 2, 3 a 4 pohybovaly mezi 15,13 – 22,13 na rozdíl od variant 5, 6 a 7 (84,63 – 88,38). Tyto rozdíly korespondují s výše uvedenými výsledky (graf 1) ovlivnění růstu a zároveň potvrzují odlišnost aplikovaných účinných látek. Pozvolný účinek u přípravku CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 souvisí se skutečností, že se jedná o systémový přípravek, který je postupně rozváděn do všech částí rostliny. Naopak příčinou velmi rychlého účinku u přípravku BASAGRAN SUPER je kontaktní působení přímo v místě zasaženém touto herbicidní látkou. Z metodického hlediska lze doporučit měření přístrojem PS1-meter 1 den po aplikaci u kontaktních přípravků, u systémových pak 4 dny po aplikaci. V dalším výzkumu by bylo přínosem ověřit možnost měření 2 či 3. den po aplikaci u systémových přípravků. Při použití redukováných dávek herbicidů je třeba mít informace o účinnosti co nejdříve po aplikaci.

**Tab. 3 Naměřené průměrné hodnoty (PS1-meter) – laskavec ohnutý**

| varianta                        | dávka<br>(l.ha <sup>-1</sup> ) | dní po aplikaci |        |        |        |
|---------------------------------|--------------------------------|-----------------|--------|--------|--------|
|                                 |                                | 1 den           | 4 dny  | 6 dní  | 8 dní  |
| 1. KONTROLA                     | neošetřeno                     | 7,75            | 7,50   | 8,25   | 7,50   |
| 2. CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,25 + (0,5 %)                 | 15,13           | 91,75  | 87,13  | 100,00 |
| 3. CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,1875 + (0,5 %)               | 18,88           | 87,25  | 92,50  | 100,00 |
| 4. CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 | 0,125 + (0,5 %)                | 22,13           | 88,75  | 86,75  | 100,00 |
| 5. BASAGRAN SUPER               | 2,0                            | 87,13           | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| 6. BASAGRAN SUPER               | 1,5                            | 88,38           | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| 7. BASAGRAN SUPER               | 1,0                            | 84,63           | 100,00 | 100,00 | 100,00 |

Graf 2. vyjadřuje suchou hmotnost nadzemní biomasy rostlin laskavce ohnutého na jednotlivých variantách 10 dní po aplikaci. U herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 představovala hmotnost rostlin na variantě 2 23,21 % hmotnosti rostlin neošetřených (varianta 1). U varianty 3 pak 36,16 % a u varianty 4 pak 22,53 %. U herbicidu BASAGRAN SUPER bylo u varianty 5 dosaženo 21,80 %, u varianty 7 21,68 % a u varianty 6 16,32 %. Výše uvedené rozdíly u suché hmotnosti nadzemní biomasy mezi jednotlivými variantami aplikace herbicidů, které lze považovat za vyjádření biologické účinnosti, nebyly statisticky průkazné.

*Graf 2 Průměrná suchá hmotnost nadzemní biomasy rostlin laskavce ohnutého na sledovaných variantách 10 dní po aplikaci*



Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že z hlediska účinnosti byla u herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 dostačující dávka 0,125 l.ha-1 a u herbicidu BASAGRAN SUPER pak dávka 1,0 l.ha-1, tzn., že poloviční dávky byly v účinnosti srovnatelné s dávkami registrovanými. K podobným výsledkům dospěli na pracovišti Plant Research International ve Wageningen (Nizozemí), kde se zabývali především působením účinných látek herbicidů ze skupiny inhibitorů fotosyntézy např. (metribuzin, metamitron, linuron atd.) na lilek černý, merlík bílý, rdesno červivec. Např. u konopí setého pěstovaného na těžké půdě uvádějí u přípravku BASAGRAN SUPER redukcí dávky o 20 % oproti dávce registrované při současném zvýšení výnosu o 21 %. Petersen (2004) uvádí, že k dostatečné účinnosti herbicidů postačí i dávky redukované na 30 % dávky registrované. Je taktéž nutno podotknout, že námi dosažené výsledky byly získány ve skleníkových podmínkách, kde jsou do jisté míry eliminovány faktory, které mohou negativně ovlivňovat účinnost po aplikaci v polních podmínkách (děšť po aplikaci, nižší teplota, vítr).

Přínos námi zjištěných výsledků rozšiřuje využitelnost přístroje PS1-meter pro objektivní hodnocení účinnosti odstupňovaných dávek herbicidů ze skupiny triketonů, a tím i uplatnění MLHD metody u této skupiny herbicidů.

## ZÁVĚR

Bylo zjištěno, že přístroj PS1-meter lze použít k měření účinnosti odstupňovaných dávek vybraných herbicidů BASAGRAN SUPER (skupina inhibující fotosyntézu), ale i herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 (skupina triketony) již několik dní po aplikaci. Ve skleníkových podmínkách byla z hlediska účinnosti na laskavec ohnutý u herbicidu CALLISTO 480 SC + ATPLUS 463 dostačující dávka  $0,125 \text{ l.ha}^{-1}$  a u herbicidu BASAGRAN SUPER pak dávka  $1,0 \text{ l.ha}^{-1}$ , tzn., že byly dostatečné poloviční dávky při porovnání s dávkou registrovanou. Zjištěné rozdíly hodnot mezi jednotlivými dávkami herbicidů naměřených pomocí přístroje PS1-meter nebyly ani u jednoho z termínů měření tj. (1, 4, 6, a 8 den po aplikaci) statisticky průkazné.

## LITERATURA

Haage, I. C. P., Bastiaans, L., Kempenaar, C. (2002): Exploring options for improved low dose application based on the MLHD-technology. In *Proceedings 12<sup>th</sup> Symposium European Weed Research Society*, Wageningen UR, 200-201.

Chodová, D., Mikulka, J., Kočová, M. (1995): Comparison of chlorophyll fluorescence and chlorophyll content in triazine-resistant and -susceptible common groundsel (*Senecio vulgaris*). *Ochrana Rostlin*, 31: 185-194.

Jalink, H., van der Schoor, Frandas, A., van Pijlen, J. G. (1998): Chlorophyll fluorescence of Brassica oleracea seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. *Seed Science Research*, (8), 437-443.

Kempenaar, C., Groeneveld, R. M. W., Uffing, A. J. M., van der Weide, R. Y., Wevers, J. (2002): New insights and developments in the MLHD-concept of weed control. In *Proceedings 12<sup>th</sup> Symposium European Weed Research Society*, Wageningen UR, 98-99.

Norsworthy, J. K., R. Talbert E., and R. Hoagland E. (1998): Chlorophyll fluorescence for rapid detection of propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Weed Science*. 46: 163-169.

Prášil, O. (2003): Fluorescence chlorofylu jako metoda studia fotosyntézy a diagnostiky porostu. *Živa*, (6), 246-248.

Toivonen, P. M. A., DeEll, J. R. (1998): Differences in chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of broccoli associated with maturity and sampling section. *Postharvest Biology and Technology*, (14), 61-64.

Petersen, J. (2004): Reducing herbicide use in sugar beet towards the absolute minimum – MLHD-method as a possible way? *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. (Special Issue 19) : 959-967.