

DELOVANJE ATRAZINA NA FOTOSINTEZU NEKIH LINIJA I HIBRIDA KUKURUZA*

LIDIJA STEFANOVIĆ i MARIJANA PLESNIČAR

(Institut za kukuruz, Zemun i Zavod za pesticide — INEP, Zemun)

Primljeno 15. 10. 1975.

Uvod

Delovanje 40—45% komercijalnih herbicida, prema podacima B ü c h e l a (1972), zasniva se na inhibiciji procesa fotosinteze. U tu grupu spadaju i jedinjenja na bazi triazina, među kojima je najšire korišćen herbicid atrazin.

M o r e l a n d sa saradnicima (1959) navodi da herbicidi iz te grupe inhibiraju fotohemijsku aktivnost izolovanih hloroplasta. Primarno mesto delovanja atrazina locirano je u hloroplastima, kako kod otpornih, tako i kod osetljivih biljaka (M e r e ž i n s k i j, 1971).

U usevima kukuruza, danas se, uglavnom, koristimo herbicidima, koji pripadaju grupi triazina. Ta jedinjenja, koja se primenjuju tretiranjem zemljišta, odlikuju se velikom selektivnošću, naročito u odnosu na kukuruz. Dokazano je da ta biljka poseduje sposobnost da još u korenovom sistemu razgradi triazinska jedinjenja do netoksičnih sastojaka (S h i m a b u k u r o i S w a n s o n, 1969). S obzirom na mehanizme koji u ovoj biljci sprečavaju prodiranje atrazina do lista, potrebne su znatno veće količine herbicida da bi došlo do njegovog nagomilavanja u listu i negativnog delovanja.

Međutim, iako je biljka kukuruza otporna prema herbicidima iz grupe triazina, uočena je različita reakcija kod raznih hibrida, a naročito samooplodnih linija, na prisustvo herbicida (A n d e r s e n 1964, E a s t i n 1971).

Neke linije sporije razgrađuju ovo jedinjenje nego što ga usvajaju, tako da se ono nagomilava u listu, gde ispoljava svoje fitotoksično dejstvo.

Kako je na ovom problemu malo rađeno, cilj ovih istraživanja bio je da se utvrdi da li pod dejstvom atrazina dolazi do promena fotohemijskih aktivnosti i sadržaja hlorofila nekih naših samooplodnih linija i hibrida kukuruza.

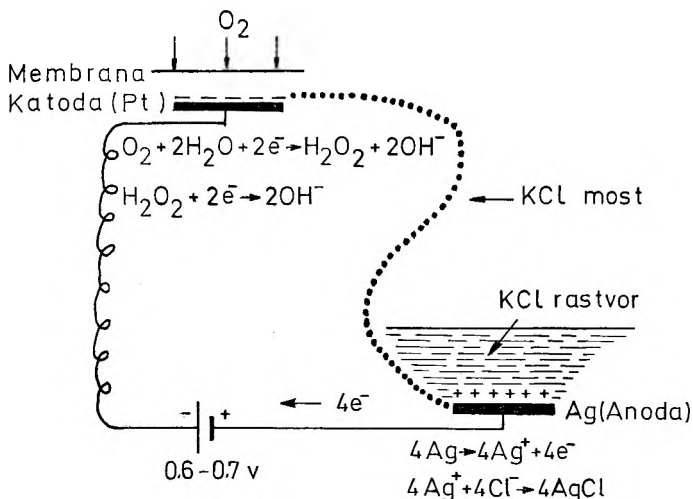
* Rad saopšten na II simpozijumu Jugoslovenskog društva za biljnu fiziologiju, Stubičke Toplice, 20—23. 5. 1975.

Materijal i metodi

U eksperimentima su upotrebljena dva jednostruka hibrida kukuruza selekcionisana u Institutu za kukuruz u Zemun Polju i četiri samooplodne linije.

Ispitivani hibridi, kao i njihove roditeljske komponente, pripadaju raznim sistematskim grupama. Hibrid ZP SC 666 t (ZP TD 191 × C 103) je tipa tvrduca (*Zea mays indentata* Sturt.). Sama ta činjenica ukazuje na to da se oni međusobno razlikuju morfološki i fiziološki.

Biljke su gajene na peščanoj kulturi u kontrolisanim uslovima. Dužina dana iznosila je 12 časova, sa temperaturom od 25 °C, a dužina noći 12 časova sa temperaturom od 18 °C. Relativna vlažnost je 75%.



Sl. 1. Reakcija na elektrodi prema Delieu i Walkeru (1972)
Fig. 1. Reaction on electrodes after Delieu and Walker (1972)

Atrazin je upotrebljen u koncentraciji od 1.02×10^{-4} mola/2,7 kg peska/10 biljaka, koja predstavlja granicu maksimalne rastvorljivosti ovog jedinjenja u vodi.

I kontrolne i tretirane biljke su gajene do faze trećeg lista. Za analizu je uziman drugi list. Hloroplasti mezofila lista su izolovani po modifikovanoj metodi Woo et al. (1970), uz korišćenje medijuma po metodi Plesničarove i Bendalla (1973).

Oslobađanje kiseonika u suspenziji osvetljenih hloroplasta u prisustvu kalijumfericijanida, kao primaoca elektrona, praćeno je primenom kiseonične katode, »Clarckov« tip. Ta elektroda se sastoji od srebrne anode i platinske katode, povezanih preko KCl mosta, a odvojenih od reakcionog medijuma membranom, propustljivom za kiseonik (sl. 1).

Primenom napona između elektroda, platinska elektroda dobija negativno, a srebrna pozitivno naelektrisanje. Kiseonik iz rastvora, koji

protiče kroz membranu, redukuje se na površini platine i jačina struje, koja protiče kroz kolo, je stehiometrijski povezana sa količinom redukovano g kiseonika na katodi.

Tokom eksperimenta u reakcionom medijumu (50 mM triclin, 10 mM fosfatni pufer pH 7,8, 1 mM $MgCl_2$), merena je osnovna, ADP, NH_4Cl stimulisana brzina, kao i sinteza ATP.

Sadržaj hlorofila posle ekstrakcije lista kukuruza u 80% acetonu odredivan je po metodi MacKineeya (1941).

Rezultati

Klasična i najčešće primenjivana metoda za praćenje Hillove reakcije je spektrofotometrijsko merenje redukcije kalijumfericijanida. Sl. 2. prikazuje redukciju $K_3/Fe(CN)_6/$ merenu spektrofotometrijski u prisustvu hloroplasta i svetlosti. Apsorpcija se meri na talasnoj dužini od 420 nm. Sl. 3 prikazuje vremenski tok oslobađanja kiseonika, merenog kiseoničnom katodom. Tom polarografskom metodom koristili smo se u našim eksperimentima. Na slici 2. i slici 3., vidi se stimulacija elektronskog transporta ADP i NH_4Cl , s tom razlikom što se na sl. 2. vidi brzina redukcije $K_3/Fe(CN)_6/$, a na sl. 3. brzina oslobađanja kiseonika.

Poznato je da se fotosintetski aparat razlikuje kod raznih heteroznih formi kukuruza (Šulgin i sar. 1961). Mi smo isto tako uočili značajne razlike u fotohemijskoj aktivnosti izolovanih hloroplasta hibrida i linija.

U tabeli 1. i tabeli 2. prikazane su prosečne vrednosti oslobođenog kiseonika u osnovnom stanju, ADP stimulisanim, ATP inhibiranim i NH_4Cl stimulisanim stanju. U tabelama je data i količina sintetisanog ATP kao i odnos P/O.

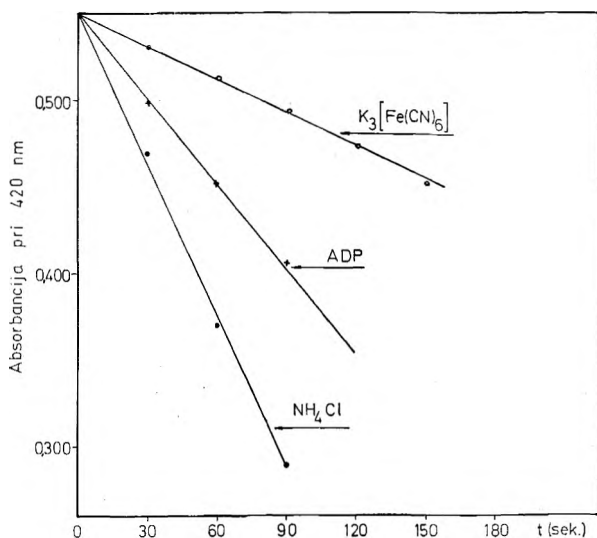
Iz tabela se vidi da gotovo kod svih ispitivanih varijanti pod uticajem herbicida atrazina dolazi do smanjenja fotohemijskih aktivnosti u odnosu na kontrolu. Tako se osnovna brzina izolovanih hloroplasta iz tretiranih biljaka smanjila kod hibrida SC 48A za 16,78%, dok je kod drugog ispitivanog hibrida SC 666t to smanjenje svega 7,56%.

Samooplodne linije pokazale su veću osetljivost na prisustvo herbicida. Kod linije C 103 osnovna brzina se smanjuje za 13,68%, kod TD 191 za 11,82%, a kod R 59 za 18,02%. Jedino se kod linije OH 43 uočava izvesna stimulacija fotohemijskih aktivnosti hloroplasta iz tretiranih biljaka.

Količina sintetisanog ATP niža je u svim ispitivanim varijantama u odnosu na kontrolu, izuzimajući liniju OH 43.

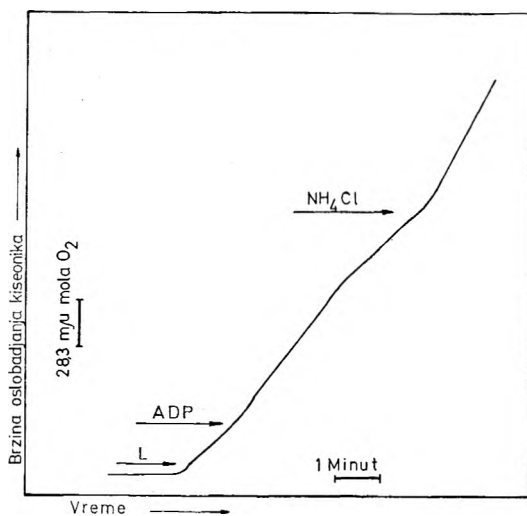
Što se tiče odnosa P/O, ni kod hibrida ni linija ne zapažaju se značajne razlike provedenim postupkom.

Dobijeni podaci o sadržaju hlorofila prikazani su u tabeli 3. Posmatrajući sadržaj hlorofila, zapažamo razlike kod pojedinih varijanti. Količina ukupnog hlorofila manja je kod linija u poređenju sa njihovim hibridima. Iz tabela vidimo da se sadržaj hlorofila u gotovo svim varijantama smanjuje pri tretmanu. Odnos hlorofila a, i hlorofila b nalazi se u granicama vrednosti koje se navode o tome u stručnoj literaturi i isto tako se smanjuje u toku obrade. Kod linije OH 43, ovaj odnos je veći kod tretiranih biljaka, a to se poklapa i sa ostalim rezultatima.



Sl. 2. Brzina redukcije $K_3/Fe(CN)_6$ u izolovanim hloroplastima ćelija mezofila kukuruza, merena spektrofotometrijski (A_{420}) u prisustvu svetlosti. 3 ml reakcione smeše sadržalo je 30 μ gr hlorofila hloroplasta, 2,5 μ mola $K_3/Fe(CN)_6$, 0,3 μ mola ADP i 15 μ mola NH_4Cl .

Fig. 2. Reduction rate of $K_3/Fe(CN)_6$ in isolated chloroplasts of maize mesophyll cells, spectrophotometrically measured (A_{420}) in the light. 3 ml of the reaction mixture contained 30 μ gr of chloroplast chlorophyll, 2,5 μ moles of $K_3/Fe(CN)_6$, 0,3 μ moles of ADP and 15 μ moles of NH_4Cl .



Sl. 3. Vremenski tok oslobađanja kiseonika. 3 ml reakcione smeše sadržalo je 127 μ gr hlorofila hloroplasta, 2,5 μ mola $K_3/Fe(CN)_6$, u naznačenim intervalima dodato je: 0,3 μ mola ADP i 15 μ mola NH_4Cl .

Fig. 3. Time course of oxygen evolution. 3 ml of the reaction mixture contained 128 μ gr of chloroplast chlorophyll, 2,5 μ moles of $K_3/Fe(CN)_6$, at the indicated intervals 0,3 μ moles of ADP and 15 μ moles of NH_4Cl were added.

Tabela 1. Aktivnost fotosistema II hloroplasta mezofila kukuruza, merena preko oslobodanja O₂
 Table 1. The activity of photosystem II of the maize mesophyll chloroplasts measured as the evolution of O₂

Hibrid - Linija Hybrid - Line	Brzina oslobodjenja kisemonika (μmola O ₂ /mg chl/h) Oxygen evolution rate (μmols O ₂ /mg chl/h)					ATP μmola mg chl/h μmols mg chl/h	P/O
	Osnovna brzina Basic rate	+ ADP	ATP	+ NH ₄ Cl			
SC 48 A	K	51,92	64,06	39,56	77,89	126,68	1,02
	A	43,21	56,83	33,13	69,47	102,61	0,92
R 59	K	44,07	50,82	29,57	62,96	120,37	1,19
	A	36,13	45,51	28,82	50,78	110,30	1,12
OH 43	K	38,34	49,39	24,80	64,13	108,23	1,25
	A	40,08	45,20	26,73	57,99	122,95	1,34

Uslovi eksperimenta isti kao na sl. 3. K — prosečne vrednosti za kontrolne biljke, A — prosečne vrednosti za atrazinom tretirane biljke.
 The experiment conditions are the same as in Fig. 3. K — mean values for control plants, A — mean values for plants treated with atrazine.

Tabela 2. Aktivnost fotosistema II hloroplasta mezofila kukuruza, merena preko oslobodanja O₂
 Table 2. The activity of photosystem II of the maize mesophyll chloroplasts measured as the evolution of O₂

Hibrid - Linija Hybrid - Line	Brzina oslobodanja kisiconika (μmola O ₂ /mg hl/h) Oxygen evolution rate (μmols O ₂ /mg chl/h)				ATP μmola mg hl/h μmols mg chl/h	P/O
	Osnovna brzina Basic rate	+ ADP	ATP	+ NH ₄ Cl		
SC 666 t	K	42,19	53,45	34,17	69,06	1,05
	A	39,00	48,59	33,01	65,97	1,07
TD 191	K	41,66	50,31	35,92	61,84	1,21
	A	36,71	42,65	30,56	51,42	1,11
C 103	K	38,52	44,58	27,26	54,35	1,44
	A	33,25	39,69	23,21	47,00	1,26

Uslovi eksperimenta isti kao na sl. 3. K — prosečne vrednosti za kontrolne biljke, A — prosečne vrednosti za atrazinom tretirane biljke.
 The experiment conditions are the same as in Fig. 3. K — mean values for control plants, A — mean values for plants treated with atrazine.

Tabela 3. Sadržaj hlorofila u listovima kontrolnih i atrazinom tretiranih biljaka hibrida i linija kukuruza (mg hlorofila/g suve materije)

Table 3. Chlorophyll content in leaves of control plants and in those of hybrids and inbred lines of maize plants treated with atrazine (mg of chlorophyll/g of dry matter)

Hibrid - Linija Hybrid - Line	hlorofil chlorophyll a		hlorofil chlorophyll b		hlorofil chlorophyll a + b		hlorofil chlorophyll a
							hlorofil chlorophyll b
SC 48A	K	18,28	5,57	23,86	3,3		
	A	12,71	4,14	17,00	3,1		
R 59	K	19,77	5,50	25,17	3,6		
	A	16,18	5,10	21,23	3,4		
OH 43	K	16,75	5,00	21,67	3,4		
	A	16,50	4,84	21,42	3,4		
SC 666t	K	19,65	5,73	25,38	3,4		
	A	20,00	6,66	26,42	3,0		
TD 191	K	14,00	3,83	17,83	3,6		
	A	13,75	3,92	17,39	3,5		
C 103	K	13,78	4,00	17,78	3,4		
	A	11,86	3,64	15,57	3,3		

Zaključak

Dobijeni rezultati ukazuju na to da između ispitivanih linija i hibrida postoje razlike u osjetljivosti na prisustvo herbicida:

— Brzina oslobađanja kiseonika smanjuje se kod ispitivanih linija i hibrida sa tretmanom. Prema našim rezultatima, najveći procenat inhibicije je kod linije R 59 i hibrida SC 48A.

— Sadržaj hlorofila varira od varijante do varijante. Kod kontrolnih biljaka hibrida ukupni sadržaj hlorofila veći je nego kod linija, ili je bliži komponenti koja je bogatija u hlorofilu.

— Da bi se ovi rezultati mogli primeniti u praksi, potrebna su dalja ispitivanja. Još uvek nije jasno da li su promene fotohemijskih aktivnosti rezultat opštih promena u biljci, nastalih zbog oštećenja korena, ili je do njih došlo zbog prodiranja i nagomilavanja herbicida u listu, gde je glavno mesto njegovog delovanja (Wheeler i Hamilton 1968). To će biti predmet naših daljih istraživanja.

Literatura

- Andersen, R. N., 1964: Differential response of corn inbreds to simazine and atrazine. *Weeds*, 12, 60.
- Büchel, K. H., 1972: Mechanisms of action and structure activity relations of herbicides that inhibit photosynthesis. *Pestic. Sci.* 3, 89.
- Delieu, T. and D. A. Walker, 1972: An improved catode for the measurement of photosynthetic oxygen evolution by isolated chloroplasts. *New Phytol.* 71, 201.
- Eastin, E. F., 1971: Growth and response to atrazine of six selections of inbred GT 112. *Agron. J.* 63, 656.
- Eastin, E. F., R. D. Palmer and C. O. Grogan, 1964: Mode of action of atrazine and simazine in susceptible and resistant lines of corn. *Weeds* 12, 49.
- MacKineey, I., 1941: Absorption of light by chlorophyl. *J. Bio. Chem.* 140, 315.
- Merežinskij, Ju. G. 1971: Biohimija dejstvija gerbicidov pri kompleksnom primenjenij. *Fiziol. i biohim. kulturnih rasten.* 3, 339.
- Moreland, D. E., W. A. Genter, J. L. Hilton and K. L. Hill, 1959: Studies on the mechanism of herbicidal action of 2-chloro-4,6-bis (ethylamino)-s-triazine. *Plant Physiol* 34, 432.
- Plesničar, M. and D. S. Bendall, 1973: The photochemical activities and electron carriers of developing barley leaves. *Biochem. J.* 136, 803.
- Shimabukuro, R. H. and H. R. Swanson, 1969: Atrazine metabolism, selectivity and mode of action. *J. Agric. Food Cem.* 17, 199.
- Sulgin, I. A., F. M. Kuperman, V. Vislouk i I. P. Ščerbina, 1961: Soderžanije hlorofila kak fiziologičeskij pokazatel geterozisa kukuruzi. *Fiziol. rastenij* 8, 754.
- Woo, K. C., J. M. Anderson, N. K. Koardman, W. J. S. Downton, C. B. Osmond and S. W. Thorne, 1970: Deficient photosystem II in agranal bundle sheath chloroplasts of C₄ plants. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 67, 18.
- Wheeler, H. L. and R. H. Hamilton, 1968: The leaf concentrations of atrazine in cereal crops as related to tolerance. *Weed Sci.* 16, 7.

SUMMARY

THE EFFECT OF ATRAZINE ON PHOTOSYNTHESIS IN SOME INBRED LINES AND HYBRIDS OF MAIZE

Lidija Stefanović and Marijana Plesničar

(Maize Research Institute, Zemun and Pesticides Department INEP, Zemun)

Although most of the literature data indicate that the maize plants are resistant to triazine herbicides, there are some inbred lines in which an increased susceptibility has been noticed.

The aim of this work was to study the effect of atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-izopropylamino-s-triazine) on the photochemical activities and content of chlorophylls in four inbred lines (OH-43, C-103, R-59, TD-191) and two hybrids (ZP SC-666t, ZP SC-48A).

The rate of oxygen evolution in the suspension of isolated chloroplasts with potassium ferricyanide as an electron acceptor has been measured by application of an oxygen electrode. The rate of ATP synthesis by non-cyclic photophosphorylation as well as the contents of chlorophyll per gram of fresh leaf have also been recorded.

The results indicate that atrazine applied in concentration $1,02 \times 10^{-4}$ mols/2,7 kg. of sand for 10 plants has an inhibitory effect on the tested photochemical activities.

Dr Marijana Plesničar
Zavod za pesticide Instituta
za primenu nuklearne energije
u poljoprivredi, šumarstvu i veterinarstvu
Baranjska 15
11081 Zemun (Jugoslavija)

Lidija Miržinski-Stoma Stefanović, dipl. ing.
Institut za kukuruz
Slobodana Bajića 1
11081 Zemun (Jugoslavija)
pošt. fah 89