

ISBN 83-89576-72-4

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
INSTITUTE OF SOIL SCIENCE AND PLANT CULTIVATION
STATE RESEARCH INSTITUTE



Mariusz Kucharski

ODPORNOŚĆ CHWASTÓW NA
HERBICYDY Z GRUPY INHIBITORÓW
FOTOSYNTETY PSII NA POLACH
UPRAWNYCH POŁUDNIOWO-
-ZACHODNIEJ POLSKI

MONOGRAFIE
I ROZPRAWY
NAUKOWE

14

PUŁAWY

2005

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
INSTITUTE OF SOIL SCIENCE AND PLANT CULTIVATION
STATE RESEARCH INSTITUTE

Dyrektor: prof. dr hab. *Seweryn Kukula*

Redaktor: doc. dr hab. *Adam Harasim*

Recenzent: prof. dr hab. *Zenon Woźnica*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: dr *Irena Marcinkowska*

Nakład 150 egz., B-5, zam. 84/F/05
Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG - PIB w Puławach
tel. (081) 8863421 w. 301 i 307; fax (081) 8864547
e-mail: iung@iung.pulawy.pl; <http://www.iung.pulawy.pl>

Mariusz Kucharski

ODPORNOŚĆ CHWASTÓW NA HERBICYDY Z GRUPY
INHIBITORÓW FOTOSYNTAZY PSII NA POLACH UPRAWNYCH
POŁUDNIOWO-ZACHODNIEJ POLSKI

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	7
2. PRZEGLĄD LITERATURY	9
2.1. Zjawisko odporności	9
2.2. Mechanizmy odporności	10
2.2.1. Zmiana miejsca działania herbicydu	11
2.2.2. Przyspieszona detoksykacja herbicydu	11
2.3. Fotosystem II (PSII) – struktura i funkcja centrum reakcji	13
2.4. Metody identyfikacji biotypów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII	15
2.4.1. Metoda biotestu	15
2.4.2. Metoda molekularna – technika PCR	16
2.4.3. Metoda pomiaru zmian fluorescencji	17
2.5. Przyczyny selekcji i szybkość rozprzestrzeniania się biotypów chwastów odpornych	17
2.6. Cechy osobników odpornych	23
2.7. Informacje o odporności biotypów chwastów objętych badaniami	23
3. MATERIAŁY I METODYKA	29
3.1. Materiał do badań	29
3.2. Metody identyfikacji biotypów odpornych	32
3.2.1. Pomiar fluorescencji liści	32
3.2.2. Metoda testu biologicznego	37
3.3. Badanie odporności – porównanie metod identyfikacji	41
3.4. Odporność chwastów na atrazynę i zmiany w liczebności osobników odpornych	42
3.4.1. Wyznaczanie indeksu odporności	42
3.4.2. Wpływ zmian asortymentu herbicydów na liczebność osobników odpornych	43
3.5. Ustalenie konkurencyjnego oddziaływania chwastów odpornych na plonowanie kukurydzy	43
3.6. Badania odporności prostej	44
3.7. Badania odporności krzyżowej	45
3.8. Badania odporności wielokrotnej	45
4. WYNIKI I DYSKUSJA	46
4.1. Interpretacja wyników analiz wykonanych metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji	46

4.1.1. Pomiar fluorescencji	46
4.1.2. Testy biologiczne	46
4.1.3.1. Indeks odporności	51
4.2. Porównanie metod identyfikacji odporności	54
4.3. Odporność <i>Amaranthus retroflexus</i> , <i>Chenopodium album</i> i <i>Echinochloa crus-galli</i> na atrazynę	58
4.4. Odporność prosta	64
4.5. Odporność krzyżowa	83
4.6. Odporność wielokrotna	83
4.7. Przestrzenne rozmieszczenie biotypów chwastów odpornych w południowo-zachodniej Polsce	86
5. WNIOSKI	90
6. LITERATURA	92
7. STRESZCZENIE	102

1. WSTĘP

Herbicydy stanowią trwały element w technologii produkcji roślinnej. Ich stosowanie zapewnia wysoką skuteczność regulacji zachwaszczenia, ogranicza konkurencyjność chwastów w stosunku do rośliny uprawnej, zmniejsza nakłady pracy i ułatwia pielęgnację pól. Jednakże intensywne i długotrwałe stosowanie tych samych herbicydów na określonym stanowisku może doprowadzić do wystąpienia takich zjawisk, jak: nadmierna pozostałość substancji aktywnej herbicydu w glebie, w wodach powierzchniowych i gruntowych oraz w produktach roślinnych (102, 160-162), kompensacja niektórych gatunków chwastów w zbiorowisku (155), jak również selekcja i nagromadzenie w siedlisku biotypów chwastów odpornych na jeden lub kilka herbicydów w obrębie gatunku uznawanego dotychczas za wrażliwy (18, 23, 59, 61, 94, 128, 156, 173, 187).

Odporność oznacza brak wrażliwości niektórych osobników danego gatunku chwastu na taką dawkę herbicydu, która stosowana w normalnych warunkach niszczy całą jego populację na odchwaszczanej plantacji (65). W warunkach naturalnych biotypy odporne stanowią znikomy odsetek w populacji. Po aplikacji herbicydu większość osobników wrażliwych ginie, a tylko niewielka liczba biotypów odpornych kwitnie i wydaje nasiona. W przypadku stosowania tego samego herbicydu przez wiele lat następuje znaczący wzrost liczebności osobników odpornych w danej populacji (67).

Fakt pojawienia się biotypów odpornych w obrębie gatunku wrażliwego został po raz pierwszy stwierdzony w Kanadzie w 1963 roku, gdzie po kilkuletnim stosowaniu 2,4-D dotychczas wrażliwa dzika marchew (*Daucus carota* L.) przestała reagować na tę substancję (192). W przypadku herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy pierwszy potwierdzony przypadek odporności odkryto u roślin *Senecio vulgaris* L., które przestały być zwalczane przez symazynę (159). Po blisko 30 latach H e a p (81) opisał udokumentowane przypadki występowania odporności dla ponad 210 biotypów chwastów, z których 65, to osobniki odporne na herbicydy triazynowe. Jak wynika z licznych publikacji liczba biotypów wykazujących odporność na herbicydy z różnych grup chemicznych wzrasta (37, 82, 131, 141, 147, 149, 193). Według najnowszych badań, prowadzonych przez różne ośrodki naukowe na świecie (83), dotychczas zidentyfikowano 179 gatunków (297 biotypów) chwastów odpornych na różne substancje aktywne herbicydów. Wśród nich 108 to chwasty dwuliścienne, a 71 to jednoliścienne. Biotypy odporne zidentyfikowano na ponad 270 tysiącach pól uprawnych o łącznej powierzchni kilku milionów hektarów w ponad 40 krajach, a zwłaszcza w Stanach Zjednoczonych (80, 166), Kanadzie (74, 76, 137, 145), Australii (87), Nowej Zelandii (143, 144) oraz w Europie Zachodniej (7, 13, 45, 53, 109, 169).

W Polsce pierwsze doniesienia o problemach z odpornością chwastów na herbicydy pojawiły się w połowie lat osiemdziesiątych zeszłego wieku na terenach, na których związki z grupy triazyn stosowane były corocznie w monokulturze kukurydzy i sadach (57, 115, 116, 156, 158). Na opisywanych terenach po wielu latach biotypy, m.in., *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli* nie były niszczone przez herbicydy triazynowe, zawierające takie substancje

aktywne, jak: atrazyna, symazyna, cjanazyna i prometryna. Zjawisko odporności różnych biotypów chwastów narasta i obejmuje nowe grupy herbicydów do niedawna uważanych za skuteczne w walce z zachwaszczeniem (50, 58, 89, 92, 103-105, 149, 152, 157, 175, 176).

Prowadzone dotychczas prace z tej dziedziny są niewystarczające, obejmują zaledwie kilka substancji aktywnych herbicydów i niewielkie obszary użytkowane rolniczo. Odczuwalny jest brak badań obejmujących swym zasięgiem całą Polskę. Najnowsze zdobycze techniki analitycznej oraz współdziałanie jednostek naukowych powinno przyczynić się do powstania prac opisujących zjawisko odporności – jego stan i rozprzestrzenienie się – dla wielu biotypów chwastów.

Chwasty mogą wykazywać odporność tylko na jeden specyficzny herbicyd, wówczas jest to tzw. odporność prosta lub pojedyncza, np. *Amaranthus retroflexus* i *Cenopodium album* wykazują odporność tylko na metrybuzynę, ale pozostają wrażliwe na inne substancje aktywne herbicydów (45). Biotypy odporne wykazują jednak często odporność mieszaną, zwaną także krzyżową. W tym przypadku są one odporne na co najmniej dwa herbicydy o tym samym mechanizmie działania, ale o różnej budowie chemicznej, np. jednoczesna odporność na jeden lub kilka z grupy triazyn i analogicznie z grupy pochodnych mocznika (106). Obydwie te grupy mają różną budowę chemiczną, lecz taki sam mechanizm działania – blokują proces fotosyntezy PSII. Spotyka się również tzw. odporność wielokrotną (multi odporność), polegającą na niewrażliwości określonego biotypu chwastu na co najmniej dwa herbicydy z różnych grup chemicznych, o różnym mechanizmie działania. Jak podają H a l l i in. (75) występujący w Australii biotyp w obrębie populacji *Lolium rigidum* Gaud. wykazuje jednoczesną odporność na inhibitory: fotosyntezy (triazyny, pochodne mocznika i triazynony), syntazy mleczanowej ALS (imidazole i pochodne sulfonilomocznika), procesu mitozy (dwunitroaniliny i karbaminiany) oraz na herbicydy o innych mechanizmach działania (chloroacetamidy, izoksalolidinony i triazole).

Konsekwencje wystąpienia biotypów odpornych ponosi przede wszystkim rolnik, następuje bowiem utrata skuteczności chwastobójczej herbicydu, spadek plonowania, niemożność dalszego stosowania tego samego herbicydu, a często także środków z innych grup chemicznych w przypadku odporności krzyżowej czy wielokrotnej. Konsekwencje te mogą być także dotkliwe dla producentów i dystrybutorów herbicydów, powodując ograniczenie rynku zbytu (42, 138, 193).

Chcąc ustrzec się przed selekcją biotypów chwastów odpornych i przed konsekwencjami z tym związanymi, a przynajmniej znacznie opóźnić to zjawisko, należy opracować efektywne programy i strategie, które wymagają ścisłego współdziałania i współpracy producentów środków ochrony roślin, jednostek naukowych i ustawodawczych oraz rolników (68, 94, 154, 165, 194).

W ostatnich latach do placówek naukowych zgłaszają się rolnicy z różnych rejonów Polski, którzy informują o niepokojących zjawiskach związanych z brakiem odpowiedniej ochrony upraw przed chwastami po wykonaniu zabiegów herbicydowych, które dotychczas były w pełni skuteczne. Może to wskazywać na wystąpienie rozpo-

wszechnionego już na całym świecie zjawiska odporności niektórych gatunków chwastów na najczęściej stosowane herbicydy. Informacje te, jak również doniesienia literaturowe stanowiły podstawę do podjęcia badań, których celem było:

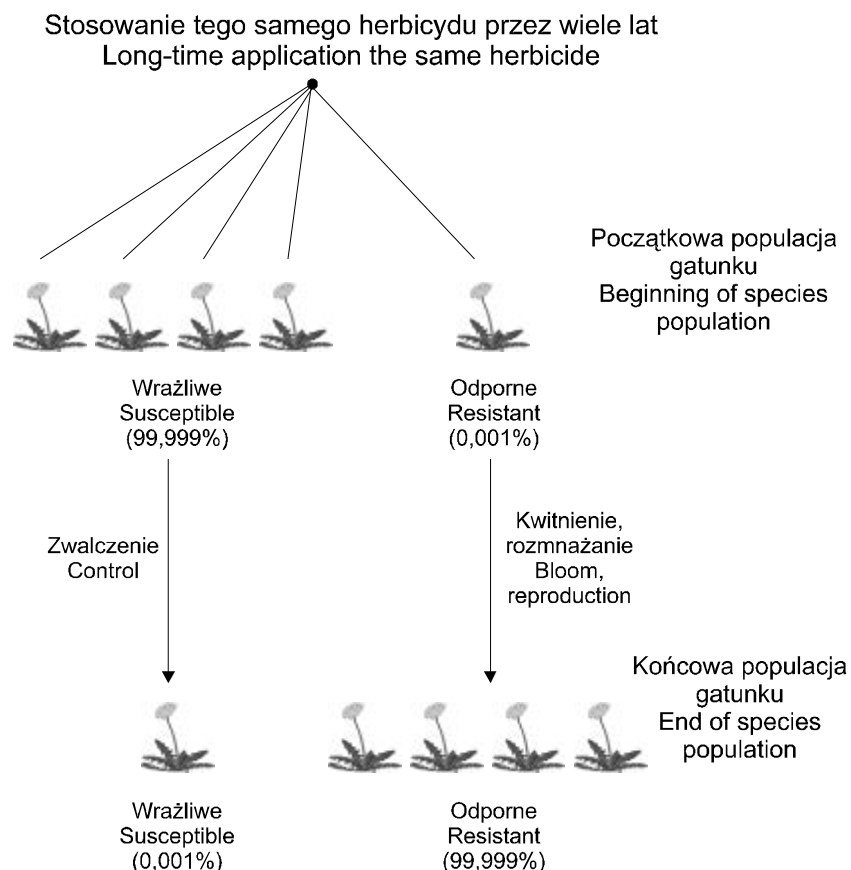
- identyfikacja biotypów chwastów wykazujących odporność prostą i krzyżową na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII;
- sprawdzenie i porównanie metod umożliwiających identyfikację odporności (test biologiczny oraz pomiar fluorescencji);
- ustalenie częstotliwości występowania odpornych biotypów chwastów na polach uprawnych południowo-zachodniej Polski.

2. PRZEGLĄD LITERATURY

2.1. ZJAWISKO ODPORNOŚCI

Każda populacja chwastów jest w mniejszym lub większym stopniu zróżnicowana pod względem genetycznym. Występujące w niej osobniki (biotypy) mogą się charakteryzować odmienną reakcją na różne czynniki siedliska, w tym także na herbicydy. Wieloletnie stosowanie jednego lub kilku herbicydów o takim samym mechanizmie działania stopniowo eliminuje z populacji osobniki wrażliwe, pozostawiając odporne. Jeżeli są one dobrze przystosowane do siedliska, a przede wszystkim mają wysoki współczynnik rozmnażania oraz łatwo rozprzestrzeniają się przez nasiona już w krótkim czasie zaczynają dominować w populacji i dalsze wykorzystanie jednego lub wielu herbicydów, które przyczyniły się do tej selekcji staje się niemożliwe. Same herbicydy nie są więc przyczyną uodparniania, a tylko czynnikiem kierującym selekcję biotypów w stronę osobników odpornych (67). Mechanizm tego zjawiska przedstawiono na rysunku 1.

Opisany powyżej pogląd na selekcję biotypów chwastów odpornych dziś potwierdzany jest najczęściej (26, 86, 122, 179, 193). Istnieją również inne doniesienia, z których wynika, że to herbicydy przyczyniają się do zmienności genetycznej (mutacji), prowadzącej, między innymi, do powstawania odpornych na te herbicydy osobników. Wyniki dotychczasowych badań nie potwierdzają tej tezy, chociaż niektóre z nich takiej możliwości nie wykluczają (27). *B e t t i n i i n.* (10) udowadniają, że herbicydy triazynowe stosowane wielokrotnie w dawkach subletalnych (dawki pozwalające na przeżycie roślin) w genotypach wrażliwych *Chenopodium album* L. po pewnym czasie powodują, że omawiane biotypy nabierają cech takich samych, jakie obserwuje się u osobników odpornych na herbicydy triazynowe. *L e n s k i i M i t t l e r* (113) sugerują, że mutacja biotypów wrażliwych następuje pod wpływem stresu (czynnikiem stresującym może być również herbicyd), a dokładniej, następuje zapoczątkowanie mutacji, a dopiero dalsze zmiany zachodzące zgodnie z teorią darwinowską dają efekt końcowy, czyli biotyp odporny.



Rys. 1. Ewolucja biotypów odpornych na herbicydy (179)
Evolution of herbicide resistant biotypes (179)

2.2. MECHANIZMY ODPORNOŚCI

Mechanizmy powstawania odpornych populacji chwastów nie są proste i w wielu przypadkach niedostatecznie rozpoznane. Odporność określonego biotypu chwastu może wynikać z różnych przyczyn warunkujących chwastobójcze działanie herbicydu (69, 73, 179, 193). Odporny biotyp chwastu może w mniejszym stopniu zatrzymywać ciecz użytkową na swojej powierzchni (zmniejszona retencja), słabiej absorbować substancję czynną i wolniej ją transportować do miejsca działania, posiadać zmienione miejsce działania, w którym herbicyd nie jest w stanie wywołać żadnego zakłócenia oraz nie jest zdolny do szybkiego metabolizowania lub innego sposobu dezaktywacji herbicydu (193). Liczne prace porównujące właściwości biotypów wrażliwych i odpornych w obrębie tego samego gatunku wskazują, że zmiana miejsca działania herbicydu (ang. modified target site), przyspieszony metabolizm substancji aktywnej herbi-

cydu (ang. enhanced detoxification (metabolism)) bądź połączenie obu procesów to najczęściej spotykane mechanizmy odporności (69, 71, 179).

Zmiana miejsca działania herbicydu jest najczęściej opisywanym i omawianym w literaturze mechanizmem odporności (2, 10, 27, 52, 90, 95, 125, 164, 170, 176). Występowanie w roślinach odpornych na triazyny drugiego mechanizmu polegającego na przyspieszeniu metabolizowania herbicydu w roślinie opisano dla kilku gatunków chwastów: *Abutilon theophrasti* Med. (70), *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. (111), *Setaria faberi* Herrm. (12, 78), *Lolium rigidum* Gaud. (15) oraz *Setaria verticillata* (L.) P.B. (60). Ponadto w biotypach *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. pochodzących z Izraela (66) oraz *Sonchus oleraceus* (L.) pochodzących z Hiszpanii (47) stwierdzono występowanie obu omawianych mechanizmów jednocześnie.

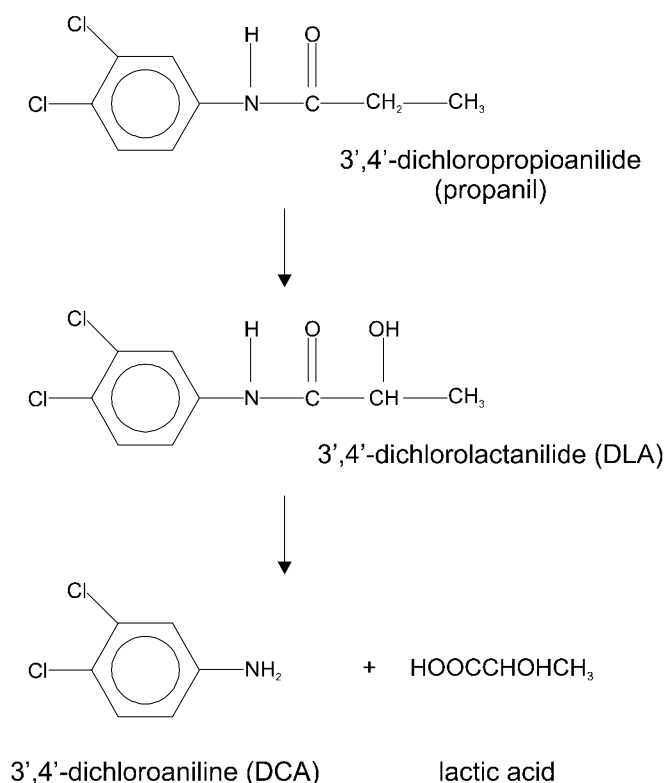
2.2.1. Zmiana miejsca działania herbicydu

W przypadku herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II przyczyną odporności jest punktowa mutacja w chloroplastowym genie *psbA*. Gen ten koduje strukturalne białko D1 wbudowywane w błonę tylakoidów (46, 177). Białko to bierze udział w procesie fotosyntezy, stanowiąc miejsce przyłączenia jednego z przenośników elektronów – plastochinonu. Substancje czynne herbicydów z tej grupy są analogami plastochinonu i działają poprzez usunięcie wtórnego akceptora elektronów Q_B z miejsca wiązania na białku D1, tzn. struktura chemiczna substancji czynnej herbicydu pozwala na zablokowanie niszy wiążącej przenośnik, wskutek czego przepływ elektronów jest hamowany, a roślina po pewnym czasie ginie. Śmierć rośliny nie jest spowodowana zatrzymaniem procesu fotosyntezy, lecz stresem oksydacyjnym. W wyniku fotooksydacji następuje destrukcja fotosystemu PSII oraz utlenianie lipidów i chlorofilu. Jednocześnie herbicyd przyłączając się do białka D1 hamuje naturalny, szybki proces wymiany tej uszkodzonej w trakcie fotosyntezy molekuly, uniemożliwiając zastąpienie jej przez w pełni sprawne białko (84, 110). U osobników odpornych w 264 kodonie genu *psbA* pierwszy z trójki nukleotydów kodujących serynę (AGT) ulega zamianie i kodowana jest glicyna (GGT). Jest to wystarczająca różnica do tego, by białko D1 utraciło powinowactwo do herbicydu tak, że nawet zwiększone jego dawki nie są skuteczne. Ponieważ w wiązaniu plastochinonu biorą udział inne aminokwasy związek ten mimo mutacji nadal może zostać przyłączony, co pozwala na przebieg procesu fotosyntezy (69, 179).

2.2.2. Przyspieszona detoksykacja herbicydu

Po aplikacji herbicyd (jego składnik aktywny) zostaje zneutralizowany w roślinach odpornych; forma fitotoksyczna zostaje zmetabolizowana do składników nietoksycznych. Proces ten zachodzi przed dotarciem herbicydu do miejsca jego podłączenia (target site) i dzięki temu roślina nie ginie (8). Od strony biochemicznej proces detoksykacji może zachodzić poprzez, m.in., utlenianie, redukcję, hydrolizę, dekarboksyla-

cję, dealkilację i sprzężenie (koniugację). W przypadku występowania odporności na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII główną rolę w przyspieszeniu detoksykacji i metabolizmu biorą udział: enzym GST (ang. glutathione-s-transferase) oraz cytochrom P450 (179). B u r n e t i in. (15) udowodnili, że w roślinach *Lolium rigidum* Gaud. odpornych na symazynę cytochrom P450 powoduje detoksykację (metabolizm) symazyny do form nieaktywnych, tzn. do de-etylu symazyny i di-de-etylu symazyny. Z prac wielu autorów (60, 64, 79, 189) wynika, że rośliny, w których wykryto wysokie stężenie enzymu GST odznaczają się odpornością na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII, natomiast chwasty o niskiej zawartości tego enzymu są na te herbicydy wrażliwe. L o p e z - M a r t i n e z i in. (117) badali mechanizm występujący w roślinach ryżu i *Echinochloa* spp. odpornych na propanil. Próbki roślin opryskano herbicydem zawierającym tę substancję aktywną ze znakowanym węglem ^{14}C . Propanil (3',4'-dichloropropioanilid) początkowo ulega przemianom do 3',4'-dichlorolactanilidu (DLA), a następnie szybko rozkłada się do nieaktywnej biologicznie 3',4'-dichloroaniliny (DCA) i kwasu mlekowego (rys. 2). Po 24 godzinach od aplikacji herbicydu rośliny ryżu i odpornych biotypów *Echinochloa* spp. zmetabolizo-

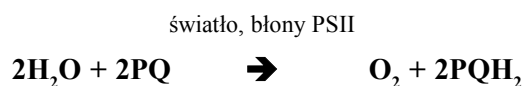


Rys. 2. Metabolizm propanilu (195)
Metabolism of propanil (195)

wały ponad 80% zaaplikowanej dawki herbicydu. Porównawczo, w biotypach wrażliwych *Echinochloa* spp. po 72 godzinach przemianie uległo tylko 29% zastosowanej dawki.

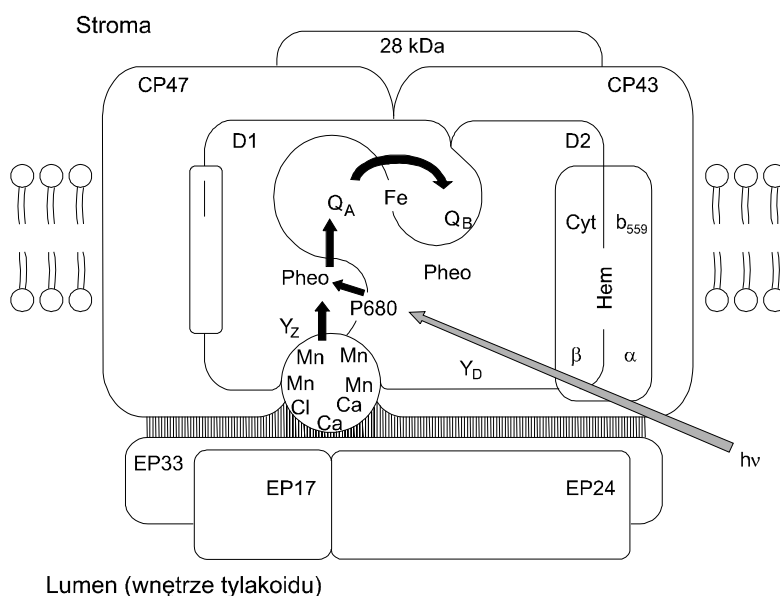
2.3. FOTOSYSTEM II (PSII) – STRUKTURA I FUNKCJA CENTRUM REAKCJI

Fotosystem II PSII jest częścią układu tlenowej fotosyntezy, katalizującym indukowaną przez światło reakcję utleniania wody sprzężoną z redukcją plastochinonu (PQ). Ten proces przemieszczania elektronów zachodzący w sposób ukierunkowany w poprzek błony można opisać prostym równaniem:



W czasie tego procesu cztery protony są przenoszone w poprzek błon tylakoidów ze stromy do obszaru lumenalnego tylakoidów i wykorzystane do syntezy ATP (trójfosforan adenozyne). PSII jest zlokalizowany wewnątrz błony tylakoidów w ścisłym powiązaniu z lipidami.

Na podstawie dostępnych obecnie danych opracowano model strukturalny fotosystemu II (rys. 3).



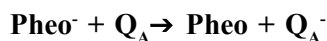
Rys. 3. Uproszczony schemat przedstawiający najważniejsze składniki kompleksu PSII i transport elektronów w kompleksie (33).

Scheme of components of PSII complex

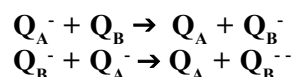
Fotosystem II dzieli się na trzy części:

- antenę zbierającą światło, składającą się z kompleksów białkowo-barwnikowych;
- centrum reakcji zawierające pierwotne reaktanty, plastochinon i kompleks utleniający wodę oraz
- regulatorową domenę zbudowaną z zewnątrzłonowych polipeptydów przyłączonych do PSII od lumenalnej strony błon tylakoidów.

Centrum reakcji PSII można podzielić na kompleks rdzeniowy związany z absorpcją światła i transportem elektronów oraz na kompleks utleniający wodę. Kompleks rdzeniowy PSII jest minimalną jednostką zdolną do przeprowadzenia indukowanego światłem rozdzielania ładunków i transportu elektronów. Kompleks ten został wyizolowany w laboratoriach i składa się z czterech do sześciu chlorofili *a*, dwóch Pheo (feofityna – pierwotny akceptor elektronów z P680⁺), dwóch β-karotenów, jednego heterodimeru protein D1-D2, jednego CP47, jednego CP43, jednego (lub dwóch) cytochromów *b*₅₅₉ i jednego polipeptydu 10kDa na P680. W kompleksie rdzeniowym nie ma chinonu Q_A. P680 i Pheo są związane z białkami D1-D2. W utleniającym wodę kompleksie centrum reakcji PSII chinony Q_A i Q_B oraz jon żelazawy są także przyłączone do heterodimeru D1-D2. Pierwotne przeniesienie ładunku ze wzbudzonego P680 na Pheo następuje w ciągu 3 pikosekund. Rekombinacja obdarzonych ładunkiem związków jest ograniczana przez szybką reakcję utleniania Pheo⁺ przez sąsiadujący Q_A i natychmiastową redukcję P680⁺ przez aktywną redukcyjnie resztę tyrozynową Y_Z polipeptydu D1. Rekombinacji towarzyszy jednocześnie uwolnienie protonów po lumenalnej stronie błony:



Q_A⁻ jest utleniane w ciągu 100-200 ms przez drugi plastochinon Q_B, tworząc Q_B semichinon. Ten semichinon przyjmuje następny elektron z innego Q_A⁻, tworząc Q_B^{•-}:



Należy dodać, że Q_A jest akceptorem jednoelektronowym, a Q_B akceptorem dwu-elektronowym. Przyjęto, że w pełni zredukowany Q_B^{•-} przyjmuje dwa protony ze stromy, tworzy Q_BH₂ i opuszcza centrum reakcji jako plastochinol, a wówczas przekazuje protony do kompleksu *cyt b₆f*. Miejsce Q_B w białku D1 jest zajmowane przez inną cząsteczkę Q_B z puli plastochinonowej (33, 49, 69, 73).

2.4. METODY IDENTYFIKACJI BIOTYPÓW ODPORNÝCH NA HERBICYDY Z GRUPY INHIBITORÓW FOTOSYNTETY PSII

Do najczęściej stosowanych i opisywanych metod pozwalających na identyfikację odporności biotypów chwastów na substancje aktywne z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII należą:

- metoda testu biologicznego – ocena reakcji biotypów roślin na stosowane substancje aktywne herbicydów (119, 148),
- metody molekularne, umożliwiające identyfikację różnic genetycznych pomiędzy osobnikami wrażliwymi i odpornymi, np. metoda PCR (47, 50),
- metoda analizy zmian fluorescencji – pomiary spektrofluorescencyjne (19, 20, 43),
- metoda wykorzystująca reakcję Hilla, polegająca na pomiarze parametrów reakcji i wydajności fotosyntezy (96, 99).

2.4.1. Metoda biotestu

Metoda ta polega na identyfikacji osobników odpornych na podstawie oceny kondycji i masy chwastów po aplikacji różnych dawek herbicydu. Brak reakcji rośliny (dobra kondycja, zielona i sucha masa zbliżona do kontroli) na stosowane dawki herbicydu (zalecane i wielokrotnie wyższe) świadczy o odporności danego osobnika na stosowany środek.

Według organizacji Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) jedną z metod oceny odporności (w ramach testu biologicznego) jest wyznaczenie wskaźnika ED_{50} , który określa dawkę herbicydu, po zastosowaniu której następuje redukcja ocenianego parametru (np. świeżej lub suchej masy chwastu) o 50% w porównaniu z obiektem kontrolnym – nie opryskiwanym herbicydem (198).

Jednym z parametrów charakteryzujących stopień odporności jest tzw. indeks odporności (ang. Resistance Index – RI). Jest on wyznaczany na podstawie wyników analiz prowadzonych metodą testu biologicznego.

Indeks odporności stanowi iloraz ED_{50} dla biotypów odpornych i wrażliwych:

$$RI = \frac{ED_{50} \text{ (odporne)}}{ED_{50} \text{ (wrażliwe)}}$$

Na podstawie tego indeksu (wg HRAC) wyróżnia się trzy poziomy odporności:

- poziom niski $2 < RI < 4$,
- poziom średni $4 \leq RI \leq 8$,
- poziom wysoki $RI > 8$.

2.4.2. Metoda molekularna – technika PCR

Technika łańcuchowej syntezy polimerazy (PCR) fragmentów DNA roślin została obszernie przedstawiona w pracach pracowników Katedry Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa SGGW w Warszawie (22, 50, 59). Jak podają autorzy, materiałem wyjściowym do analiz molekularnych jest całkowity DNA (kwas dezoksyrybonukleinowy) niosący ze sobą informację genetyczną, wyizolowany z tkanek roślinnych (146).

Idea reakcji PCR została zaprezentowana przez Kary Mullisa w połowie lat 80. i polega na reakcji łańcuchowej polimerazy (134). Pozwala ona na powielenie (amplifikację) dowolnej sekwencji DNA o długości od kilkuset do kilku tysięcy nukleotydów po zastosowaniu enzymu polimerazy Taq. Enzym ten jest izolowany z bakterii *Thermus aquaticus*.

Typowy schemat reakcji PCR jest szeregiem cykli złożonych z następujących etapów:

1. rozdzielenia nici DNA (denaturacja),
2. przyłączenia starterów do matrycy DNA,
3. wydłużania (elongacja) łańcucha DNA syntetyzowanego na bazie matrycy.

Trawienie enzymami restrykcyjnymi. Proces trawienia powielonego w reakcji PCR DNA polega na jego fragmentacji (cięciu) pod wpływem enzymu restrykcyjnego. Wykorzystywane w tym procesie enzymy to restryktazy – endonuleazy restrykcyjne, zdolne do rozpoznawania i przecinania określonych sekwencji nukleotydowych w cząsteczce DNA (191). Rozpoznawane przez te enzymy sekwencje składają się z 4-8 nukleotydów, a miejsce przecięcia znajduje się w obrębie rozpoznawanej sekwencji lub w ściśle określonej odległości od niej.

W przypadku odporności na herbicydy triazynowe stosowanym enzymem jest *Bst* XI, który rozpoznaje w powielonym wcześniej fragmencie DNA jedno miejsce, tj. sekwencję GGT w pozycji 264, czyli trójkę genu *psbA* kodującą glicynę. Sekwencja taka występuje u roślin, które uzyskały odporność na triazyny na skutek mutacji w tym kodonie. Sekwencja naturalna dla roślin w tym miejscu to trójka AGT kodująca serynę, nie rozpoznawana przez zastosowany enzym.

Elektroforeza. Elektroforeza jest stosowana przy rozdziale, analizie i oczyszczaniu kwasów nukleinowych. Po umieszczeniu w polu elektrycznym cząsteczki kwasu migrują w żelu zgodnie ze swym ładunkiem w kierunku elektrody dodatniej, przy czym szybkość migracji zależy od wielkości i kształtu cząsteczki i jest odwrotnie proporcjonalna do logarytmu dziesiętnego masy cząsteczkowej. Powszechnie stosuje się dwa rodzaje żeli: agarowy i poliakryloamidowy. Identyfikowane fragmenty DNA mają postać prążków, które są widoczne na żelu dzięki dodawanemu do żelu lub próbki barwnikowi fluoryzującemu – bromkowi etydydy. Związek ten ma zdolności do wnikania w strukturę DNA, a pod wpływem promieni ultrafioletowych emituje promienie widzialne.

2.4.3. Metoda pomiaru zmian fluorescencji

Do pomiaru fluorescencji chlorofilu stosowany jest spektrofluorymetr. Pomiar fluorescencji są użyteczną metodą analityczną opartą na spektroskopii emisyjnej. Gdy atom lub cząsteczka zaabsorbują promieniowanie elektromagnetyczne ulega wzbudzeniu, a następnie, gdy wraca do stanu podstawowego, wówczas emituje nadmiar energii w formie fotonów. Procesy absorpcji światła i zjawisko fluorescencji zachodzą odpowiednio w czasie femtosekund i nanosekund. W trakcie fotosyntetycznych procesów absorpcji światła i przekształceń energii świetlnej w chemiczną drobną ułamek zaabsorbowanego promieniowania nie wykorzystany w reakcjach fotochemicznych jest reemitowany w postaci fluorescencji. Jest ona miarą liczby zaabsorbowanych kwantów światła, które nie zostały wykorzystane w procesie fotosyntezy. Wielkości charakteryzujące fluorescencję, czyli rodzaj i natężenie pasm emisyjnych, czas życia, wydajność kwantowa i kinetyka wzbudzenia, odzwierciedlają własności cząsteczki chlorofilu i jej otoczenia. Wszystkie wymienione wielkości mogą zostać użyte do badania fotosyntetycznego transportu elektronów i związanych z nim procesów fizjologicznych (5, 6, 11, 40, 63, 135).

Wynikiem analizy spektrofluorometrycznej jest krzywa charakteryzująca zmiany fluorescencji w czasie. Kształt krzywej indukcji fluorescencji w liściu może ulec zmianie po dodaniu substancji blokującej transport elektronów (inhibitora fotosyntezy PSII). Widmo emisyjne fluorescencji i jej zmiany w czasie mogą być dogodnie rejestrowane bez potrzeby uszkodzenia materiału badawczego (np. liścia). Technika pomiaru fluorescencji chlorofilu jest zatem nieinwazyjna oraz niedestrukcyjna dla roślin i w ciągu kilkunastu sekund dostarcza informacji o zmianach w przebiegu fotosyntezy (39, 72, 84, 101, 136). Szybkość i łatwość wykonywania pomiarów umożliwia przebadanie dużej liczby próbek materiału roślinnego z wielu pól uprawnych.

2.5. PRZYCZYNY SELEKCJI I SZYBKOŚĆ ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ BIOTYPÓW CHWASTÓW ODPORNÝCH

Problemy wynikające z selekcji i rozprzestrzeniania się biotypów chwastów odpornych pojawiły się najwcześniej w krajach stosujących od dawna intensywną chemiczną walkę z chwastami, przy jednocześnie daleko posuniętych ograniczeniach uprawy roli oraz uproszczeniach w zmianowaniu roślin. Szybkość selekcji osobników odpornych uwarunkowana jest różnymi czynnikami. Zależy to od stosowanych herbicydów, właściwości biologicznych i genetycznych gatunków chwastów występujących w populacji oraz od całokształtu działalności człowieka związanej z uprawą roli i roślin (193). Nie można podać sztywnych reguł selekcji. Zazwyczaj do przyspieszenia selekcji biotypów odpornych dochodzi z powodu:

- **specyficznych uwarunkowań i cech chwastu** – gatunek zwalczanego chwastu ma wysoki współczynnik rozmnażania, daje kilka pokoleń w ciągu roku, łatwo rozprzestrzenia się przez nasiona, jest obcoplelny, wykazuje dużą zmienność

genetyczną (wiele biotypów w populacji) i posiada dużą wrażliwość na określony herbicyd;

- **złego doboru herbicydu** – brak rotacji herbicydów, stosowany środek posiada jeden specyficzny mechanizm działania, jest aplikowany wielokrotnie oraz wykazuje na ogół wysoką skuteczność chwastobójczą i długotrwałe działanie;
- **czynników ludzkich** – uprawa roślin w monokulturze, rolnik prowadzi jednostronną, chemiczną walkę z chwastami i jednocześnie stosuje ograniczenia w uprawie roli oraz uproszczenia w zmianowaniu roślin (68, 138, 140, 193).

Do szybkiej selekcji biotypów odpornych może dojść zwłaszcza w monokulturach roślinnych, sadach i szkółkach drzew, przy systematycznym stosowaniu herbicydów na torowiskach, placach składowych itp. Tereny nieużytkowane rolniczo, na których często stosuje się herbicydy o tym samym mechanizmie działania mogą być źródłem rozprzestrzeniania odporności chwastów na polach uprawnych (16, 154, 193, 194).

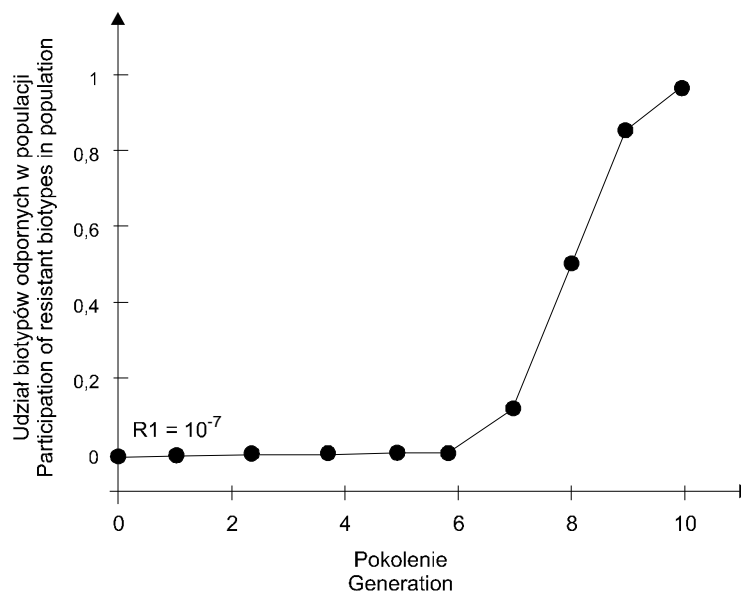
Herbicydy posiadające jeden specyficzny mechanizm działania w praktyce rolniczej niektórych krajów spowodowały szybką selekcję biotypów odpornych. Preparaty te wycofano w krótkim czasie od chwili wprowadzenia. Okres od rozpoczęcia produkcji i stosowania określonego herbicydu do chwili ujawnienia się biotypów odpornych w populacji chwastów jest zmienny (tab. 1), np. dla herbicydów triazynowych okres ten wyniósł ok. 10 lat (atrazyna), natomiast herbicydy nowej generacji (pochodne sulfonilomocznika) okazały się nieskuteczne już po 5 latach od wprowadzenia do praktyki rolniczej (chlorosulfuron).

Rysunek 4 ilustruje symulację procesu rozprzestrzeniania się osobników odpornych w obrębie populacji chwastu *Kochia scoparia* L. z rodziny komosowatych, powstałych na skutek systematycznego stosowania herbicydu z grupy pochodnych sulfonilomocznika, zawierającego chlorosulfuron (122). Jest to przewidywany rozwój biotypu odpornego, przy założeniu, że mutant odporny występuje w populacji w częstotliwości 10^{-7} w roku rozpoczęcia stosowania herbicydu i jego 90% skuteczności

Tabela 1

Szybkość rozprzestrzeniania się biotypów chwastów odpornych na różne herbicydy (112)
Rapid of spread of weed biotypes resistant to different herbicides

Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Rok wprowadzenia do stosowania Used since (year)	Rok, w którym stwierdzono wystąpienie biotypu odpornego First resistant biotype reported (year)
2,4-D	1945	1963
Dalapon	1953	1962
Atrazine	1958	1968
Picloram	1963	1988
Trifluralin	1963	1973
Diclofop	1977	1982
Triallat	1962	1987
Chlorsulfuron	1982	1987



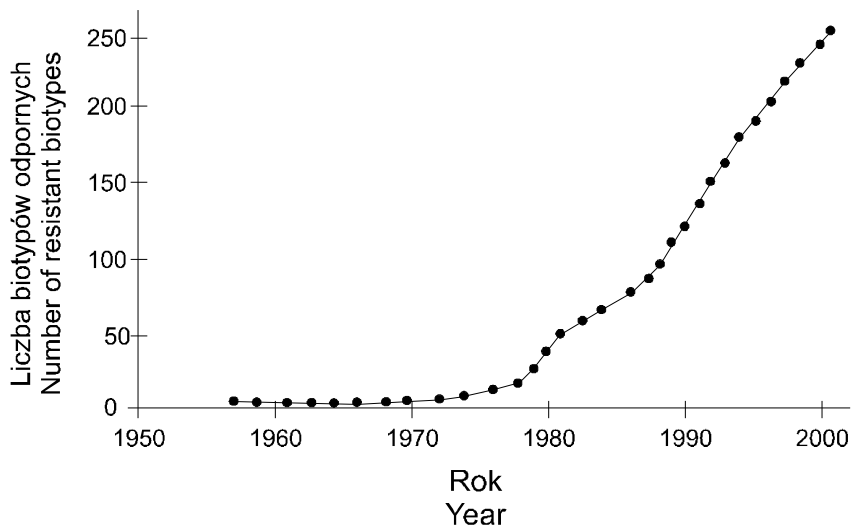
Rys. 4. Przewidywany rozwój biotypu odpornego na chlorosulfuron w populacji *Kochia scoparia* L. (wg Gunsolusa, 71)

Expected development of biotype resistant to chlorsulfuron in a *Kochia scoparia* L. population

(71). Jak wynika z przebiegu krzywej już w 7 pokoleniu zaczyna szybko narastać udział biotypu odpornego w populacji.

Zatem występowanie i rozprzestrzenianie się biotypów odpornych na różne substancje aktywne herbicydów wzrasta. Corocznie do listy biotypów odpornych dopisywane są nowe pozycje. Według ostatnich danych (83) udokumentowano istnienie 297 biotypów odpornych na różne substancje chemiczne. Obraz zmian odporności na przestrzeni 40 lat charakteryzuje krzywa wytyczona przez H e a p a (82); (rys. 5). Stosowanie chemicznych środków ochrony roślin oraz zbyt mało odpowiednich działań powstrzymujących powstawanie lub choćby opóźnianie zjawiska odporności powoduje, że krzywa ta ma charakter rosnący.

Chwasty takie, jak: *Lolium rigidum*, *Avena fatua*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galli*, *Kochia scoparia* i *Coryza canadensis* zaliczane są do grupy roślin o wysokim ryzyku wystąpienia odporności na różne substancje aktywne herbicydów (83). Od początku lat osiemdziesiątych znacząco wzrasta liczba biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grup inhibitorów ALS i ACCase oraz pochodnych dinitroaniliny i glicyny (13, 114, 119, 167, 188). Według najnowszych danych (83) liczba biotypów odpornych na herbicydy z grupy pochodnych sulfonilomocznika przekroczyła 90. Taki stan powoduje, że herbicydy–inhibitory ALS, wyprzedzając grupę inhibitorów fotosyntezy (głównie triazyiny) są obecnie liderem wśród substancji, na które odporna jest największa liczba biotypów chwastów (tab. 2).



Rys. 5. Chronologiczny wzrost liczebności biotypów chwastów odpornych na herbicydy w skali całego świata (82)
Chronological increase of number of resistant weed biotypes for the whole world

Tabela 2

Liczba biotypów chwastów odpornych na różne grupy herbicydów (83)
Number of resistant biotypes on different herbicides

Grupa herbicydów Herbicide group	Przykładowe substancje aktywne Example active ingredients	Liczba biotypów odpornych Number of resistant biotypes
Inhibitory ALS ALS inhibitors	chlorsulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, jodosulfuron	90
Inhibitory PSII Photosystem II inhibitors	atrazine, simazine, prometryne, chlortoluron, diuron, metamitron	87
Inhibitory ACCase ACCase inhibitors	chizalofop-P, fluazifop-P, sethoxydim, tralkoxydim, diclofop-methyl	34
Syntetyczne auksyny Synthetic auxins	mocoprop, 2,4-D, MCPA, dicamba	24
Pochodne dinitroaniliny Dinitroanilines	trifluraline, pendimethalin, propyzamide	10
Pochodne glicyny Glicines	glyphosate	7

Opracowanie efektywnych programów zmierzających do ograniczenia selekcji biotypów odpornych wymaga ścisłej współpracy producentów środków ochrony roślin, jednostek naukowych i ustawodawczych oraz rolników. Spośród najczęściej spo-

tykanych zaleceń zmierzających do minimalizacji ryzyka rozwoju i rozprzestrzeniania odporności chwastów wymienia się zaniechanie licznych praktyk, które do tej odporności doprowadziły, takich jak: uprawa roślin w monokulturze, brak właściwej rotacji herbicydów, uproszczenia agrotechniczne itp. (16, 68, 121, 138, 154, 193). Opracowywane programy powinny uwzględniać:

- zmianowanie roślin – unikanie monokultury;
- odpowiedni dobór herbicydów (skuteczność zwalczania, mechanizm działania), rotacja herbicydów, stosowanie mieszanin;
- ograniczanie uproszczeń w uprawie, racjonalna agrotechnika;
- optymalizację chemicznych metod zwalczania chwastów z uwzględnieniem jednoczesnego stosowania metod mechanicznych i biologicznych;
- rozpoznanie stopnia zagrożenia na polu (obserwacje stanu zachwaszczenia, współpraca z jednostkami naukowymi);
- w miarę możliwości stosowanie zabiegów przedwzrostowych i uzupełniająco, w zależności od zagrożenia, po wschodach, innych środków.

Najprostsze wydaje się ograniczanie lub zapobieganie występowaniu zjawiska odporności prostej (na specyficzną substancję aktywną herbicydu) lub odporności krzyżowej (na grupę herbicydów o tym samym mechanizmie działania). W takim przypadku zwykle wystarczy zmienić rodzaj herbicydów na takie, które posiadają odmienny mechanizm działania oraz prowadzić prawidłowe zmianowanie roślin. Sytuacja staje

Tabela 3

Wybrane fragmenty klasyfikacji herbicydów w zależności od mechanizmu działania (wg HRAC)
Selected fragments of HRAC herbicide classification

Grupa Group HRAC	Mechanizm działania Mode of action	Przykładowe s.a. herbicydów Example a.i. of herbicides
A	inhibitory acetylo CoA karboksylazy ACCase inhibitors	quizalofop-P, fluazifop-P, dichlofop methyl, setoksydym, tralkoksydym
B	inhibitory ALS ALS inhibitors	chlorsulfuron, jodosulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, sulfosulfuron, triflusaluron, imazetapyr
C	inhibitory fotosyntezy PSII photosystem II inhibitors	atrazine, simazine, prometryne, metribuzine, cyanazine, metamitron, chloridazon, phenmedipham, desmedipham
C1		chlortoluron, diuron, isoproturon, linuron, metobromuron
C2		bentazone, bromoxynil, pyridate
C3		
D	inhibitory fotosyntezy PSI photosystem II inhibitors	diquat, paraquat
O	regulatory wzrostu (syntetyczne auksyny) synthetic auxins	2,4-D, dichlorprop, MCPA dicamba, clopyralid

się znacznie trudniejsza, gdy mamy do czynienia z multi odpornością, czyli odpornością na wiele różnych herbicydów i w stosunku do kilku gatunków chwastów występujących na danym stanowisku. Takie przypadki wymagają konsultacji z jednostkami naukowymi i inspektoratami ochrony roślin. Pierwszym zadaniem jest rozpoznanie typu występującej odporności. Dla uszeregowania i podziału odporności ze względu na mechanizm działania i grupy chemiczne środków ochrony roślin organizacja HRAC (ang. Herbicide Resistance Action Committee) opracowała klasyfikację herbicydów w zależności od mechanizmu ich działania (163). Substancje aktywne herbicydów uszeregowano w grupach oznaczonych literami od A do Z, z czego praktyczne znaczenie mają substancje znajdujące się w grupach od A do P. Herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII są w niej oznaczone literą „C” i w zależności od grupy chemicznej posiadają symbole C1, C2 i C3. Przykłady klasyfikacji zamieszczono w tabeli 3.

Zespół HRAC opracował również łatwą w interpretacji i użyciu tabelę, w której zawarto informacje stanowiące wytyczne dla rolników chcących uniknąć problemów związanych z pojawieniem się odpornych biotypów chwastów (tab. 4).

Tabela 4

Ocena ryzyka rozwoju odporności (wg HRAC)
Evaluation of resistance risk (acc. HRAC)

Opcje technologiczne Management options	Poziom ryzyka wystąpienia odporności Level of resistance risk		
	niski; low	średni; moderate	wysoki; high
Stosowane mieszanki lub rotacja herbicydów Herbicide mix or rotation	>2 mechanizmy działania >2 modes of action	2 mechanizmy 2 modes of action	1 mechanizm 1 mode of action
System zwalczania chwastów Weed control system	biologiczny, mechaniczny i chemiczny cultural, mechanical and chemical	biologiczny i chemiczny cultural and chemical	tylko chemiczny chemical only
Stosowanie herbicydów o tym samym mechanizmie działania w kilku sezonach Use of the same herbicide (mode of action) in few seasons	jednokrotnie once	więcej niż raz more than once	wielokrotnie many times
Zmianowanie roślin Plant rotation	pełna rotacja full rotation	ograniczona rotacja limited rotation	brak rotacji (monokultura) no rotation
Stan zachwaszczenia Weed infestation	niski low	średni moderate	wysoki high
Zwalczanie chwastów w ostatnich 3 latach Weed control in last 3 years	skuteczne good	średnie average	słabe poor

2.6. CECHY OSOBNIKÓW ODPORNÝCH

Oslabienie wydajności fotosyntezy jest zjawiskiem charakterystycznym dla wielu biotypów chwastów odpornych na herbicydy triazynowe (26, 31, 32, 54, 56, 123, 178). Badania genetyczne osobników odpornych dowodzą, że są one generalnie mniej produktywne niż ich odpowiedniki wrażliwe. W testach nad biotypami *Chenopodium album* (3), *Senecio vulgaris* (84, 85, 180) i *Solanum nigrum* (17) stwierdzono, że osobniki odporne charakteryzują się niższą biomasa i produktywnością nasion. J o r d a n (91) badając różnice pomiędzy biotypami odpornymi i wrażliwymi *Amaranthus hybridus* (Maryland, Virginia USA) stwierdził, że w tych samych warunkach siedliskowych osobniki odporne produkują od 30 do 60% biomasy mniej niż biotypy wrażliwe. Natomiast biotypy odporne *Amaranthus powellii* (174), *Amaranthus retroflexus* (24, 174, 186), *Amaranthus hybridus* (1), *Amaranthus rudis* (9), *Chenopodium album* (25) i *Senecio vulgaris* (180, 186) wykazywały mniejszą konkurencyjność w porównaniu z biotypami wrażliwymi. Wyniki badań dowodzą, że osłabiona funkcja chloroplastu u osobników odpornych na triazyny znacznie zmniejsza wydajność fotosyntezy, wzrost i produktywność roślin (28, 29, 44, 88, 124, 183). Osobniki takie cechują się mniejszą zdolnością do dominacji i rozprzestrzeniania się w warunkach naturalnych. Przedstawione rezultaty potwierdzają teorię selekcji pod wpływem herbicydów, gdyż tylko w takich warunkach (zwalczenie biotypów wrażliwych i brak konkurencyjności z ich strony) możliwa jest ekspansja osobników odpornych (86).

Przeprowadzono również wiele badań nad oceną wschodów nasion chwastów odpornych i wrażliwych. Uzyskane wyniki nie są jednoznaczne i nie mogą charakteryzować obu grup biotypów. Prace prowadzone z biotypami odpornymi i wrażliwymi *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Polygonum lapathifolium* i *Solanum nigrum* sugerują, że odporność wpływa hamująco na wschody i wzrost siewek (55). Również nasiona wrażliwego *Brassica campestris* wcześniej kiełkują niż biotypy odporne (120).

W a t s o n i in. (190) stwierdzili, że dynamika banku nasion w glebie odpornych i wrażliwych biotypów *Senecio vulgaris* zależna jest bardziej od technologii uprawy i stosowanych praktyk rolniczych niż różnic w charakterystyce kiełkowania nasion pomiędzy biotypami.

2.7. INFORMACJE O ODPORNOŚCI BIOTYPÓW CHWASTÓW OBJĘTYCH BADANIAMÍ

Informacje dotyczące odporności biotypów chwastów zostały opracowane na podstawie danych zebranych na stronie internetowej www.weedscience.com, prowadzonej pod patronatem trzech organizacji zajmujących się problemem odporności:

- Herbicide Resistance Action Committee (HRAC),
- North American Herbicide Resistance Action Committee (NAHRAC),
- Weed Science Society of America (WSSA).

Przedstawione dane opracowano w formie tabel (5-14), które zawierają podstawowe informacje dotyczące kraju, roku odkrycia, substancji aktywnej herbicydów oraz uprawy, w której zjawisko to zaobserwowano.

Spośród opisanych biotypów chwastów do najbardziej rozpowszechnionych i odpornych na wiele substancji aktywnych herbicydów można zaliczyć *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* (82).

Tabela 5

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Chenopodium album* L.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Chenopodium album* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Belgia; Belgium	1980	atrazine	kukurydza, przydroża maize, roadsides
Bułgaria; Bulgaria	1989	metribuzine	tereny uprawne cropland
Kanada (Ontario) Canada (Ontario)	1973	atrazine	kukurydza maize
Kanada (Ontario) Canada (Ontario)	2001	thifensulfuron-methyl	soja soybean
Czechy; Czech Rep.	1986	atrazine, cyanazine, lenacil, prometryne, terbuthylazynie, terbutryne	kukurydza, burak cukrowy maize, sugar beet
Francja; France	1978	atrazine	kukurydza maize
Niemcy; Germany	1980	simazine	kukurydza, ziemniak maize, potato
Grecja; Greece	200	metribuzine	ziemniak potato
Włochy; Italy	1982	atrazine	kukurydza maize
Nowa Zelandia; New Zealand	1979		
Norwegia; Norway	1994	metribuzine, linuron	tereny uprawne cropland
Polska; Poland	1988	atrazine	kukurydza maize
Słowenia; Slovenia	1996		
Hiszpania; Spain	1987		
Szwajcaria; Switzerland	1977		
Holandia; Holland	1980		
UK	1989	simazine	tereny uprawne cropland
USA (18 Stanów) USA (18 states)	1975-1998	atrazine, cyanazine, simazine, metribuzine	kukurydza, soja, przydroża maize, soybean, roadsides
USA (Michigan)	2001	imazamox, thifensulfuron-methyl	soja soybean

Tabela 6

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Amaranthus retroflexus* L.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Amaranthus retroflexus* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Bułgaria; Bulgaria	1984	atrazine, metribuzine, simazine	kukurydza, sady, winnice maize, orchards, vineyards
Bułgaria; Bulgaria	1984	linuron	tereny uprawne cropland
Kanada (Ontario) Canada (Ontario)	1980	atrazine	kukurydza maize
Chiny; China	1990		
Francja; France	1980		
Polska; Poland	1988		
Hiszpania; Spain	1986		
USA (8 stanów) USA (8 of states)	1980- 1995		
Kanada (Ontario) Canada (Ontario)	1998	imazetapyr, thifensulfuron- methyl	soja, kukurydza soybean, maize
Kanada (Ontario, Quebec) Canada (Ontario, Quebec)	2001	linuron	marchew, warzywa carrot, vegetables
Kanada (Manitoba) Canada (Manitoba)	2002	florasulam	pszenica wheat
Czechy; Czech Rep.	1985	atrazine, cyanazine, prometryne, terbutryne	kukurydza, burak cukrowy, przydroża, torowiska maize, sugar beet, roadsides, railways
Niemcy; Germany	1980	atrazine, fenuron	kukurydza, torowiska maize, railways
Grecja; Greece	2000	metribuzone	ziemniaki potato
Izrael; Israel	1991	chlorsulfuron	tereny zalesiane forest area
Włochy; Italy	1999	metamitron, chloridazon, terbutylazine	kukurydza, burak cukrowy, soja maize, sugar beet, soybean
Szwajcaria; Switzerland	1982	simazine	sady, warzywa, winnice orchards, vegetables, vineyards
USA (Connecticut)	1984	atrazine, cyanazine	kukurydza maize
USA (Maryland)	1998	imazaquin, imazetapyr	tereny uprawne cropland
USA (Pennsylvania)	1998	chlorimuron-methyl, clorasulam- methyl, imazamox, imazaquin, imazetapyr, primisulfuron, thifensulfuron-methyl	kukurydza, soja maize, soybean
USA (North Dakota)	1999	imazetapyr	soja soybean
Jugosławia; Yugoslavia	2002		
USA (Michigan)	2001	atrazine, diuron	asparagus
Jugosławia; Yugoslavia	1999	atrazine	kukurydza maize

Tabela 7

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Brazylia; Brazil	1999	quinclorac	ryż rice
Bułgaria; Bulgaria	1992	pendimethalin	sady orchards
Kanada; Canada	1981	atrazine	kukurydza maize
Czechy; Czech Rep.	1994		
Francja; France	1982		
Polska; Poland	1988		
Hiszpania; Spain	1992	propanil	ryż rice
Grecja; Greece	1986		
Włochy; Italy	2000		
Tajlandia; Thailand	1998	propanil, butachlor	ryż rice
USA (Maryland)	1978	atrazine, simazine, syanazine	kukurydza maize
USA (Arkansas)	1999	propanil, quinclorac	ryż rice
USA (California)	2000	fenoxaprop-P-ethyl, bentiocarb	ryż rice
Jugosławia; Yugoslavia	2002	imazetapyr	soja soybean

Tabela 8

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Papaver rhoeas* L.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Papaver rhoeas* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Grecja; Greece	1998	chlorsulfuron, thifensulfuron-methyl, triasulfuron, tribenuron-methyl	pszenica ozima winter wheat
Włochy; Italy	1998	tribenuron-methyl	pszenica wheat
Hiszpania; Spain	1993	2,4-D, tribenuron-methyl	zboża cereals
UK	2001	metsulfuron-methyl	zboża cereals

Tabela 9

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Polygonum persicaria* L.,
Polygonum aviculare L. i *Polygonum lapathifolium* L.
 Documented occurrence of resistant biotypes of *Polygonum persicaria* L., *Polygonum aviculare* L.
 and *Polygonum lapathifolium* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
<i>Polygonum persicaria</i> L.			
Czechy; Czech Rep.	1989	atrazine, cyanazine, prometryne, simazine, terbutryne, lenacil	torowiska, przydroża, kukurydza railways, roadsides, maize
Francja; France	1980	atrazine	kukurydza maize
Nowa Zelandia New Zealand	1993		
USA (Michigan)	2001	atrazine, simazine	kukurydza; maize
<i>Polygonum aviculare</i> L.			
Belgia; Belgium	1984	triazoles	sady jabłoni apple orchards
Holandia; Holland	1987	atrazine	kukurydza; maize
<i>Polygonum lapathifolium</i> L.			
Czechy; Czech Rep.	1982	atrazine, cyanazine, prometryne, simazine, terbutryne, lenacil	torowiska, przydroża, kukurydza railways, roadsides, maize
Francja; France	1979	atrazine	kukurydza maize
Niemcy; Germany	1988		
Hiszpania; Spain	1991		

Tabela 10

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Sinapis arvensis* L.
 Documented occurrence of resistant biotypes of *Sinapis arvensis* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Australia; Australia (Nowa Południowa Walia) (New South Wales)	1996	chlorsulfuron	pszenica wheat
Kanada (Ontario) Canada (Ontario)	1983	atrazine	kukurydza maize
Kanada (Manitoba) Canada (Manitoba)	1990	dicamba, dichlorprop, MCPA, 2,4-D, mecoprop, pikloram	jęczmień, pszenica barley, wheat
Kanada (Manitoba) Canada (Manitoba)	1992	etometsulfuron-methyl, metsulfuron- methyl	jęczmień, pszenica barley, wheat
Kanada (Alberta) Canada (Alberta)	1993	etometsulfuron-methyl	jęczmień, kanola barley, canola
Kanada (Manitoba Canada (Manitoba))	1994	metribuzine	pszenica wheat
Turcja; Turkey	2001	chlorsulfuron	pszenica; wheat
USA (Północna Dakota) USA (North Dacota)	1999	imazetapyr, clorasulam-methyl, tifensulfuron-methyl	soja soybean

Tabela 11

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Solanum nigrum* L.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Solanum nigrum* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Belgia; Belgium	1981	atrazine	kukurydza, przydroża maize, roadsides
Czechy; Czech Rep.	1999		
Francja; France	1979		
Niemcy; Germany	1980		
Włoch; Italy	1980		
Nowa Zelandia New Zealand	1999	atrazine, cyanazine, prometryne, terbuthylazine	kukurydza maize
Polska; Poland	1995	atrazine	sady, kukurydza, pastwiska orchards, maize, pastures
Hiszpania; Spain	1987		
Szwajcaria; Switzerland	1983		
Holandia; Holland	1981		
UK	1983	simazine	kukurydza maize

Tabela 12

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Capsella bursa-pastoris* (L.) Med.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Med.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Polska; Poland	1984	simazine	sady orchards

Tabela 13

Udokumentowane przypadki występowania odporności *Thlaspi arvense* L.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Thlaspi arvense* L.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Kanada (Alberta) Canada (Alberta)	2001	ethametsulfuron-methyl, thifensulfuron-methyl	tereny uprawne cropland

Tabela 14

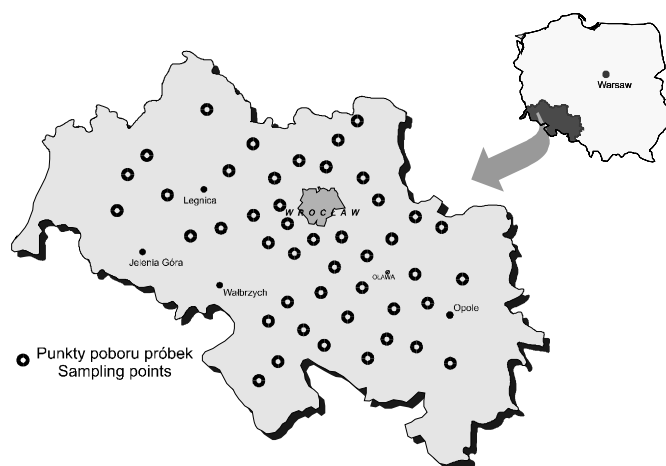
Udokumentowane przypadki występowania odporności *Stellaria media* (L.) Vill.
Documented occurrence of resistant biotypes of *Stellaria media* (L.) Vill.

Kraj Country	Rok Year	Substancja aktywna herbicydu Active ingredient of herbicide	Uprawa Crop
Kanada (Alberta) Canada (Alberta)	1988	chlorsulfuron	zboża; cereals
Dania; Denmark	1991		
Niemcy; Germany	1978	atrazine	kukurydza; maize
Irlandia; Ireland	1996	metsulfuron-methyl	zboża; cereals
Nowa Zelandia New Zealand	1995	chlorsulfuron	zboża; cereals
Norwegia; Norway	2002	mesosulfuron-methyl, tribenuron-methyl	zboża; cereals
Afryka Południowa South Africa	2002	chlorsulfuron, metsulfuron-methyl, tiasulfuron-methyl	zboża; cereals
Szwecja; Sweden	1995	chlorsulfuron, tribenuron-methyl	pszenica jara spring wheat
UK	1985	mecoprop	zboża; cereals
UK	2000	amidosulfuron, metsulfuron-methyl	zboża; cereals

3. MATERIAŁY I METODYKA

3.1. MATERIAŁ DO BADAŃ

Badania prowadzone w latach 1999–2004 obejmowały pola uprawne położone na terenie województw dolnośląskiego i opolskiego (rys. 6).



Rys. 6. Rozmieszczenie punktów, z których pobrano próbki roślin i nasion chwastów
Sampling points distribution

W sumie z 784 pól (szacowana powierzchnia ok. 15 tys. hektarów) pobrano materiał roślinny i nasienny różnych gatunków chwastów (tab. 15) w celu identyfikacji odporności. Na plantacjach tych farmerzy uprawiali przez ostatnie 5-10 lat, głównie w monokulturze lub zmianowaniu uproszczonym, kukurydzę, burak cukrowy i zboża. Do najczęściej stosowanych środków ochrony roślin należały herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII (tab. 16 i 17). Powyższe informacje uzyskano z wywiadu przeprowadzonego z właścicielami pól uprawnych. Rośliny i nasiona chwastów pobierano w okresie od maja do października, z uwzględnieniem zachwaszczenia wtórnego. Odporność biotypów chwastów ustalono metodami pomiaru zmian fluorescencji liści i testu biologicznego.

Tabela 15

Wykaz gatunków chwastów, z których pobrano próbki do analiz
List of weeds collected to determination

Skrót nazwy Shortcut of the name	Nazwa łacińska Latin name	Nazwa polska Common name
AETCY	<i>Aethusa cynapium</i> L.	blekot pospolity
ANTAR	<i>Anthemis arvensis</i> L.	rumian polny
AMARE	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	szarłat szorstki
CAPBP	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Med.	tasznik pospolity
CENCY	<i>Centaurea cyanus</i> L.	chaber bławatek
CHEAL	<i>Chenopodium album</i> L.	komosa biała
ECHCG	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	chwastnica jednostronna
GALAP	<i>Galium aparine</i> L.	przytulia czepna
GERPU	<i>Geranium pusillum</i> L.	bodiszek drobny
HSYNI	<i>Hyoscyamus niger</i> L.	lulek czarny
LAMAM	<i>Lamium amplexicaule</i> L.	jasnota różowa
LAMPU	<i>Lamium purpureum</i> L.	jasnota purpurowa
MYOAR	<i>Myosotis arvensis</i> (L.) Hill	niezapominajka polna
PAPRH	<i>Papaver rhoeas</i> L.	mak polny
POLAV	<i>Polygonum aviculare</i> L.	rdest ptasi
POLCO	<i>Polygonum convolvulus</i> L.	rdest powojowy
POLPE	<i>Polygonum persicaria</i> L.	rdest plamisty
SINAR	<i>Sinapis arvensis</i> L.	gorczyca polna – ognicha
SOLNI	<i>Solanum nigrum</i> L.	psianka czarna
STEME	<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	gwiazdnica pospolita
THLAR	<i>Thlaspi arvense</i> L.	tobołki polne
VIOAR	<i>Viola arvensis</i> Murr.	fiołek polny
VERPE	<i>Veronica persica</i> Poiret	przetacznik perski

Tabela 16

Herbicydy uwzględnione w badaniach odporności
Herbicides used to tests

Herbicyd Herbicide	Substancja aktywna (s.a.) Active ingredient (a.i.)	Zawartość s.a. Content of a.i.	Producent Producer
Gesaprim 90 WG	atrazine	90%	Syngenta
Bladex 500 SC	cyanazine	500 g l ⁻¹	BASF
Gesagard 500 SC	prometryne	500 g l ⁻¹	Syngenta
Azotop 50 WP	simazine	50%	Organika - Azot
Sencor 70 WG	metribuzine	70%	Bayer
Goltix 70 WG	metamitron	70%	Bayer
Dicuran 80 WP	chlortoluron	80%	Syngenta
Arelon 75 WP	isoproturon	75%	Aventis
Afalon 50 WP	linuron	50%	Bayer
Patoran 500 SC	metobromuron	500 g l ⁻¹	BASF
Venzar 80 WP	lenacil	80%	DuPont
Betanal AM 11 160 EC	phenmedipham + desmedipham	80 g l ⁻¹ + 80 g l ⁻¹	Aventis
Pyramin 65 WP	chloridazon	65%	BASF
Basagran 480 SL	bentazone	480 g l ⁻¹	BASF

Tabela 17

Wykaz substancji aktywnych herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII (181)
List of herbicide active ingredients – inhibitors of photosynthesis PSII

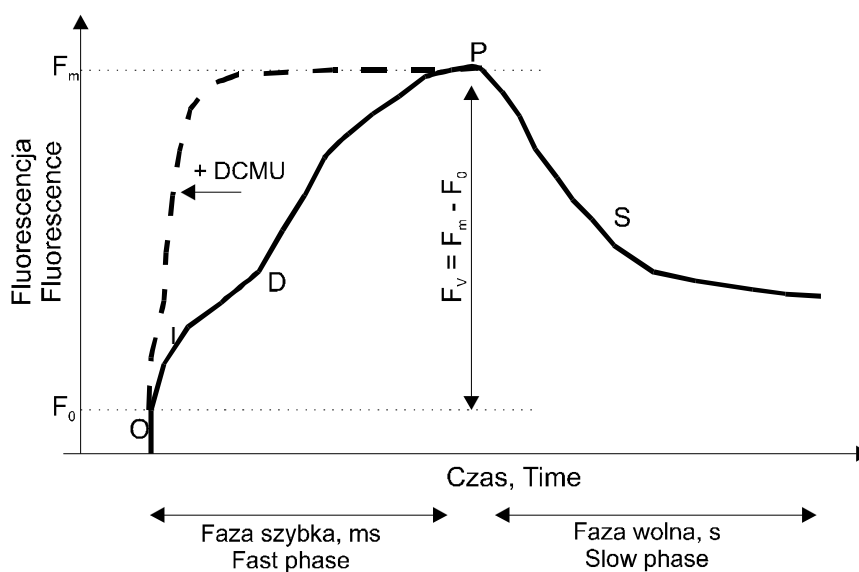
Lp. No	Substancja aktywna Active ingredient	Nazwa wg IUPAC IUPAC name
Pochodne triazyny; Triazine derivatives		
1.	Atrazine	6-chloro-N ² -ethyl-N ⁴ -isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
2.	Cyanazine	2-(4-chloro-ethylamino-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-methyl
3.	Prometryne	N ² -N ⁴ -di-isopropyl-6-(methylthio)-1,3,5-triazine-2,4-diamine
4.	Simazine	6-chloro-N ² ,N ⁴ -diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
5.	Metribuzine	4-amino-6-tert-butyl-3-(methylthio)-1,2,4-triazin-5(4H)-one
6.	Metamitron	4-amino-4,5-dihydro-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-one
Pochodne fenylomocznika; Phenylurea derivatives		
7.	Chlortoluron	3-(3-chloro-p-tolyl)-1,1-dimethylurea
8.	Isoproturon	3-(4-isopropylphenyl)-1,1-dimethylurea
9.	Linuron	3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea
10.	Metobromuron	3-(4-bromophenyl)-1-methoxy-1-methylurea
Pochodne uracylu		
11.	Lenacil	3-cyclohexyl-1,5,6,7-tetrahydrocyclopentapyrimidine-2,4(3H)-dione
Pochodne kwasu karbaminowego; Carbamate acid derivatives		
12.	Phenmedipham	methyl 3-(3-methylcarbaniloxy) carbanilate
13.	Desmedipham	ethyl 3-phenylcarbamoyloxyphenylcarbamate
Pochodne diazyn; Diazine derivatives		
14.	Chloridazon (pirazon)	5-amino-4-chloro-2-phenylpyridazin-3(2H)-one
15.	Bentazone	3-isopropyl-1H-2,1,3-benzothiadiazin-4(3H)-one 2,2-dioxide

3.2. METODY IDENTYFIKACJI BIOTYPÓW ODPORNÝCH

3.2.1. Pomiar fluorescencji liści

Krzywa indukcji fluorescencji (efekt Kautskyego)

Emisję fluorescencji chlorofilu *a* w materiale fotosyntetycznym można przedstawić jako krzywą indukcji fluorescencji (rys. 7). Jeśli liść lub preparat chloroplastów przechowywany przez pewien czas w ciemności (ok. 30 min.) oświetli się nasycającym błyskiem światła, to fluorescencja chlorofilu wzrasta stromo do początkowego poziomu 0 (fluorescencja F_0), a następnie rośnie w ułamku sekundy osiągając maksimum w punkcie P (fluorescencja maksymalna F_m), po czym spada w ciągu kilku sekund do poziomu S (F_s). Ten nagły wzrost i następujący później wolny spadek fluorescencji chlorofilu został po raz pierwszy zaobserwowany przez Kautskyego w 1931 roku i określany jest jako „efekt Kautskyego” (62, 73).



Rys. 7. Schematyczna ilustracja indukowanej fluorescencji w liściu w czasie oświetlania (po adaptacji do ciemności); (73)
Curve of leaf fluorescence

Kształt krzywej indukcji fluorescencji zależy od zawartości chlorofilu w materiale roślinnym, okresu adaptacji do ciemności, natężenia światła wzbudzającego, obecności inhibitorów itp.

Interpretacja krzywej indukcji fluorescencji w odniesieniu do procesów fotosyntetycznych zachodzących w fotosystemie II (PSII)

W czasie adaptacji liści do ciemności nie ma możliwości aby zaszły reakcje fotochemiczne. Początkowy, gwałtowny wzrost fluorescencji do wartości F_0 pochodzi głównie z chlorofili anten PSII (w małym stopniu z anten zasilających PSI) zanim ekscyton zostanie przekazany do centrum reakcji. Na poziomie 0 wszystkie chlorofile centrów reakcji są „otwarte” i mogą przyjąć foton, a wszystkie przenośniki elektronów w PSII są w stanie utlenionym, tzn. F_0 jest wartością fluorescencji otwartych centrów reakcji. Po wzbudzeniu chlorofilu z centrum reakcji rozpoczyna się przeniesienie ładunku; Q_A ulega redukcji i fluorescencja szybko wzrasta do punktu I (rys. 7). Ponieważ elektrony są przenoszone ze zredukowanego Q_A do Q_B szybkość wzrostu fluorescencji maleje (punkt D). W końcu, kiedy wszystkie cząsteczki Q_A są zredukowane nie może dalej następować przeniesienie ładunku z chlorofili centrum reakcji na Q_A , a także centra reakcji nie mogą ulegać wzbudzeniu, to znaczy, iż są zamknięte. Prawdopodobieństwo rozproszenia energii wzbudzenia z chlorofilu *a* jest w tym stanie większe – fluorescencja osiąga wartość maksymalną F_m w punkcie P krzywej indukcji fluorescencji. Następne „wolne” zanikanie fluorescencji od punktu P do S jest wynikiem utlenienia Q_A , gdyż elektrony są przekazywane dalej do Q_B i poza ten przekaznik do NADP (fosforan nukleotydu nikotynamidoadeninowy) przez kompleks *cyt b₆f* i PSI.

Obraz krzywej indukcji fluorescencji w liściu może ulec zmianie po dodaniu (przed oświetleniem) substancji blokującej transport elektronów z Q_A do Q_B (inhibitor fotosyntezy PSII, np. DCMU (dichlorometylomocznik – diuron)), po którym poziom F_m zostaje osiągnięty szybciej i utrzymywany jest (linia przerywana na rysunku 7) przez dłuższy czas (62, 73).

Maksimum fluorescencji dla cząsteczki chlorofilu *a* w roztworze jest obserwowane przy długości fali równej 668 nm. W izolowanych chloroplastach oraz w nienaruszonych liściach roślin i glonach długość fali, przy której występuje maksimum fluorescencji wynosi około 685 nm, do czego głównie przyczynia się fluorescencja z kompleksów zbierających energię LHC (Light-Harvesting Complex) związanych z fotosystemem II. Widmo emisyjne fluorescencji i jej zmiany w czasie mogą być dogodnie rejestrowane bez potrzeby uszkodzenia materiału badawczego (np. liścia). Technika pomiaru fluorescencji chlorofilu jest nieinwazyjna i niedestrukcyjna dla roślin i w ciągu kilkunastu sekund dostarcza informacji o zmianach w przebiegu fotosyntezy.

Materiał i jego przygotowanie do analiz

Materiałem do badań były liście chwastów. Z jednego pola uprawnego (wzdłuż jego przekątnej) pobierano 100 roślin znajdujących się w fazie umożliwiającej odcięcie 5 młodych, dobrze wykształconych liści. Próbkę roślin przechowywano w lodówce, w woreczkach foliowych lub pojemnikach plastikowych do czasu wykonania analiz, lecz nie dłużej niż 6 dni od momentu zbioru.

Przygotowanie roztworów i pomiary fluorescencji oparto na metodzie opisanej przez D u c r u e t a i G a s q u e z a (43), którą zmodyfikowali D e P r a d o i in. (36), K u c h a r s k i i R o l a (103) oraz F r a g a i T a s e n d e (47).

Bezpośrednio przed przystąpieniem do analizy z każdej rośliny odcinano 5 młodych, dobrze wykształconych liści. Trzy z nich moczone (szalki Petriego) w roztworze wodnym substancji aktywnej herbicydu (stężenie ok. 100 μM), a pozostałe dwa liście w wodzie destylowanej (kontrola). Całkowity czas moczenia próbek wynosił cztery godziny. Wszystkie próbki liści przenoszono do komory klimatycznej, w której temperatura powietrza wynosiła $22 \pm 0,2^\circ\text{C}$, a natężenie oświetlenia $350 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Po trzech godzinach wyłączono oświetlenie i przez 1 godzinę próbki przechowywano w ciemności. Po tym czasie liście poddawano analizie. Do wykonania pomiarów wykorzystywano spektrofotometr fluorescencyjny firmy HITACHI, model F-2500, wyposażony w przystawkę do próbek stałych (rys. 8).

W przyrządzie pomiarowym utrzymywano następujące parametry:

długość fali wzbudzenia (EX)	470 nm
długość fali emisji (EM)	685 nm
czas pomiaru	60 s
wielkość szczeliny EX/EM	5/5 nm.

Kolejno każdy liść (moczone w roztworze substancji aktywnej herbicydu i wodzie – kontrola) umieszczano w celi pomiarowej, wykonując pomiar fluorescencji. Wynikiem przeprowadzonej analizy była krzywa zmian fluorescencji w czasie.

Interpretacja wyniku analizy

Po otwarciu przysłony spektrofotometru następowała rejestracja wartości fluorescencji. Dla obiektu kontrolnego fluorescencja osiąga poziom maksymalny, a następnie jej wartość szybko spada i po około 30 sekundach ulega stabilizacji; fluorescencja kształtuje się na poziomie 80-90% wartości maksymalnej. W próbkach, które wykazują wrażliwość na zastosowaną substancję aktywną herbicydu po osiągnięciu maksymalnej fluorescencji nie odnotowuje się jej spadku z upływem czasu (wartość fluorescencji jest zbliżona do maksymalnej w ciągu czasu trwania pomiaru i nie spada o więcej niż 1-3% poziomu maksymalnego); (rys. 9A). Natomiast krzywe uzyskane po analizie prób odpornych na substancję aktywną herbicydu są zbliżone w swoim przebiegu do próby kontrolnej (moczonej w wodzie); (rys. 9B).

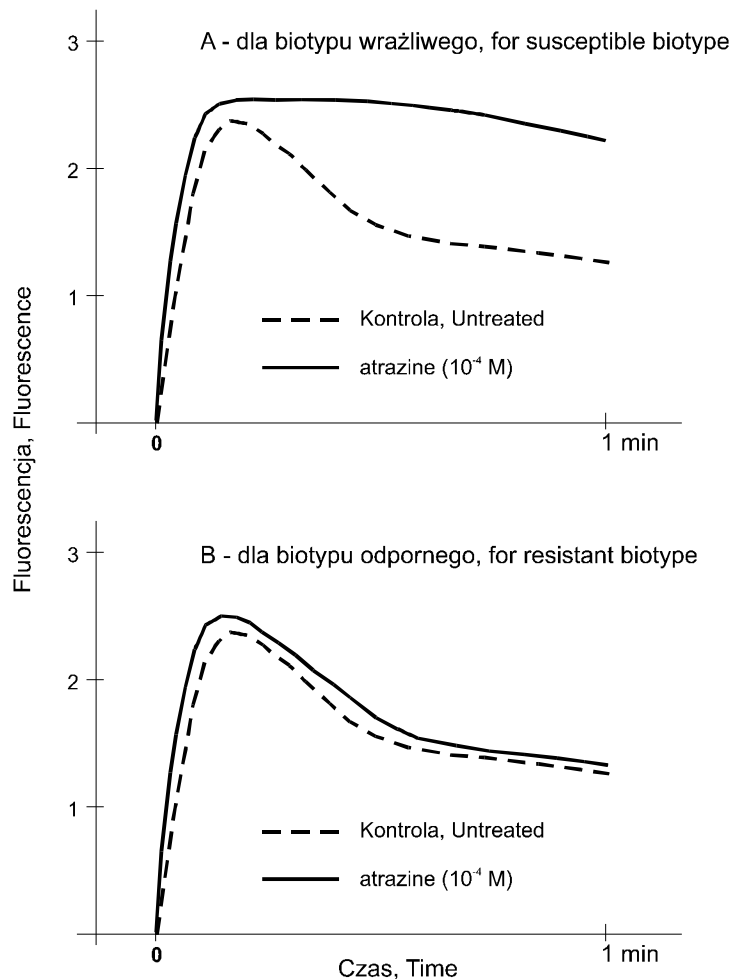
Obraz krzywej indukcji fluorescencji (osiągane maksimum oraz kąt nachylenia przy spadku wartości) jest zależny od rodzaju badanej rośliny i substancji biologicznie czynnej, dlatego też konieczny jest każdorazowy pomiar fluorescencji dla próbek kontrolnych w celu prawidłowej interpretacji uzyskiwanych wyników.

Na podstawie doświadczeń własnych oraz konsultacji z RICP (Praga, Czechy) i INRA (Dijon, Francja), gdzie metoda pomiaru fluorescencji jest również wykorzystywana ustalono, że dla przebadanych wielu próbek roślin można przyjąć:



Rys. 8. Aparatura do pomiaru zmian fluorescencji – Hitachi F-2500
Fluorescence spectrophotometer Hitachi F-2500

- dla rośliny wrażliwej moczonej w roztworze herbicydu – utrzymywanie się wartości fluorescencji na poziomie maksymalnym w czasie trwania pomiaru (ewentualny spadek do 97% wartości maksymalnej);
- dla rośliny odpornej – przebieg zbliżony, jak dla kontroli, tj. po osiągnięciu wartości maksymalnej następuje szybki spadek i stabilizacja na poziomie 80-90% wartości maksymalnej. Dla kilku roślin (np. *Echinochloa crus-galli*) spadek wartości



Rys. 9. Krzywe zmian fluorescencji dla wzorców *Chenopodium album* wrażliwego (A) i odpornego (B) na atrazynę
Fluorescence curves for atrazine susceptible (A) and resistant (B) *Chenopodium album* standards

fluorescencji był gwałtowny, a stabilizacja (po ok. 20 sekundach) została osiągnięta (linia prosta) na poziomie 75-85% wartości maksymalnej.

Próbki, dla których przebieg krzywych fluorescencji poszczególnych liści był odmienny (zgodnie z powyższymi założeniami) były odrzucane i nie uwzględniane w wynikach. Rezultat końcowy analizy nie był zatem średnią z dwóch lub trzech powtórzeń, a jedynie stanowił potwierdzenie, czy dana próbka jest wrażliwa, odporna czy też ze względu na rozbieżności w wynikach dla poszczególnych liści należy tę próbkę odrzucić. Takie postępowanie wydaje się słuszne, szczególnie w przypadku, gdy materiał roślinny pobierany jest w ramach badań monitoringowych z nieznanymi

pól. Na przebieg krzywych fluorescencji mogą wpływać niewielkie miejscowe uszkodzenia liści lub wcześniej stosowane herbicydy (o mechanizmie innym niż inhibitory fotosyntezy), w przypadku których mogą występować zakłócenia w fotosyntezie jako efekt wtórny lub dodatkowy w procesie niszczenia chwastu.

Przyjęte kryteria oceny odporności roślin metodą pomiaru fluorescencji umożliwiają określenie stanów skrajnych, tj. badany osobnik jest wrażliwy lub odporny. Uzyskane dotychczas wyniki analiz nie pozwalają zinterpretować przypadków pośrednich, natomiast można to uczynić przy zastosowaniu metody testów biologicznych i wyznaczeniu indeksu odporności.

3.2.2. Metoda testu biologicznego

Test biologiczny został opracowany w Zakładzie Ekologii i Zwalczania Chwastów IUNG we Wrocławiu i opisany przez R o l ę (148). Dla prawidłowej oceny zachowania się chwastów po aplikacji herbicydu w tabelach 18-20 zamieszczono informacje o wrażliwości badanych chwastów na substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy. Dane zawarte w tabelach opracowano na podstawie Komputerowej Bazy Herbicydów – INFOHERB (97, 98) opracowanej w Zakładzie Ekologii i Zwalczania Chwastów IUNG oraz na podstawie Zaleceń Ochrony Roślin na lata 2004/05 (200).

Pobieranie i przygotowanie nasion

Nasiona chwastów zbierano w okresie ich dojrzałości pełnej. Na polach uprawnych, po ich przekątnej, wytyczono bloki o powierzchni 100 m² (10 x 10 m). W obrębie bloku identyfikowano rosnące gatunki chwastów, a następnie z każdej rośliny pobierano całe kwiatostany. W zależności od wielkości plantacji nasiona chwastów zbierano z 5 do 10 bloków. Następnie nasiona suszono w temperaturze pokojowej, oczyszczono, oznakowano i przechowywano w ciemnym, suchym miejscu do momentu przeprowadzenia testów.

Przed siewem, dla pobudzenia procesu kiełkowania, nasiona moczoło przez 12 godzin w roztworze kwasu giberelinowego GA-3, rozcieńczonego wodą destylowaną w stosunku 1:20 (1 część objętościowa kwasu i 19 części wody). Po upływie wyznaczonego czasu nasiona osuszono w temperaturze pokojowej na papierowych tackach.

Przygotowanie substratu glebowego

Podłożem do testów był substrat glebowy składający się z mieszaniny torfu odkwaszonego o pH = 6,5-7,0 i piasku wyprażonego w suszarce laboratoryjnej przez 24 h, w temperaturze 105°C, w stosunku objętościowym 2:1. Dla tak przygotowanego substratu określono maksymalną pojemność wodną.

Tabela 18

Wrażliwość chwastów na herbicydy triazynowe
Susceptibility of weeds on triazine herbicides

Chwast Weed	Substancja aktywna herbicydu Herbicide active ingredient					
	atrazine	simazine	cyanazine	pronetryne	metribuzine	metamitron
AETCY	S	S	bd	bd	bd	O
ANTAR	W	W	S	W	W	S
AMARE	S		S	S	W	W
CAPBP	W	W	bd	W	W	W
CENCY	W	W	W	bd	W	W
CHEAL	W	W	W	W	S	W
ECHCG	S	S	S	S	S	O
GALAP	O	O	S	O	O	S
GERPU	S	S	O	W	bd	O
HSYNI	S	S	O	bd	bd	bd
LAMAM	W	W	W	W	W	W
LAMPU	W	W	S	W	W	W
MYOAR	W	W	W	bd	bd	W
PAPRH	W	W	W	W	bd	S
POLAV	W	S	S	S	S	S
POLCO	S	S	S	S	S	O
POLPE	S	S	W	W	S	W
SINAR	W	W	S	W	W	S
SOLNI	W	S	S	W	O	W
STEME	W	W	W	W	W	W
THLAR	W	W	W	W	W	W
VIOAR	W	W	W	S	W	W
VERPE	S	S	W	W	W	W

W – wrażliwy; susceptible

S – średnio wrażliwy; semi susceptible

O – odporny, resistant

bd – brak danych; no tested

pełne nazwy chwastów i ich odpowiedniki kodowe zamieszczono w tabeli 15; latin name of weeds inserted in table 15

Przebieg testu

Plastikowe doniczki o pojemności 320 ml napełniono taką samą ilością przygotowanego substratu glebowego (wagowo). W następnym etapie substrat we wszystkich doniczkach podlewano wodą, uzyskując wilgotność na poziomie 60% maksymalnej pojemności wodnej. Przez cały okres prowadzenia testu doniczki uzupełniano wodą (wagowo) tak, aby utrzymać stałą wilgotność podłoża.

Nasiona chwastów wysiewano na głębokości 2-3 mm (5 nasion w doniczce). Testy biologiczne prowadzono w warunkach kontrolowanych w szklarni, gdzie utrzymywano temperaturę $25/15 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (dzień/noc). Pomieszczenie doświetlano lampami sodowymi tak, aby natężenie światła wynosiło $450 \pm 50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ przez 16 godzin

Tabela 19

Wrażliwość chwastów na pochodne fenylomocznika
Susceptibility of weeds on phenylurea derivatives

Chwast Weed	Substancja aktywna herbicydu Herbicide active ingredient			
	chlortoluron	isproturon	linuron	metobromuron
AETCY	S	S	bd	bd
ANTAR	W	W	O	W
AMARE	bd	bd	W	bd
CAPBP	W	W	W	W
CENCY	W	S	bd	S
CHEAL	W	W	W	W
ECHCG	O	S	bd	S
GALAP	S	O	O	S
GERPU	O	W	W	S
HYSNI	S	O	bd	bd
LAMAM	W	O	S	bd
LAMPU	O	S	bd	bd
MYOAR	W	W	bd	bd
PAPRH	O	W	bd	bd
POLAV	W	O	S	S
POLCO	S	O	W	S
POLPE	O	O	W	S
SINAR	S	W	W	W
SOLNI	bd	O	S	bd
STEME	W	W	W	W
THLAR	W	W	W	W
VIOAR	O	O	S	bd
VERPE	O	O	S	S

objaśnienia jak dla tabeli 18; explanation as a table 18

w cyklu dobowym. Po ustaleniu się wschodów utrzymywano stałą liczbę roślin w doniczce. Herbicydy aplikowano w ilościach stanowiących 0,5, 1, 2, 4, 8, a w niektórych przypadkach 16- i 32-krotność dawki rekomendowanej przez producenta w zabiegach polowych (N); (tab. 21). Herbicydy stosowano zgodnie z terminem ich aplikacji, tj. przedwschodowo (1 godzinę po wysianiu) lub powschodowo, gdy roślina była w fazie 3-4 liści. Zabiegi herbicydowe wykonano w stacjonarnej komorze opryskowej wyposażonej w ruchomą dyszę typu TeeJet XR11003-VS, utrzymując wydajność cieczy użytkowej na poziomie 250 l · ha⁻¹ przy ciśnieniu 250 kPa.

Kondycję roślin oceniano wizualnie 3-4 tygodnie po wykonanym zabiegu, stosując skalę 0-100, gdzie 100 oznacza dobrą kondycję rośliny i brak uszkodzeń, natomiast 0 oznacza całkowite zniszczenie i śmierć rośliny. Około 5-6 tygodni po aplikacji herbicydów oznaczano świeżę, a po wysuszeniu suchą masę testowanych roślin. Do oceny działania herbicydów zastosowano wskaźnik ED₅₀ (Effective Dose), tj. określano wielkość dawki herbicydu, po zastosowaniu której masa roślin zmniejszyła się o 50%

Tabela 20

Wrażliwość chwastów na pochodne diazyn, kwasu karbaminowego i uracylu
Susceptibility of weeds on diazine, carbamine acid and uracil derivatives

Chwast Weed	Substancja aktywna herbicydu Herbicide active ingredient			
	chloridazon	bentazone	phenmedipham + desmedipham	lenacil
AETCY	O	S	O	bd
ANTAR	W	W	O	bd
AMARE	S	W	W	O
CAPBP	W	W	W	W
CENCY	S	W	O	bd
CHEAL	W	S	W	W
ECHCG	O	O	O	S
GALAP	S	W	O	O
GERPU	bd	W	S	bd
HYSNI	bd	W	O	bd
LAMAM	W	S	W	S
LAMPU	W	S	W	S
MYOAR	bd	W	S	W
PAPRH	W	W	S	W
POLAV	S	S	O	bd
POLCO	W	W	S	W
POLPE	W	S	S	bd
SINAR	W	W	W	W
SOLNI	W	W	S	bd
STEME	W	W	W	bd
THLAR	W	W	W	bd
VIOAR	bd	S	S	bd
VERPE	W	S	S	S

objaśnienia jak dla tabeli 18; explanation as for table 18

w porównaniu z obiektem kontrolnym (metodyka oceny odporności zgodna z zaleceniami HRAC).

Doświadczenia testowe wykonywano w trzech powtórzeniach, a uzyskane wyniki porównano z kontrolą (obiekty nie opryskiwane herbicydami). Podobny przebieg testów biologicznych do oceny odporności różnych biotypów roślin na herbicydy opisuje M a e r t e n s i in. (119).

Wszystkie konieczne w prowadzeniu testów analizy statystyczne, takie jak: obliczenie średniej, błędu i odchylenia standardowego, zastosowanie jednoczynnikowej analizy wariancji dla doświadczeń w układzie losowanych bloków (istotność różnic testowana z wykorzystaniem 95% przedziału ufności Tukeya) wykonano w programie STATGRAPHICS, wersja 1.41PL.

Tabela 21

Dawki substancji aktywnych herbicydów zastosowanych w testach biologicznych
oceny odporności [kg s.a. ha⁻¹]
Doses of herbicide active ingredients used in bioassay

Substancja aktywna Active ingredient	1/2N	N	2N	4N	8N
Atrazine	0,72	1,44	2,88	5,76	11,52
Cyanazine	0,63	1,25	2,5	5,0	10,0
Prometryne	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Simazine	0,75	1,5	3,0	6,0	12,0
Metrybuzine	0,35	0,7	1,4	2,8	5,6
Metamitron	1,4	2,8	5,6	11,2	22,4
Chlortoluron	0,8	1,6	3,2	6,4	12,8
Isoproturon	0,75	1,5	3,0	6,0	12,0
Linuron	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Metobromuron	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0
Lenacil	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
Phenmedipham + desmedipham	0,24 + 0,24	0,48 + 0,48	0,96 + 0,96	1,92 + 1,92	3,84 + 3,84
Chloridazon	1,63	3,25	6,5	13,0	26,0
Bentazone	0,72	1,44	2,88	5,76	11,52

N – dawka rekomendowana; recommended dose

3.3. BADANIE ODPORNOŚCI – PORÓWNANIE METOD IDENTYFIKACJI

Pomiar zmian fluorescencji liści roślin jest metodą umożliwiającą szybką identyfikację biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII. W różnych ośrodkach badawczych technika ta stosowana była głównie do rozpoznawania odporności roślin na herbicydy z grupy triazyn (19, 43, 47, 103). Założeniem podjętych badań było sprawdzenie skuteczności i przydatności metody pomiaru fluorescencji do identyfikacji biotypów odpornych na badane herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy. W tym celu porównano wyniki uzyskane z analiz prowadzonych dwiema metodami: pomiaru fluorescencji i testu biologicznego. Materiałem do badań były nasiona wzorców wrażliwych i odpornych biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Polygonum convolvulus* i *Solanum nigrum* pochodzące ze zbiorów własnych Zakładu Ekologii i Zwalczania Chwastów IUNG we Wrocławiu oraz z Research Institute for Crop Production w Pradze. Ponadto testowano materiał nasienny wymienionych chwastów pobrany z pól uprawnych Dolnego Śląska w latach 2002–2003. W sumie w badaniach przetestowano 142 próby chwastów w trzech powtórzeniach.

Nasiona chwastów wysiewano w doniczkach zgodnie z procedurą przewidzianą dla testu biologicznego (rozdz. 3.2.2.) z uwzględnieniem podwojonej liczby doniczek

dla każdego testu. Po wschodach doniczki z roślinami podzielono na dwie części. Pierwszą część poddano dalszym czynnościom przewidzianym w teście biologicznym. Rośliny z drugiej części po osiągnięciu fazy 8-12 liści testowano metodą pomiaru fluorescencji zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 3.2.1.

3.4. ODPORNOŚĆ CHWASTÓW NA ATRAZYNEĘ I ZMIANY W LICZEBNOŚCI OSOBNIKÓW ODPORNYCH

Przedstawiona praca jest wynikiem badań wykonywanych w dwóch etapach. Pierwszy etap to prace wykonane w ramach projektu badawczego KBN nr 5P06B00116, który obejmował identyfikację osobników *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na atrazyneę oraz określenie ich występowania i konkurencyjnego oddziaływania.

Badania zlokalizowane na polach Dolnego Śląska i Opolszczyzny prowadzono w latach 1999–2000. W tym okresie materiał roślinny i nasiona chwastów pobrano z 372 pól, na których uprawiano, głównie w monokulturze lub uproszczonym zmianowaniu, kukurydzę. Odporność biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* identyfikowano metodą testu biologicznego i metodą pomiaru fluorescencji. Na kilkunastu polach, na których obserwowano osobniki odporne, miejsca pobrania tych chwastów oznaczono reperami umożliwiającymi łatwe odnalezienie tych samych powierzchni w celu wykonania ponownej analizy w latach następnych.

Drugi etap badań (lata 2002–2004) prowadzony w ramach projektu badawczego KBN nr 3P06R09724 obejmował identyfikację i występowanie zjawiska odporności prostej i krzyżowej w obrębie 23 gatunków chwastów traktowanych 15 substancjami aktywnymi herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII. W etapie tym dopracowano, porównano i poszerzono zastosowanie metody pomiaru fluorescencji w identyfikowaniu i ilościowej analizie występowania osobników odpornych w populacji. Powrócono również na wcześniej objęte badaniami pola i ponownie, w znacznie poszerzonym zakresie (zwiększona liczba testowanych substancji aktywnych i gatunków chwastów), analizowano pobrane próbki roślin i nasion występujących tam chwastów. W przypadku kilku oznaczonych wcześniej reperami pól ustalono również na podstawie wywiadu z rolnikami jakie rośliny uprawiano i jakie herbicydy stosowano na tych polach na przestrzeni ostatnich lat. Dokładne dane zamieszczono w tabeli 29 w rozdziale z omówieniem wyników tego doświadczenia.

3.4.1. Wyznaczanie indeksu odporności

Jednym z parametrów charakteryzujących stopień odporności jest tzw. indeks odporności (ang. Resistance Index – RI). Jest on wyznaczany na podstawie wyników analiz prowadzonych metodą testu biologicznego (określenie wskaźnika ED_{50} dla świeżej masy chwastów – rozdz. 3.2.2.).

Prawidłowo wykonany test powinien obejmować stosowanie herbicydu w co najmniej 6 dawkach, z uwzględnieniem stężeń niższych i wyższych od tych rekomendowanych przez producenta danego preparatu.

W pracy indeks odporności wyliczono dla 45 biotypów *Amaranthus retroflexus*, 53 – *Chenopodium album* i dla 15 – *Echinochloa crus-galli* pobranych z pól Dolnego Śląska w latach 1999–2000.

Osobniki wrażliwe (wzorce) i odporne (opisane powyżej) opryskano atrazyną w dawkach: 0,25N, 0,5N, 1N, 2N, 4N, 8N, 16N, 32N i 64N (N – dawka rekomendowana).

Krzywe zależności zmian świeżej masy chwastów od zastosowanej dawki substancji aktywnej herbicydu obrazują wyniki uzyskane w teście biologicznym. Na podstawie sporządzonego wykresu określono wartości ED_{50} dla osobników wrażliwych i odpornych, a następnie obliczono wartość indeksu odporności.

3.4.2. Wpływ zmiany asortymentu herbicydów na liczebność osobników odpornych

W Teodorowie (ok. 30 km na południowy zachód od Wrocławia) w latach 2000–2004 prowadzono doświadczenie na plantacji kukurydzy uprawianej od 1992 roku w monokulturze, którą corocznie odchwaszczano herbicydami zawierającym głównie atrazynę lub jej mieszaninę z metolachlorem i pendimetaliną. Na polu tym zidentyfikowano odporne na atrazynę *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli*. W roku 2000 plantację podzielono na dwie części, każda po około 10 ha (obiekt A i B). Na obu częściach wytyczono po trzy prostokąty o bokach 30 na 50 metrów każdy (pow. każdego 1500 m²). Z oznaczonych powierzchni pobrano próbki omawianych gatunków chwastów i metodą pomiaru fluorescencji określono liczebność osobników odpornych w poszczególnych zbiorowiskach. Na jednej części (obiekt A) nadal corocznie stosowano atrazynę lub jej mieszanki, na drugiej (obiekt B) zaś zmieniono dotychczas stosowane herbicydy na środki z grupy sulfonilomocznika (Milagro 040 SC, Titus 25 WG i Maister 310 WG). Dokładne dane zamieszczono w tabeli 30 w rozdziale omawiającym wyniki tego doświadczenia. W roku 2004 obie części plantacji poddano ocenie stanu zachwaszczenia; z oznaczonych powierzchni pobrano próbki chwastów i metodą pomiaru fluorescencji określono liczebność osobników odpornych w poszczególnych zbiorowiskach.

3.5. USTALENIE KONKURENCYJNEGO ODDZIAŁYWANIA CHWASTÓW ODPORNYCH NA PŁONOWANIE KUKURYDZY

W ramach projektu badawczego KBN nr 5P06B00116 w roku 2001 prowadzono badania nad konkurencyjnym oddziaływaniem odpornych osobników *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* na płonowanie kukurydzy. Materiał nasienny tych taksonów został wyselekcjonowany metodą testu biolo-

gicznego. Badania wykonano w warunkach kontrolowanych, metodą losowanych bloków w czterech powtórzeniach, na poletkach o powierzchni 1 m² (mikropoletka). Po wschodach kukurydzy i chwastów ręcznie usunięto wszystkie chwasty, pozostawiając jedynie te, które stanowiły przedmiot badań (osobne poletka z *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli*), regulując jednocześnie stopień ich występowania na jednostce powierzchni zgodnie z przyjętym schematem (5, 10, 25 i 50 roślin na powierzchni 1 m²). Obiektem kontrolnym były poletka wolne od chwastów. Stan taki utrzymywano aż do zbioru, kiedy to określono plon ziarna kukurydzy (zbiór ręczny).

3.6. BADANIA ODPORNOŚCI PROSTEJ

Odporność prostą na poszczególne substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy określano metodą pomiaru fluorescencji i testu biologicznego. Spośród zgromadzonego materiału roślinnego i nasion (784 pola) najczęściej próbek pochodziło z plantacji kukurydzy, buraka cukrowego i zbóż (głównie pszenica ozima). Na wybranych do analiz polach dominowały *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Echinochloa crus-galli* i *Papaver rhoeas* (179-562 pola). Pozostałe gatunki, takie jak: *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Polygonum aviculare*, *Sinapis arvensis*, *Solanum nigrum*, *Lamium amplexicaule*, *Lamium purpureum*, *Anthemis arvensis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus*, *Stellaria media*, *Viola arvensis*, *Veronica persica* i *Thlaspi arvense* występowały rzadziej (36-126 pól), a *Myosotis arvensis*, *Aethusa cynapium*, *Galium aparine*, *Geranium pusillum* i *Hyoscyamus niger* sporadycznie (materiał do testów pobrano z 11-19 pól).

Wyniki zawarte w tabelach wynikowych: 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 46, 48, 50, 52, 54, 55, 57, 59, 61-63 informują o liczbie pól, na których stwierdzono występowanie osobników odpornych (zidentyfikowanych metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji) oraz o procentowym udziale tych pól w stosunku do wszystkich, z których pobrano materiał roślinny do badań.

W przypadku pól uprawnych, z których pobrano materiał roślinny analizowano metodą pomiaru fluorescencji (wyniki zawarte w tabelach: 34, 36, 38, 40, 42, 44, 47, 49, 51, 53, 56, 58, 60) określono nasilenie (liczebność) osobników odpornych w populacji z uwzględnieniem podziału obejmującego 5 stopni, tj.:

- I – występowanie osobników odpornych w nasileniu 0-5% w zbiorowisku,
- II – występowanie osobników odpornych w nasileniu 6-20% w zbiorowisku,
- III – występowanie osobników odpornych w nasileniu 21-50% w zbiorowisku,
- IV – występowanie osobników odpornych w nasileniu 51-75% w zbiorowisku,
- V – występowanie osobników odpornych w nasileniu 76-100% w zbiorowisku.

3.7. BADANIA ODPORNOŚCI KRZYŻOWEJ

Odporność krzyżową na substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy określano metodą testu biologicznego. Metoda pomiaru fluorescencji służyła jedynie do potwierdzenia uzyskanych wyników. Materiał nasienny poszczególnych próbek chwastów wysiewano zgodnie z procedurą opisanego testu biologicznego w takiej liczbie doniczek, aby można było każdą z nich (zachowując układ 3 powtórzeń) traktować innym herbicydem spośród 15 substancji aktywnych stosowanych w badaniach. Jeśli rośliny wyhodowane z jednej próbki pobranej z pola wykazywały odporność na więcej niż jedną z aplikowanych substancji aktywnych herbicydów, to możemy mówić o odporności krzyżowej.

3.8. BADANIA ODPORNOŚCI WIELOKROTNEJ

W badaniach wykorzystano również kilkadziesiąt próbek nasion *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli* oraz *Centaurea cyanus* pobranych z pól obsianych pszenicą ozimą i kukurydzą z okolic Wrocławia i Jelcza-Laskowic. Rośliny te wykazywały odporność na substancje z grupy pochodnych sulfonilomocznika – inhibitory syntetazy acetylomleczanowej (nikosulfuron, rimsulfuron, chlorosulfuron, jodosulfuron i foramsulfuron). Odporność tę zidentyfikowano metodą testu biologicznego (149, 154). Wyhodowane w warunkach szklarniowych chwasty omawianych gatunków traktowano herbicydami zawierającymi wymienione powyżej substancje aktywne w dawkach stanowiących krotność dawki rekomendowanej (od 0,5N do 32N). Na podstawie analizy fitotoksyczności oraz pomiaru świeżej i suchej masy chwastów wyznaczano wskaźnik ED₅₀ i ustalano stopień odporności. Wyselekcjonowane w ten sposób próbki biotypów odpornych poddano następnie testom biologicznym stwierdzającym odporność na atrazynę (procedura opisana w rozdz. 3.2.2). Opisane badania prowadzono w latach 2001–2002, a następnie dla potwierdzenia uzyskanych wyników w roku 2003 pobrano ponownie materiał roślinny z tych samych pól i poddano go tym samym testom.

4. WYNIKI I DYSKUSJA

4.1. INTERPRETACJA WYNIKÓW ANALIZ WYKONANYCH METODĄ TESTU BIOLOGICZNEGO I POMIARU FLUORESCENCJI

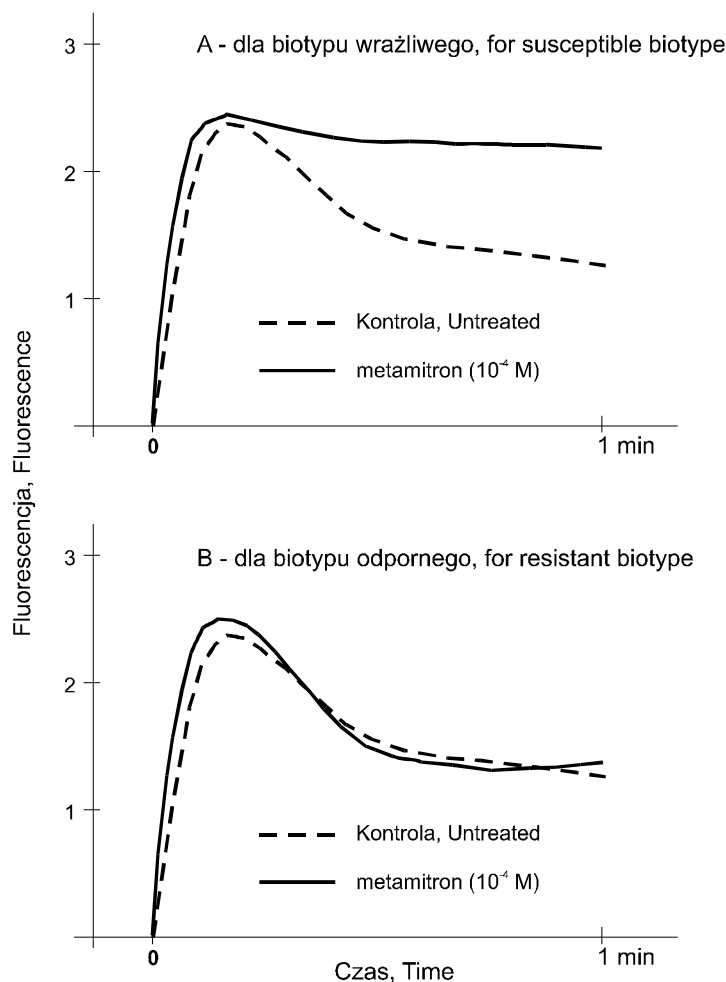
Ze względu na liczbę przeprowadzonych analiz i związany z tym bogaty materiał badawczy w niniejszym rozdziale przedstawiono przykładowe wyniki i ich interpretację dla analiz prowadzonych metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji. Przytoczone przykłady są charakterystyczne dla większości wykonanych analiz. Zbiorcze wyniki, których podstawą są przeprowadzone analizy identyfikujące odporność zamieszczono w następnych rozdziałach pracy.

4.1.1. Pomiar fluorescencji

Na rysunku 10 przedstawiono krzywe zmian fluorescencji liści *Chenopodium album*. Dla obiektu kontrolnego (liście moczone w wodzie) fluorescencja osiągała poziom maksymalny, a następnie jej wartość szybko spadała i po pewnym czasie ulegała stabilizacji. W próbkach roślin, które wykazują wrażliwość na zastosowany metamitron po osiągnięciu wartości maksymalnej fluorescencja utrzymuje się na stałym poziomie w czasie trwania pomiaru (rys. 10A). Natomiast krzywa uzyskana po analizie próbki liści *Chenopodium album* odpornego na metamitron jest zbliżona w swoim przebiegu do próbki kontrolnej (moczonej w wodzie); (rys. 10B). Dokładną interpretację przebiegu krzywych fluorescencji liści dla biotypów wrażliwych i odpornych przedstawiono w rozdziale 3.2.1.

4.1.2. Testy biologiczne

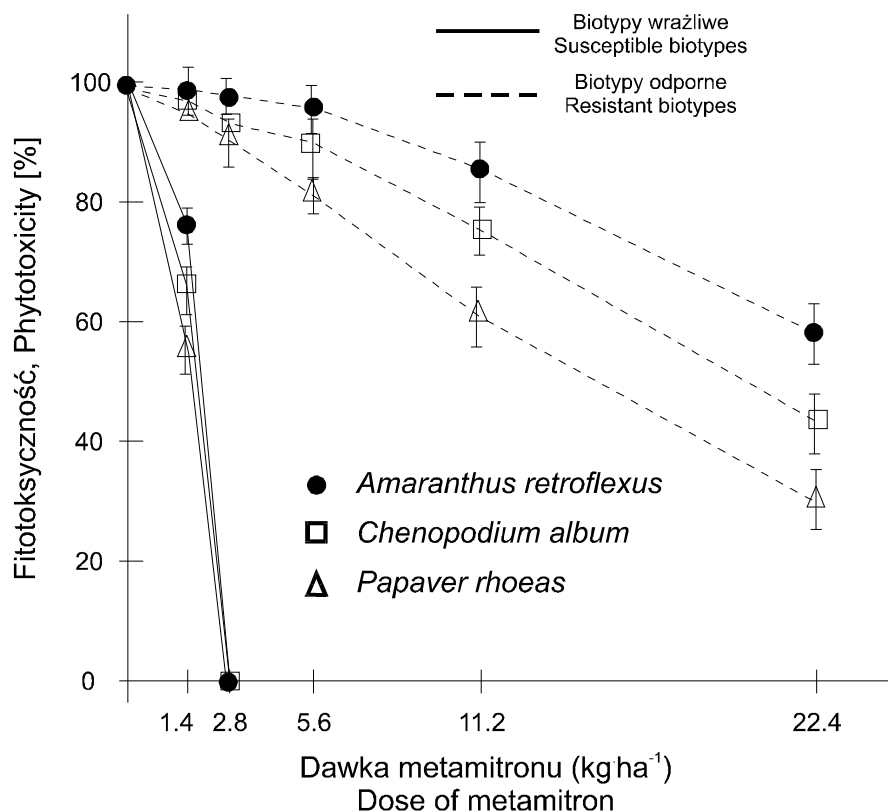
Identyfikacja biotypów odpornych metodą testu biologicznego polega na ocenie kondycji i masy chwastów po aplikacji różnych dawek herbicydu. Zgodnie z definicją odporność oznacza brak wrażliwości niektórych osobników w obrębie danego gatunku chwastu na taką dawkę herbicydu, która stosowana w normalnych warunkach niszczy całą jego populację na odchwaszczanej plantacji (65). Ze względu na zróżnicowaną wrażliwość biotypów chwastów oraz ich reakcję na herbicyd w warunkach polowych i szklarniowych uznano badany biotyp chwastu za odporny, gdy po zastosowaniu w testach biologicznych herbicydu w dawce dwukrotnie wyższej od zalecanej (N) nie obserwowano wyraźnych zmian w jego kondycji (ocena fitotoksyczności oraz świeżej i suchej masy powyżej 50% w porównaniu z obiektem kontrolnym – $ED_{50} > 2N$).



Rys. 10. Obraz krzywych zmian fluorescencji liści *Chenopodium album*; A – biotyp wrażliwy, B – biotyp odporny
Fluorescence curves of *Chenopodium album* leaves; A – susceptible biotype, B – resistant biotype

Ocena fitotoksycznego oddziaływania herbicydu na roślinę w skali 0-100%

Na rysunku 11 przedstawiono wrażliwe biotypy *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Papaver rhoeas*, które zostały zniszczone przez metamitron zastosowany w dawce $2,8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (dawka rekomendowana – N). Stwierdzono natomiast po aplikacji dawki rekomendowanej i kilkakrotnie wyższej, że osobniki odporne były w dobrej kondycji. Metamitron w dawce $11,2 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (4N) osłabił kondycję *Amaranthus retroflexus* jedynie o 10% w stosunku do kontroli, *Chenopodium album* o 22%, a *Papaver rhoeas* o 35%. Zastosowanie dawki ośmiokrotnie wyższej od rekomendo-

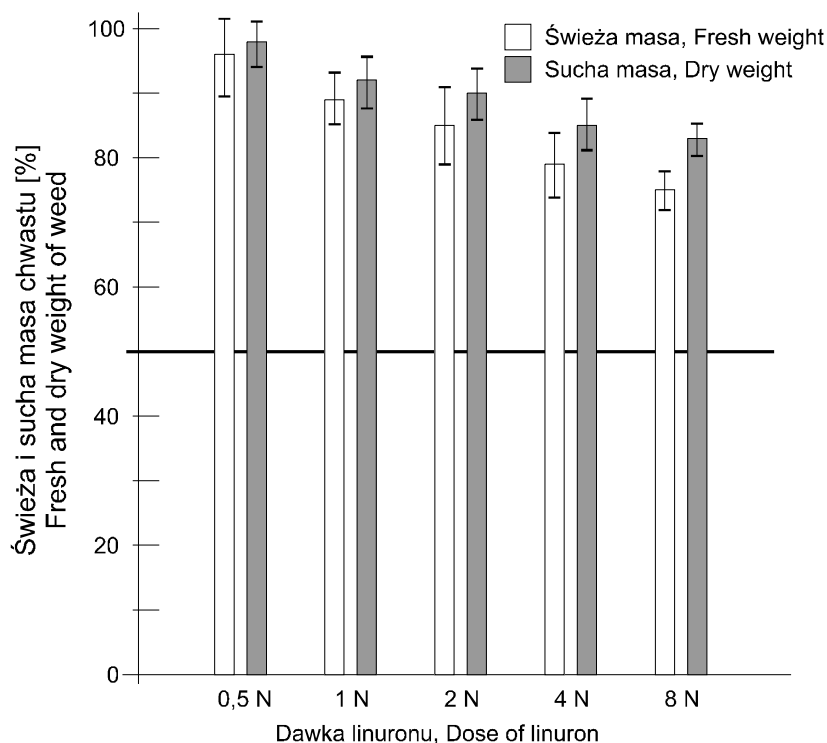


Rys. 11. Ocena fitotoksyczności metamitronu – test biologiczny. Pionowe odcinki reprezentują błąd standardowy wartości średniej dla 3 replikacji
 Evaluation of metamitron phytotoxicity – bioassay. Vertical bars represent the standard errors of the mean values for 3 replications

wanej nie spowodowało zniszczenia roślin, a ich kondycję oceniono na 37-68% w stosunku do kontroli.

Ocena fitotoksycznego oddziaływania herbicydu na roślinę przez pomiar świeżej i suchej masy roślin

Ocena stanu roślin traktowanych herbicydem dokonywana jest poprzez porównanie ich z obiektem kontrolnym (bez herbicydu). Wskaźnikami oceny były świeża i sucha masa nadziemnych części roślin. Na rysunku 12 przedstawiono wyniki analizy dla biotopu odpornego *Chenopodium album*. Zastosowanie linuronu w dawce rekomendowanej, tj. 1,0 kg · ha⁻¹ i w dawkach wielokrotnie wyższych nie spowodowało redukcji świeżej i suchej masy poniżej 50% w stosunku do kontroli (ED₅₀ > 8N). Po aplikacji lenacylu w dawce rekomendowanej i dwukrotnie wyższej obserwowano

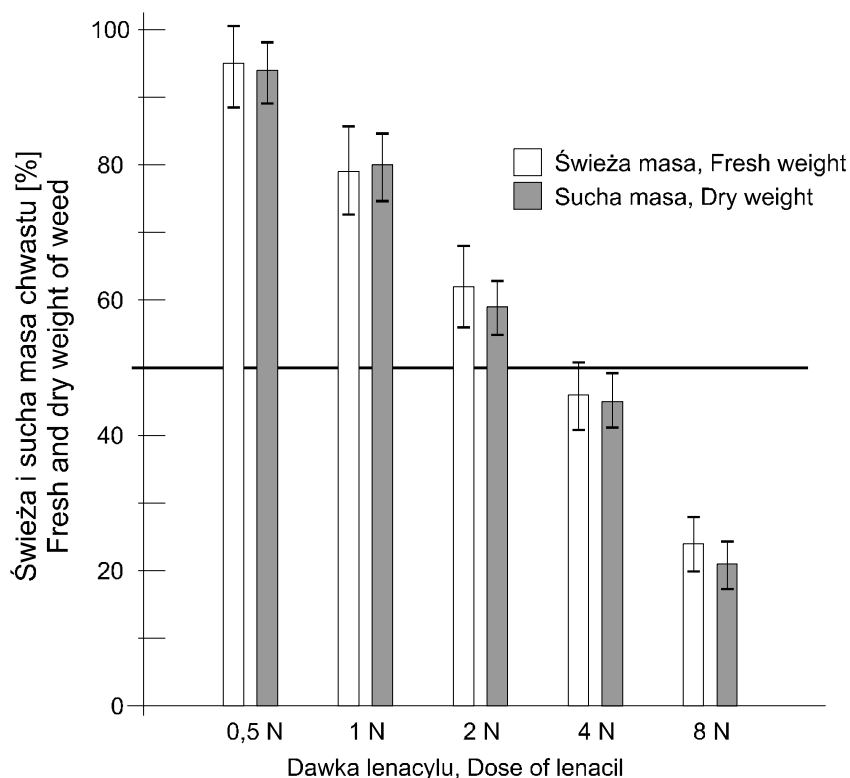


Rys. 12. Ocena wrażliwości *Chenopodium album* na linuron (N – dawka rekomendowana).
 Pionowe odcinki reprezentują błąd standardowy wartości średniej dla 3 replikacji
 Evaluation of *Chenopodium album* susceptibility on linuron (N – recommended dose).
 Vertical bars represent the standard errors of the mean values for 3 replications

zmniejszenie masy *Chenopodium album* do wartości odpowiednio 80 i 60% w porównaniu z uzyskaną w obiekcie kontrolnym, a po zastosowaniu dawki równej 4N odnotowano redukcję świeżej i suchej masy chwastu więcej niż o 50% w stosunku do stwierdzonej w kontroli ($2N < ED_{50} < 4N$). Najwyższa dawka (8N) spowodowała spadek masy chwastu do około 20% (rys. 13).

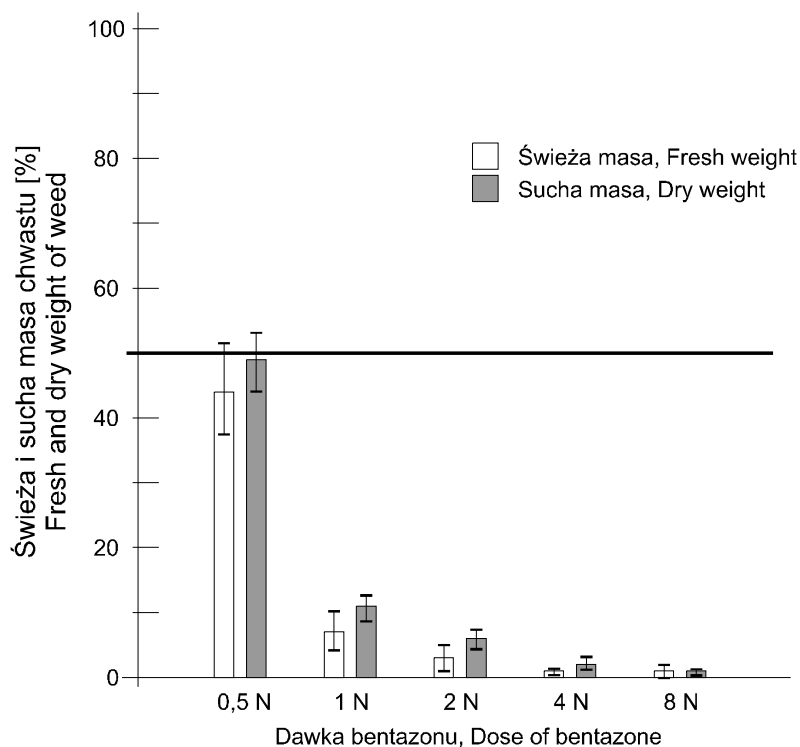
Wśród roślin *Chenopodium album* wrażliwych na bentazon silną redukcję świeżej i suchej masy obserwowano już po zastosowaniu połowy dawki zalecanej ($ED_{50} < 0,5N$). Po aplikacji dawki pełnej (rekomendowanej) odnotowano spadek masy do kilku procent (rys. 14).

Dla zilustrowania przebiegu testu biologicznego na rysunku 15 przedstawiono fotografie wrażliwych i odpornych osobników *Chenopodium album*.



Rys. 13. Ocena wrażliwości *Chenopodium album* na lenacyl (N – dawka rekomendowana).
 Pionowe odcinki reprezentują błąd standardowy wartości średniej dla 3 replikacji
 Evaluation of *Chenopodium album* susceptibility on lenacil (N – recommended dose).
 Vertical bars represent the standard errors of the mean values for 3 replications

Testy biologiczne, jak również omówiona wcześniej metoda pomiaru fluorescencji umożliwiają identyfikację obu typów odporności biotypów chwastów na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II, tj. o mechanizmie polegającym na zmianie miejsca działania herbicydu (odporność genetyczna) i przyspieszonej detoksykacji herbicydu (odporność enzymatyczna). Na podstawie identyfikacji przeprowadzonej tymi metodami nie można jednak stwierdzić, czy badany biotyp posiada odporność genetyczną czy enzymatyczną. Według niektórych badaczy (152, 153) odporność typu enzymatycznego może być przełamana wysokimi dawkami herbicydu, na który dany osobnik wykazuje odporność. W takim przypadku test biologiczny pozwoliłby na rozróżnienie mechanizmów odporności. Postępując zgodnie z tą teorią biotyp *Chenopodium album* odporny na linuron (rys. 12) może być przykładem odporności typu genetycznego, natomiast *Chenopodium album* odporny na lenacyl (rys. 13) jest przykładem odporności enzymatycznej, gdyż zastosowanie dawki cztero- i ośmiokrot-

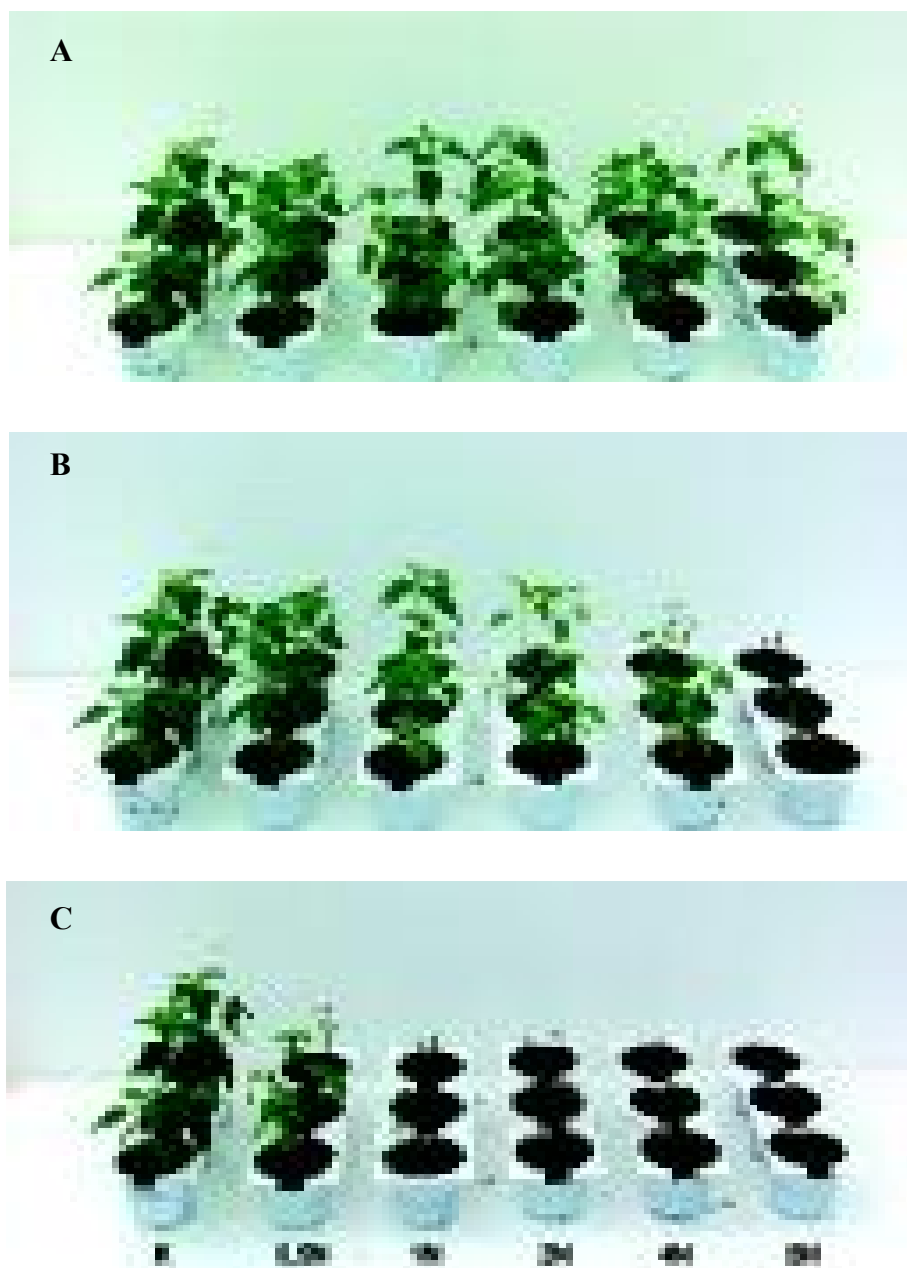


Rys. 14. Ocena wrażliwości *Chenopodium album* na bentazon (N – dawka rekomendowana).
 Pionowe odcinki reprezentują błąd standardowy wartości średniej dla 3 replikacji
 Evaluation of *Chenopodium album* susceptibility on bentazone (N – recommended dose).
 Vertical bars represent the standard errors of the mean values for 3 replications

nie wyższej od zalecanej spowodowało spadek kondycji oraz obniżenie świeżej i suchej masy roślin o ponad 50%.

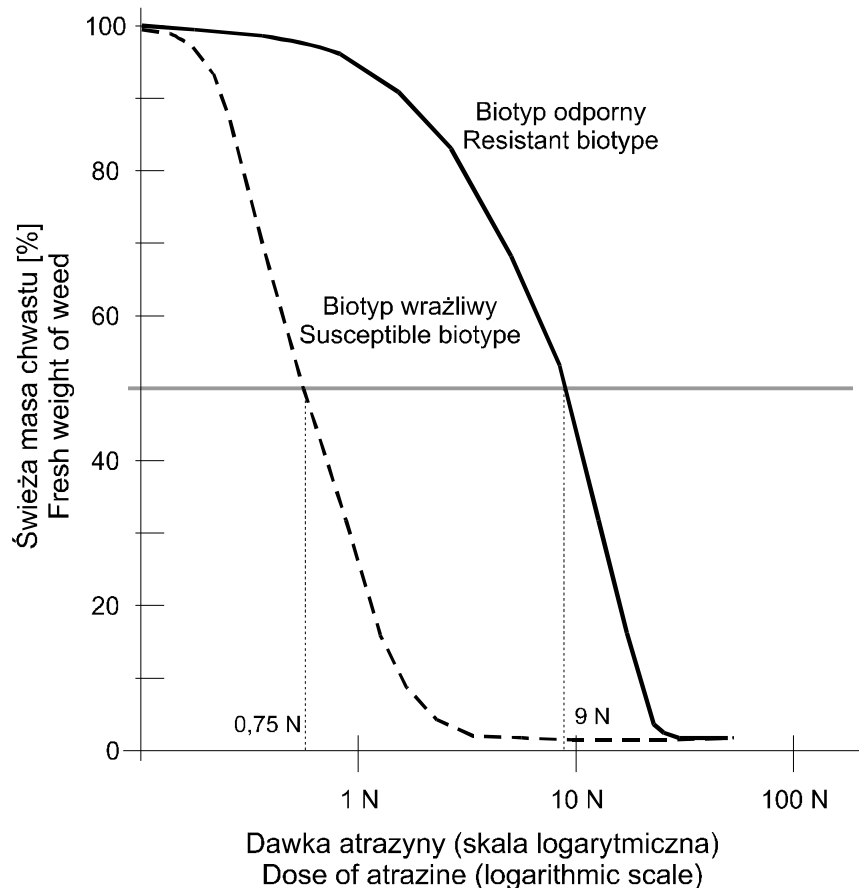
4.1.3.1. Indeks odporności

Na rysunku 16 przedstawiono wykres zależności zmian świeżej masy roślin *Chenopodium album* od zastosowanej dawki atrazyny. Poprowadzone krzywe obrazują wyniki uzyskane w teście biologicznym, w którym wrażliwe i odporne osobniki *Chenopodium album* opryskano atrazyną w różnych dawkach (od 0,25N do 64N, gdzie N – dawka rekomendowana). Z wykresu odczytano wartość dawki atrazyny, po zastosowaniu której obserwowano redukcję świeżej masy chwastu o 50%. Dla osobników wrażliwych na atrazynę ED_{50} wynosiło 0,75N, natomiast dla osobników odpornych 9N. Dla omawianego przykładu indeks odporności wyniósł 12.



Rys. 15. Fotografie testu biologicznego – *Chenopodium album*
Photography of bioassay – *Chenopodium album*

- A – biotyp odporny na linuron; biotype resistant to linuron ($ED_{50} > 8N$)
- B – biotyp odporny na lenacil; biotype resistant to lenacil ($2N < ED_{50} < 4N$)
- C – biotyp wrażliwy na bentazon; biotype susceptible to bentazone ($ED_{50} < 1N$)



Rys. 16. Wpływ atrazyny na świeżą masę roślin *Chenopodium album*. Wyznaczanie wskaźnika ED₅₀
Influence of atrazine on fresh weight of *Chenopodium album* plants. Determination of ED₅₀

Oszacowanie stopnia odporności może mieć znaczenie w prognozowaniu rozwoju zjawiska odporności, jak też przy opracowaniu metod jego ograniczania i zapobiegania.

Przyjmując, że dla większości badanych układów (chwast – herbicyd) ED₅₀ dla osobników wrażliwych wynosił około 1N, można oszacować, że wartość ED₅₀ dla biotypów odpornych będzie równa wartości indeksu odporności.

4.2. PORÓWNANIE METOD IDENTYFIKACJI ODPORNOŚCI

Na podstawie wyników uzyskanych z analiz przeprowadzonych metodami testu biologicznego i pomiaru fluorescencji substancje aktywne badanych herbicydów podzielono na dwie grupy. Pierwsza grupa to herbicydy stosowane powschodowo i/lub w dwóch terminach, tj. przed- i powschodowo. W grupie tej znajdowały się preparaty pobierane zarówno przez liście, jak i korzenie roślin (atrazyna, symazyna, bentazon, linuron i izoproturon), dla których identyczne wyniki uzyskano w 78-100% badanych próbek roślin. Największą zbieżność wyników, tj. 95-100%, stwierdzono dla próbek roślin, na których w teście biologicznym nie obserwowano objawów fitotoksycznych oraz obniżenia świeżej i suchej masy po zastosowaniu herbicydów w dawkach wielokrotnie wyższych od rekomendowanych ($ED_{50} > 4N$, gdzie N = dawka rekomendowana). W przypadku, gdy testowane rośliny reagowały na herbicyd zastosowany (fitotoksyczność i spadek masy poniżej 50% w stosunku do kontroli) w dawce 2–4-krotnie wyższej od zalecanej ($4N > ED_{50} \geq 2N$) zbieżność wyników dla poszczególnych próbek była niższa (78-94%). Próbkami te nie zawsze wykazywały cechy odporności identyfikowane metodą pomiaru fluorescencji.

Druga grupa, to herbicydy stosowane przed wschodami chwastów, zawierające substancje pobierane głównie przez korzenie roślin (metrybuzyna, lenacyl i chlorydazon), dla których identyczne wyniki stwierdzono tylko w 42-76% badanych próbek roślin. W przypadku wzorców roślin wrażliwych i odpornych odsetek zbieżnych wyników był wyższy i wynosił 59-76%.

Metoda pomiaru fluorescencji opiera się na interpretacji krzywych zmian fluorescencji liści, które uprzednio moczone w roztworze substancji aktywnej herbicydu. Specyfika działania środków przedwschodowych (wnikanie głównie przez korzenie) powoduje, że substancje te znacznie wolniej wnikają do liści, co może znacząco zmienić wynik analizy. Krzywa fluorescencji może mieć przebieg zbliżony do próbki kontrolnej (moczonej w wodzie), co sugeruje, że roślina nie reaguje na zastosowaną substancję aktywną herbicydu (jest na nią odporna). Z tego względu dane uzyskane metodą pomiaru fluorescencji w przypadku substancji aktywnych herbicydów stosowanych przedwschodowo nie mogą być wiarygodne. Należy je zweryfikować innymi dostępnymi metodami.

W prowadzonych badaniach nie stwierdzono, aby gatunek testowanego chwastu miał wpływ na wynik zastosowanych metod identyfikacji. Jedynym czynnikiem różnicującym wyniki analiz był zastosowany herbicyd, tzn. sposób w jaki był pobierany przez roślinę. Przykładowe wyniki porównania testu biologicznego i metody pomiaru fluorescencji zamieszczono w tabelach 22-25.

Przydatność i skuteczność metody pomiaru fluorescencji liści w identyfikacji odporności roślin na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy potwierdziły również badania porównawcze z zastosowaniem metody molekularnej PCR, prowadzone w innych ośrodkach naukowych (47, 54, 130).

Spośród stosowanych metod identyfikacji odporności na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII pomiar fluorescencji liści umożliwia oprócz jakościowej, rów-

Tabela 22

Porównanie wyników badania odporności *Amaranthus retroflexus* na wybrane herbicydy metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji
Comparison of tests results for bioassay and fluorescence methods for *Amaranthus retroflexus*

Rodzaj biotypu Kind of biotype	Substancja aktywna Active ingredient	Wynik testu Test result	
		test biologiczny bioassay	pomiar fluorescencji fluorescence measurement
Wzorzec R R standard	atrazine	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany* Unknown		R ED ₅₀ >4N	R
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	S
Wzorzec R R standard	chloridazone	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	R
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Wzorzec R R standard	metamitron	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S

Objaśnienia; Explanations:

N – dawka rekomendowana; recommended dose

S – biotyp wrażliwy; susceptible biotype

R – biotyp odporny; resistant biotype

SR – biotyp średnio odporny; semi-resistant biotype

* próbka pochodząca z badań monitoringowych (pola Dolnego Śląska); samples from monitoring researches (fields of Lower Silesia)

niez ilościową analizę odporności w populacji. Pobranie reprezentatywnej liczby roślin z danego pola uprawnego (w opisywanych badaniach pobierano po 100 roślin), a następnie szybka i stosunkowo tania analiza fluorescencji pozwala na ustalenie odporności i ilościowego stosunku pomiędzy osobnikami wrażliwymi i odpornymi na sprawdzanym obszarze, czyli podanie liczebności biotypów odpornych i wrażliwych w zbiorowisku.

Tabela 23

Porównanie wyników badania odporności *Chenopodium album* na wybrane herbicydy metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji
Comparison of tests results for bioassay and fluorescence methods

Rodzaj biotypu Kind of biotype	Substancja aktywna Active ingredient	Wynik testu Test result	
		test biologiczny bioassay	pomiar fluorescencji fluorescence measurement
Wzorzec R R standard	lenacil	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	R
Nieznany Unknown		R ED ₅₀ >4N	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S
Wzorzec R R standard	linuron	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Wzorzec R R standard	chlortoluron	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S

objaśnienia jak dla tabeli 22; explanations as for table 22

Tabela 24

Porównanie wyników badania odporności *Solanum nigrum* na wybrane herbicydy metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji
Comparison of tests results for bioassay and fluorescence methods

Rodzaj biotypu Kind of biotype	Substancja aktywna Active ingredient	Wynik testu Test result	
		test biologiczny bioassay	pomiar fluorescencji fluorescence measurement
Wzorzec R R standard	atrazine	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	R
Nieznany Unknown		R 2N<ED ₅₀ <4N	S
Nieznany Unknown		R 2N<ED ₅₀ <4N	R
Wzorzec R R standard	chloridazone	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	R
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Wzorzec R R standard	bentazone	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S

objaśnienia jak dla tabeli 22; explanations as for table 22

Tabela 25

Porównanie wyników badania odporności *Polygonum convolvulus* na wybrane herbicydy metodą testu biologicznego i pomiaru fluorescencji
Comparison of tests results for bioassay and fluorescence methods

Rodzaj biotypu Kind of biotype	Substancja aktywna Active ingredient	Wynik testu Test result	
		test biologiczny bioassay	pomiar fluorescencji fluorescence measurement
Wzorzec R R standard	atrazine	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		R 2N<ED ₅₀ <4N	R
Nieznany Unknown		R 2N<ED ₅₀ <4N	S
Wzorzec R R standard	lenacil	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Wzorzec R R standard	linuron	R ED ₅₀ >8N	R
Wzorzec S S standard		S ED ₅₀ ≤1	S
Nieznany Unknown		SR 2N<ED ₅₀ <4N	R
Nieznany Unknown		S ED ₅₀ ≤1	S

objaśnienia jak dla tabeli 22; explanations as for table 22

4.3. ODPORNOŚĆ *AMARANTHUS RETROFLEXUS*, *CHENOPODIUM ALBUM* I *ECHINOCHLOA CRUS-GALLI* NA ATRAZYNE

W latach 1999–2000 z 372 plantacji kukurydzy zlokalizowanych na Dolnym Śląsku i Opolszczyźnie pobrano materiał roślinny (liście i nasiona) *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* w celu identyfikacji odporności tych biotypów na atrazynę. Analizy przeprowadzono metodami testu biologicznego i pomiaru fluorescencji. Na podstawie przeprowadzonych badań, wykorzystując wymienione metody stwierdzono występowanie biotypów *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* odpornych na atrazynę na około 50% plantacji kukurydzy. Odporne osobniki *Echinochloa crus-galli* zidentyfikowano na około 14% badanych pól uprawnych (tab. 26).

Tabela 26

 Identyfikacja chwastów odpornych na atrazynę (1999–2000)
 Identification of atrazine resistant weeds (1999–2000)

Gatunek chwastu Weed species	Metoda identyfikacji Identification method	Liczba badanych próbek Number of samples	Biotypy odporne Resistant biotypes	
			liczba number	udział procentowy participation [%]
<i>Amaranthus retroflexus</i>	FM	78	38	49
	TB	139	63	45
<i>Chenopodium album</i>	FM	142	74	52
	TB	159	75	47
<i>Echinochloa crus-galli</i>	FM	139	17	12
	TB	147	21	14

FM – metoda pomiaru fluorescencji; fluorescence method

TB – test biologiczny; bioassay

Wykorzystując metodę pomiaru fluorescencji ustalono udział biotypów odpornych w zbiorowiskach. Liczebność osobników odpornych w populacjach *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* była bardzo zróżnicowana i wahała się w przedziale od kilku do blisko 100% w poszczególnych zbiorowiskach.

Dla części próbek zidentyfikowanych jako odporne wykonano dodatkowe testy określające indeks odporności. Wśród testowanych biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* blisko 70% wykazywało wysoki stopień odporności (tab. 27).

Po trzech latach, w ramach drugiego etapu prac, powrócono na większość wcześniej objętych badaniami pól uprawnych i ponownie, w znacznie poszerzonym zakresie, analizowano pobrane próbki roślin i nasion chwastów występujących na tych obszarach. W roku 2003 na blisko 60% tych samych pól nadal uprawiano kukurydzę. Pozostałe (40%) były przemiennie obsiewane innymi roślinami, tj. zbożami, rzepakiem lub burakiem cukrowym.

Na polach, gdzie nadal uprawiano kukurydzę liczebność osobników *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na atrazynę wzrosła o kilka procent (tab. 28). Zdarzały się jednak plantacje kukurydzy, na których nasilenie biotypów odpornych było zbliżone lub mniejsze od tego, jakie odnotowano w roku 2000. Powodem takiego stanu była prawdopodobnie zmiana stosowanych herbicydów, co zostało potwierdzone przez kilku właścicieli tych pól (tab. 29). W przypadku pól, gdzie zmieniono uprawę i rodzaj aplikowanych herbicydów liczebność biotypów odpornych *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* zmalała od kilku do nawet kilkudziesięciu procent w porównaniu ze stanem z roku 2000 (tab. 28).

Odzwierciedleniem zmian zachodzących w liczebności osobników odpornych mogą być wyniki uzyskane w doświadczeniu przeprowadzonym na plantacji kukurydzy w Teodorowie uprawianej od 1992 roku w monokulturze, którą corocznie

Tabela 27

Stopień odporności biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* (1999–2000)

Resistance degree of *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* and *Echinochloa crus-galli* (1999–2000)

Gatunek chwastu Weed species	Suma testowanych próbek Sum of tested samples	Indeks odporności (RI) Resistance index	
		wartość indeksu index value	liczba próbek number of samples
<i>Amaranthus retroflexus</i>	45	2-4	5
		5-8	9
		>8	31
<i>Chenopodium album</i>	53	2-4	9
		5-8	6
		>8	38
<i>Echinochloa crus-galli</i>	15	2-4	2
		5-8	3
		>8	10

Tabela 28

Występowanie osobników odpornych na atrazynę. Porównanie wyników z lat 2000 i 2003
Occurrence of atrazine resistant biotypes of weeds. Comparison from the results 2000 and 2003

Miejscowość Location	Udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] Participation of resistant biotypes in community [%]					
	rok; year 2000			rok; year 2003		
	AMARE	CHEAL	ECHCG	AMARE	CHEAL	ECHCG
Trwała monokultura kukurydzy – stosowane herbicydy triazynowe Maize monoculture – triazine herbicides application						
Bobrowniki	23	18	8	29	24	10
Rzeczycza	9	2	0	17	5	2
Olszanica	42	7	12	49	9	10
Trwała monokultura kukurydzy – rotacja herbicydów (różne mechanizmy działania) Maize monoculture – herbicides rotation (different mode of action)						
Kalinowa	7	4	9	5	2	8
Milogoszcz	8	12	5	9	7	2
Zielenice	5	9	0	0	4	0
Zmianowanie roślin – stosowanie herbicydów o różnym mechanizmie działania Plant rotation – different mode of action herbicide application						
Baranowice	12	5	0	7	0	0
Rybna	26	16	9	12	9	4
Posadowicie	38	29	13	14	13	5

Tabela 29

Historia pól (wykaz uprawianych roślin i stosowanych herbicydów)
Fields history (list of plants and used herbicides)

Lokalizacja Location	Uprawa, stosowane substancje aktywne herbicydów Crop, herbicide active ingredients applied			
	sezony (lata); seasons (years)			
	2000	2001	2002	2003
Trwała monokultura kukurydzy – stosowane herbicydy triazynowe Maize monoculture – triazine herbicides application				
Bobrowniki	atrazine	atrazine	atrazine	atrazine
Rzeczycza	atrazine	atrazine + metolachlor	atrazine	atrazine
Olszanica	atrazine	atrazine + pendimethalin	atrazine	atrazine + metolachlor
Trwała monokultura kukurydzy – rotacja herbicydów (różne mechanizmy działania) Maize monoculture – herbicides rotation (different mode of action)				
Kalinowa	atrazine	nicosulfuron	atrazine + metolachlor	atrazine + pendimethalin
Milogoszcz	atrazine + metolachlor	2,4-D + dicamba, + nicosulfuron	MCPA + nicosulfuron	atrazine
Zielenice	atrazine	rimsulfuron	atrazine + pendimethalin + dicamba	nicosulfuron + dicamba + 2,4-D
Zmianowanie roślin – stosowanie herbicydów o różnym mechanizmie działania Plant rotation – different mode of action herbicide application				
Baranowice	kukurydza maize atrazine	kukurydza maize nicosulfuron + dicamba	burak cukrowy sugar beet phenmedipham + desmedipham + ethofumesate	pszenica jara spring wheat tribenuron methyl + florasulam + 2,4-D
Rybna	kukurydza maize atrazine	jęczmień jary spring barley isoproturon + diflufenican	pszenica ozima winter wheat metosulam + 2,4-D + dicamba	kukurydza maize rimsulfuron + atrazine
Posadowicie	kukurydza maize atrazine	burak cukrowy sugar beet phenmedipham + desmedipham + ethofumesate	kukurydza maize atrazine + 2,4-D + dicamba	burak cukrowy sugar beet phenmedipham + desmedipham + ethofumesate + metamitron

odchwaszczano herbicydami zawierającymi w swym składzie atrazynę. W roku 2000 zidentyfikowano na tym polu odporne na atrazynę *Amaranthus retroflexus* (średnio 18% osobników w zbiorowisku), *Chenopodium album* (26%) i *Echinochloa crus-galli* (10%). W tym roku (po pierwszej analizie) podzielono plantację na dwie części, każda po około 10 ha. Na jednej części nadal corocznie stosowano herbicydy

Tabela 30

Wykaz substancji aktywnych herbicydów stosowanych do zwalczania chwastów w monokulturze kukurydzy (Teodorów 2000–2004)

List of herbicide active ingredients used to weed control in maize monoculture (Teodorów 2000–2004)

Rok; Year	Objekt A; Object A		Objekt B; Object B	
	herbicyd; herbicide	substancja aktywna active ingredient	herbicyd; herbicide	substancja aktywna active ingredient
1992–2000	Gesaprim 500 SC	atrazine	Gesaprim 500 SC	atrazine
	Primextra Gold 720 EC	atrazine metolachlor	Primextra Gold 720 EC	atrazine metolachlor
	Tazastomp 500 SC	atrazine pendimethalin	Tazastomp 500 SC	atrazine pendimethalin
2001	Primextra Gold 720 EC	atrazine metolachlor	Milagro 040 SC	nicosulfuron
2002	Gesaprim 500 SC	atrazine	Titus 25 WG + Trend 90 EC	rimsulfuron
2003	Tazastomp 500 SC	atrazine pendimethalin	Maister 310 WG + Actirob 842 EC	jodosulfuron foramsulfuron isoxadifen
2004	Gesaprim 90 WG	atrazine	Milagro 040 SC	nicosulfuron

zawierające atrazynę i jej mieszaninę z pendimetaliną i metolachlorem, na drugiej zaś zmieniono dotychczas stosowane herbicydy na środki z grupy sulfonylomocznika (tab. 30). W roku 2004 obie części plantacji poddano ocenie stanu zachwaszczenia i identyfikacji odporności. Na części, gdzie nadal stosowano atrazynę, skuteczność chwastobójczą aplikowanych środków oceniono (3-4 tygodnie po aplikacji) na 45-60%. Niedługo przed zbiorem kukurydzy stwierdzono wzrost liczebności biotypów odpornych na atrazynę: *Amaranthus retroflexus* (o 3%), *Chenopodium album* (o 5%) i *Echinochloa crus-galli* (o 6%). Ponadto zaobserwowano pojawienie się odpornych biotypów *Polygonum convolvulus* (3%) i pojedyncze egzemplarze *Solanum nigrum*. Natomiast na części, gdzie stosowano inne herbicydy udział biotypów odpornych na atrazynę w całym zbiorowisku zmniejszył się i wynosił: 7% dla *Amaranthus retroflexus*, 12% dla *Chenopodium album* i 3% dla *Echinochloa crus-galli*. Po pięciu, sześciu tygodniach od wykonania zabiegu obserwowano wysoką skuteczność zastosowanych środków w niszczeniu chwastów (75-90%). Uzyskane wyniki analiz odporności odnoszą się głównie do zachwaszczenia wtórnego (tab. 31).

Przedstawione wyniki wskazują, że zmiana stosowanych środków odchwaszczających ogranicza liczbę biotypów odpornych. Jednakże zasobny bank nasion w glebie powoduje, że krótkotrwała rotacja upraw i herbicydów jedynie zmniejsza ich liczbę, nie eliminując całkowicie problemu. Pola uprawne, na których w dużym nasileniu występują chwasty uodpornione powinny być monitorowane, a działania ograniczające rozwój odporności kontynuowane przez wiele lat.

Tabela 31

Wpływ doboru herbicydów na liczebność biotypów odpornych w monokulturze kukurydzy
(Teodorów 2000-2004)

Influence of herbicide selection on number of resistant biotypes in maize monoculture
(Teodorów 2000-2004)

Rok; Year	Objekt A; Object A				Objekt B; Object B			
	powtórzenie replication			średnia mean	powtórzenie replication			średnia mean
	1	2	3		1	2	3	
<i>Amaranthus retroflexus</i>								
2000	18	20	16	18 (2,00)*	18	20	13	17 (3,61)
2004	21	23	19	21 (2,00)	8	10	4	7 (3,06)
<i>Chenopodium album</i>								
2000	24	25	29	26 (2,65)	24	31	26	27 (3,61)
2004	28	30	34	31 (3,06)	9	14	12	12 (2,51)
<i>Echinochloa crus-galli</i>								
2000	9	11	7	9 (2,00)	9	13	12	11 (2,08)
2004	15	17	12	15 (2,52)	2	5	3	3 (1,53)

* w nawiasach podano wartości odchylenia standardowego od średniej dla 3 powtórzeń; in parenthesis given values of standard deviations for 3 replications

Tabela 32

Wpływ zachwaszczenia na plonowanie kukurydzy. Wrocław 2001
Influence of weed infestation on maize yield. Wrocław 2001

Objekt Object	Liczba chwastów na m ² Number of weeds per sq.m.	Plon ziarna Yield of grain [t ha ⁻¹]	Redukcja plonu Yield reduction [%]
Kontrola; Control	0	8,1	0
<i>Amaranthus retroflexus</i>	5	7,3	10
	10	6,2	23
	25	5,6	31
	50	4,5	45
<i>Chenopodium album</i>	5	6,9	15
	10	6,4	21
	25	5,6	29
	50	4,3	47
<i>Echinochloa crus-galli</i>	5	7,5	8
	10	6,9	15
	25	6,2	27
	50	4,9	39
NIR, LSD (0,05)		0,86	

W ramach projektu badawczego KBN nr 5P06B00116 prowadzono również badania nad konkurencyjnym oddziaływaniem osobników odpornych *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* na plonowanie kukurydzy.

Wyniki doświadczeń świadczą o istotnym, konkurencyjnym wpływie badanych biotypów na plon kukurydzy (tab. 32). *Amaranthus retroflexus* występujący w łanie w liczbie 5-30 roślin na powierzchni 1 m² obniżył plony kukurydzy o 10-45% w porównaniu z kontrolą (obiekt, na którym kukurydza przez cały okres wegetacji była wolna od zachwaszczenia). *Chenopodium album* występujący w takim samym nasileniu zredukował plon kukurydzy o 15-47%. Podobne wyniki uzyskano w przypadku zachwaszczenia plantacji gatunkiem *Echinochloa crus-galli* (8-39%). Stwierdzony konkurencyjny wpływ badanych gatunków chwastów potwierdza wyniki wcześniejszych badań (150, 151), które prowadzono na plantacjach kukurydzy w latach 1978–1992, gdzie gatunki *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* były dominujące. Pozostawione w łanie (40-50 szt. na 1 m²) powodowały zagłuszenie rośliny uprawnej, zmniejszając jej plon nawet o 70%.

4.4. ODPORNOŚĆ PROSTA

Amaranthus retroflexus

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 427 pól uprawnych, z czego 207 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 220 metodą pomiaru fluorescencji. Na podstawie przeprowadzonych analiz ustalono występowanie osobników odpornych na różne substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII (tab. 33).

Tabela 33

Odporność *Amaranthus retroflexus* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Amaranthus retroflexus* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	98	47	113	51
Simazine	34	16	28	13
Cyanazine	21	10	27	12
Prometryne	10	5	14	6
Metribuzine	11	5	-	-
Metamitron	34	16	52	23
Bentazone	7	3	5	2
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	15	7	-	-
Linuron	8	4	7	3

Stosując metodę pomiaru fluorescencji określono stopień nasilenia występowania (liczebność) osobników odpornych *Amaranthus retroflexus* w zbiorowiskach (tab. 34).

Tabela 34

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Amaranthus retroflexus*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Amaranthus retroflexus*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	17	27	23	25	21
Simazine	3	3	6	9	7
Cyanazine	3	6	5	6	7
Brometryne	2	3	5	4	0
Metamitron	13	12	25	8	7
Bentazone	2	2	4	4	0
Linuron	8	3	4	0	0

Osobniki *Amaranthus retroflexus* wykazywały odporność na triazyny, chlorydazon, bentazon i linuron. Wśród analizowanych pól przeważała odporność na atrazynę, metamitron i symazyne. Na niektórych plantacjach odporne taksony *Amaranthus retroflexus* dominowały; ich udział w zbiorowisku przekraczał 75%. Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na substancje aktywne z grupy pochodnych kwasu karbaminowego (desmedifam i fenmedifam).

Z doniesień literaturowych wynika, że odporność osobników *Amaranthus retroflexus* na substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy, tj. atrazynę, symazyne, metrybuzynę, prometrynę, metamitron, chlorydazon i linuron, zidentyfikowano w 15 krajach Europy, Azji i Ameryki Północnej. Biotypy odporne występowały głównie na plantacjach kukurydzy, buraka cukrowego, zbóż oraz na przydrożach i torowiskach (24, 35, 36, 41, 43, 45, 82, 153, 171, 175, 197).

Chenopodium album

Próbki tego gatunku pobrano z 562 pól uprawnych, z czego 236 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 326 metodą pomiaru fluorescencji. *Chenopodium album* występowało na większości analizowanych pól. Osobniki tego gatunku wykazywały odporność na niemal wszystkie badane substancje aktywne herbicydów (tab. 35). Wśród analizowanych pól przeważała odporność na atrazynę, symazyne, metamitron, cyjanazyne i chlorydazon. Na niektórych plantacjach taksony *Chenopodium*

Tabela 35

Odporność *Chenopodium album* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Chenopodium album* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	122	52	171	52
Simazine	39	16	73	22
Cyanazine	24	10	32	10
Prometryne	12	5	18	6
Metribuzine	12	5	-	-
Metamitron	46	19	56	17
Bentazone	5	2	4	1
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	24	10	-	-
Linuron	11	5	7	2
Chlortoluron	7	3	5	2
Isoproturon	5	2	3	1
Metobromuron	2	1	0	0
Lenacil	4	2	-	-

album dominowały – ich udział w zbiorowisku przekraczał 75% (tab. 36). Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na substancje aktywne z grupy pochodnych kwasu karbaminowego (desmedifam i fenmedifam).

Z przeglądu literatury wynika, że odporność *Chenopodium album* na substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy, tj. atrazyne, symazyne, cyjanazyne, metrybuzynę i lenacil zidentyfikowano w 17 krajach Europy, w Nowej Zelandii

Tabela 36

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Chenopodium album*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Chenopodium album*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	24	14	35	52	46
Simazine	15	22	15	12	9
Cyanazine	8	6	6	10	2
Prometryne	4	4	3	4	3
Metamitron	11	12	14	11	8
Chlortoluron	0	1	2	2	0
Isoproturon	2	0	1	0	0
Linuron	1	3	2	1	0
Bentazone	1	1	2	0	0

i w Ameryce Północnej. Biotypy odporne występowały głównie na plantacjach kukurydzy, soi, buraka cukrowego oraz na przydrożach i torowiskach (10, 30, 34, 45, 53, 61, 82, 92, 127, 131, 139, 144, 153, 172).

Echinochloa crus-galli

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 372 pól uprawnych, z czego 178 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 194 metodą pomiaru fluorescencji. *Echinochloa crus-galli* występowała głównie na plantacjach kukurydzy i buraka cukrowego. Stwierdzono odporność na herbicydy z grupy triazyn, a w szczególności na atrazynę (średnio 17% badanych pól); (tab. 37). Na czternastu plantacjach kukurydzy odporne taksony *Echinochloa crus-galli* dominowały, a ich udział w zbiorowisku przekraczał 75% (tab. 38). Odporność *Echinochloa crus-galli* na substancje aktywne herbicydów z grupy triazyn, tj.: atrazynę, symazynę i cyanazynę zidentyfikowano w sześciu krajach Europy i Ameryki Północnej (51, 82, 197, 118, 153, 197).

Tabela 37

Odporność *Echinochloa crus-galli* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Echinochloa crus-galli* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	22	12	40	21
Simazine	4	2	8	4
Cyanazine	4	2	4	2
Prometryne	3	2	4	2
Metribuzine	3	2	-	-
Lenacil	3	2	-	-

Tabela 38

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Echinochloa crus-galli*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Echinochloa crus-galli*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	5	6	7	8	14
Simazine	2	3	3	0	0
Cyanazine	1	2	1	0	0
Prometryne	2	0	2	0	0

Papaver rhoeas

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 179 pól, z czego 87 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 92 metodą pomiaru fluorescencji.

Osobniki *Papaver rhoeas* wykazywały odporność na triazyny i bentazon (5-13% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na izoproturon, chlorydazon i lenacyl (tab. 39). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 75% (tab. 40). Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na desmedifam i fenmedifam.

Tabela 39

Odporność *Papaver rhoeas* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Papaver rhoeas* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	10	11	14	15
Simazine	7	8	9	10
Cyanazine	5	6	7	8
Prometryne	4	5	5	5
Metamitron	5	6	6	7
Bentazone	8	9	4	4
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	2	2	-	-
Isoproturon	1	1	2	2
Lenacil	2	2	-	-

Tabela 40

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Papaver rhoeas*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Papaver rhoeas*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	4	3	5	0
Simazine	2	3	2	2	0
Cyanazine	2	2	2	1	0
Prometryne	1	0	2	2	0
Metamitron	1	2	2	1	0
Isoproturon	1	1	0	0	0
Bentazone	1	2	1	0	0

Polygonum convolvulus

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 105 pól uprawnych, z czego 69 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 36 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Polygonum convolvulus* wykazywały odporność na atrazyne, symazyne, cyanazyne i chlorydazon (3-17% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na prometryne, metrybuzyne, linuron, bentazon i lenacyl (tab. 41). Na kilku polach odporne taksony *Polygonum convolvulus* dominowały; ich udział w zbiorowisku przekraczał 50% (tab. 42).

Tabela 41

Odporność *Polygonum convolvulus* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Polygonum convolvulus* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	11	16	7	19
Simazine	3	4	3	8
Cyanazine	3	4	1	3
Prometryne	2	3	1	3
Metribuzine	1	1	-	-
Bentazone	0	0	2	6
Chloridazone	4	6	-	-
Linuron	2	3	0	0
Lenacil	2	3	-	-

Tabela 42

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Polygonum convolvulus*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Polygonum convolvulus*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	1	1	3	0
Simazine	1	1	0	1	0
Cyanazine	0	1	0	0	0
Prometryne	0	1	0	0	0
Bentazone	0	2	0	0	0

Polygonum persicaria

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 62 pól uprawnych, z czego 39 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 23 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Polygonum persicaria* wykazywały odporność na atrazyne, symazyne, cyjanazyne, metamitron i chlorydazon (5-16% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na prometryne, metrybuzyne, linuron i bentazon (tab. 43). Na dwóch polach taksony odporne *Polygonum persicaria* dominowały, a ich udział w zbiorowisku przekraczał 50% (tab. 44).

Tabela 43

Odporność *Polygonum persicaria* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Polygonum persicaria* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	6	15	4	17
Simazine	2	5	2	9
Cyanazine	2	5	1	4
Prometryne	2	5	0	0
Metribuzine	1	3	-	-
Metamitron	4	10	2	9
Chloridazone	4	10	-	-
Linuron	1	3	0	0
Bentazone	1	3	0	0

Tabela 44

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Polygonum persicaria*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Polygonum persicaria*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	0	1	1	0
Simazine	0	1	0	0	0
Cyanazine	0	1	0	0	0
Metamitron	0	1	0	1	0

Polygonum aviculare

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 46 pól uprawnych, z czego 29 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 17 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Polygonum aviculare* wykazywały odporność na atrazynę, symazynę, cyjanazynę, metamitron i chlorydazon (7-17% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na prometrynę i linuron (tab. 45). Liczebność biotypów odpornych *Polygonum aviculare* na atrazynę i metamitron w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20%. Nie zidentyfikowano żadnego osobnika odpornego na metrybuzynę i bentazon.

Z doniesień literaturowych wynika, że odporność osobników z rodziny *Polygonum* na substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy, tj. atrazynę, symazynę, metrybuzynę, prometrynę, terbutrynę i lenacyl zidentyfikowano w Czechach, Polsce, Francji, Niemczech, Hiszpanii i USA. Biotypy odporne występowały głównie na plantacjach kukurydzy oraz na przydrożach i torowiskach (38, 82, 103, 129, 132).

Tabela 45

Odporność *Polygonum aviculare* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Polygonum aviculare* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	5	17	2	12
Simazine	2	7	1	6
Cyanazine	2	7	0	0
Prometryne	1	3	0	0
Metribuzine	0	0	-	-
Metamitron	2	7	1	6
Bentazone	0	0	0	0
Chloridazone	3	10	-	-
Linuron	1	3	0	0

Sinapis arvensis

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 62 pól uprawnych, z czego 37 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 25 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Sinapis arvensis* wykazywały odporność na triazyny (9-32% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na chlorotoluron, chlorydazon i lenacyl (tab. 46). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 50% (tab. 47). Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na desmedifam, fenmedifam, linuron, metobromuron i izoproturon. Odporność tego gatunku na atrazynę i metrybuzynę zidentyfikowano w Kanadzie i USA (4, 82, 126, 133).

Tabela 46

Odporność *Sinapis arvensis* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Sinapis arvensis* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	12	32	8	32
Simazine	5	13	3	12
Cyanazine	2	5	4	16
Prometryne	2	5	2	8
Metribuzine	6	16	-	-
Metamitron	4	11	3	12
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	2	5	-	-
Linuron	0	0	0	0
Chlortoluron	3	8	0	0
Isoproturon	0	0	0	0
Metobromuron	0	0	0	0
Lenacil	2	5	-	-

Tabela 47

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Sinapis arvensis*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Sinapis arvensis*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	3	2	3	0	0
Simazine	1	2	0	0	0
Cyanazine	2	2	0	0	0
Prometryne	0	2	0	0	0
Metamitron	2	0	1	0	0

Solanum nigrum

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 74 pól uprawnych, z czego 43 próbki poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 31 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Solanum nigrum* wykazywały odporność na triazyny (11-32% badanych pól) oraz w mniejszym stopniu na chlorydazon i bentazon (tab. 48). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 50% (tab. 49). Odporność tego gatunku na atrazynę, cyanazynę, prometrynę, terbutyloazynę i symazynę zidentyfikowano w Czechach, krajach Europy Zachodniej i w Nowej Zelandii (21, 35, 82, 100, 130, 196). W Polsce odporne osobniki *Solanum nigrum* zarejestrowano w sadach i na polach uprawnych województwa mazowieckiego (176).

Tabela 48

Odporność *Solanum nigrum* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Solanum nigrum* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	15	35	9	29
Simazine	5	12	2	6
Cyanazine	3	7	2	6
Prometryne	9	21	7	23
Metamitron	5	12	3	10
Bentazone	2	5	0	0
Chloridazone	3	7	-	-

Tabela 49

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Solanum nigrum*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Solanum nigrum*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	4	3	0	0
Simazine	1	1	0	0	0
Cyanazine	0	2	0	0	0
Prometryne	2	2	3	0	0
Metamitron	0	2	1	0	0

Lamium amplexicaule

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 49 pól uprawnych, z czego 27 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 22 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Lamium amplexicaule* wykazywały odporność na atrazyne, symazyne, metamitron, chlorydazon i bentazon (tab. 50). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 50% (atrazyna i symazyne); (tab. 51). Nie zidentyfikowano żadnego osobnika odpornego na desmedifam, fenmedifam i lenacyl.

Tabela 50

Odporność *Lamium amplexicaule* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Lamium amplexicaule* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	7	26	5	23
Simazine	5	19	2	9
Metamitron	5	19	3	14
Bentazone	4	15	2	9
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	3	11	-	-
Lenacil	0	0	-	-

Tabela 51

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Lamium amplexicaule*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Lamium amplexicaule*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	1	2	2	0	0
Simazine	1	0	1	0	0
Metamitron	1	2	0	0	0
Bentazone	0	2	0	0	0

Lamium purpureum

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 36 pól uprawnych, z czego 22 próbki poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 14 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Lamium purpureum* wykazywały odporność na atrazynę, symazyne, metamitron, chlorydazon i bentazon (tab. 52). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20% (tab. 53). Nie zidentyfikowano żadnego osobnika odpornego na desmedifam, fenmedifam i lenacyl.

Tabela 52

Odporność *Lamium purpureum* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Lamium purpureum* on herbicides – inhibitors of photosynthese PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	6	27	3	21
Simazine	3	14	1	7
Metamitron	4	18	2	14
Bentazone	2	9	1	7
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	2	9	-	-
Lenacil	0	0	-	-

Tabela 53

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Lamium purpureum*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Lamium purpureum*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	1	2	0	0	0
Simazine	0	1	0	0	0
Metamitron	1	1	0	0	0
Bentazone	1	0	0	0	0

Anthemis arvensis

Próbki nasion tego gatunku pobrano z 64 pól uprawnych. Próbki te poddano oznaczeniu testem biologicznym. Na podstawie przeprowadzonych analiz ustalono występowanie osobników odpornych na różne substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII (tab. 54).

Osobniki *Anthemis arvensis* wykazywały odporność na atrazynę, symazyne i metamitron (4-12% badanych pól) oraz w mniejszym nasileniu na cyjanazynę, chlortoluron, chlorydazon i bentazon. Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na metrybuzynę, izoproturon i metobromuron.

Tabela 54

Odporność *Anthemis arvensis* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Anthemis arvensis* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól Number of fields	Udział [%] Participation [%]
Atrazine	8	12
Simazine	3	4
Cyanazine	2	3
Prometryne	1	1
Metribuzine	0	0
Metamitron	4	6
Chlortoluron	2	3
Isoproturon	0	0
Metobromuron	0	0
Chloridazone	2	3
Bentazone	2	3

Capsella bursa-pastoris

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 105 pól uprawnych, z czego 63 próbki poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 42 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Capsella bursa-pastoris* wykazywały odporność na triazyny oraz w mniejszym stopniu na chlortoluron, chlorydazon, linuron, bentazon i lenacyl (tab. 55). Liczebność osobników odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 50% (tab. 56). Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na desmedifam, fenmedifam, metobromuron i izoproturon. Odporność osobników tego gatunku na herbicydy z grupy triazyn zidentyfikowano w sadach na terenie Polski (115, 116).

Tabela 55

Odporność *Capsella bursa-pastoris* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Capsella bursa-pastoris* on herbicides – inhibitors of photosynthese PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	9	14	7	17
Simazine	7	11	5	12
Cyanazine	6	10	2	5
Prometryne	2	3	2	5
Metribuzine	2	3	-	-
Metamitron	5	8	4	10
Bentazone	1	2	0	0
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	2	3	-	-
Linuron	0	0	2	5
Chlortoluron	0	0	2	5
Isoproturon	0	0	0	0
Metobromuron	0	0	0	0
Lenacil	3	5	-	-

Tabela 56

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Capsella bursa-pastoris*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Capsella bursa-pastoris*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	2	3	0	0
Simazine	1	2	2	0	0
Cyanazine	1	0	1	0	0
Prometryne	2	0	0	0	0
Metamitron	1	1	2	0	0
Chlortoluron	1	1	0	0	0
Linuron	1	1	0	0	0

Centaurea cyanus

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 89 pól uprawnych, z czego 47 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 42 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Centaurea cyanus* wykazywały odporność na większość triazyn oraz w mniejszym stopniu na chlorydazon i bentazon (tab. 57). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20% (tab. 58). Wyjątek stanowiły dwa pola, na których nasilenie występowania osobników *Centaurea cyanus* odpornych na atrazynę dochodziło do 50% w populacji. Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na metrybuzynę i pochodne mocznika (chlorotoluron, izoproturon i metobromuron).

Tabela 57

Odporność *Centaurea cyanus* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Centaurea cyanus* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	7	15	5	12
Simazine	4	9	3	7
Cyanazine	3	6	0	0
Metribuzine	0	0	-	-
Metamitron	2	4	2	5
Bentazone	1	2	3	7
Chloridazone	2	4	-	-
Chlortoluron	0	0	0	0
Isoproturon	0	0	0	0
Metobromuron	0	0	0	0

Tabela 58

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Centaurea cyanus*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Centaurea cyanus*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	2	1	2	0	1
Simazine	1	2	0	0	0
Metamitron	2	0	0	0	0
Bentazone	1	2	0	0	0

Stellaria media

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 76 pól uprawnych, z czego 41 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 35 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Stellaria media* wykazywały odporność na atrazynę, symazynę, cyjanazynę, metamitron, chlorotoluron, izoproturon, metrybuzynę, linuron, bentazon i prometrynę (tab. 59). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20% (tab. 60). Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na desmedifam, fenmedifam, chlorydazon i metobromuron. Występowanie osobników tego gatunku odpornych na atrazynę zidentyfikowano w Europie Zachodniej na plantacjach kukurydzy (82, 93).

Tabela 59

Odporność *Stellaria media* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Stellaria media* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	6	15	3	9
Simazine	2	5	2	6
Cyanazine	2	5	1	3
Prometryne	1	2	0	0
Metribuzine	1	2	-	-
Metamitron	2	5	2	6
Bentazone	0	0	2	6
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	0	0	-	-
Linuron	1	2	1	3
Chlortoluron	1	2	0	0
Isoproturon	1	2	0	0
Metobromuron	0	0	0	0

Tabela 60

Stopień nasilenia występowania osobników odpornych w populacjach *Stellaria media*
Frequency of occurrence of resistant biotypes in populations of *Stellaria media*

Substancja aktywna Active ingredient	Liczba pól; Number of fields				
	udział osobników odpornych w zbiorowisku [%] participation of resistant biotypes in community [%]				
	0-5	6-20	21-50	51-75	76-100
Atrazine	1	2	0	0	0
Simazine	1	1	0	0	0
Cyanazine	1	0	0	0	0
Metamitron	1	1	0	0	0
Linuron	1	0	0	0	0
Bentazone	0	2	0	0	0

Viola arvensis

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 93 pól uprawnych, z czego 60 próbek poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 33 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Viola arvensis* wykazywały odporność na atrazynę, symazynę, cyjanazynę i metamitron (do 7% badanych pól), w mniejszym stopniu na metrybuzynę, bentazon i prometrynę (tab. 61). Liczebność osobników odpornych na herbicydy triazynowe w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20%. Nie zidentyfikowano żadnego biotypu odpornego na linuron, fenmedifam i desmedifam.

Tabela 61

Odporność *Viola arvensis* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Viola arvensis* on herbicides – inhibitors of photosynthese PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	5	8	2	6
Simazine	3	5	1	3
Cyanazine	1	2	2	6
Prometryne	1	2	0	0
Metrybuzine	2	3	-	-
Metamitron	2	3	1	3
Bentazone	1	2	0	0
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Linuron	0	0	0	0

Veronica persica

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 54 pól uprawnych, z czego 32 próbki poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 22 metodą pomiaru fluorescencji. Na podstawie przeprowadzonych analiz ustalono występowanie osobników odpornych na różne substancje aktywne herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII (tab. 62). Osobniki *Veronica persica* wykazywały odporność na atrazynę, symazynę, cyjanazynę, metamitron, linuron, bentazon i lenacil (do 6% badanych pól). Liczebność biotypów odpornych w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20%. Nie zidentyfikowano żadnego osobnika odpornego na prometrynę, metrybuzynę, chlorydazon, fenmedifam i desmedifam.

Tabela 62

Odporność *Veronica persica* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Veronica persica* on herbicides – inhibitors of photosynthese PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	2	6	2	9
Simazine	2	6	0	0
Cyanazine	2	6	0	0
Prometryne	0	0	0	0
Metribuzine	0	0	-	-
Metamitron	2	6	1	5
Bentazone	1	3	0	0
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	0	0	-	-
Lenacil	1	3	-	-

Thlaspi arvense

Próbki roślin i nasion tego gatunku pobrano z 126 pól uprawnych, z czego 74 próbki poddano oznaczeniu testem biologicznym, a 52 metodą pomiaru fluorescencji. Osobniki *Thlaspi arvense* wykazywały odporność na atrazynę, symazyne, cyjanazyne, metamitron i chlorydazon (do 3% badanych pól); (tab. 63). Liczebność biotypów odpornych na atrazynę i metamitron w poszczególnych zbiorowiskach nie przekraczała 20%. Nie zidentyfikowano żadnego osobnika odpornego na prometrynę, metrybuzyne, chlorotoluron, izoproturon, metobromuron, bentazon, fenmedifam i desmedifam.

Pozostałe gatunki chwastów, tj. *Myosotis arvensis*, *Aethusa cynapium*, *Galium aparine* i *Geranium pusillum* występowały sporadycznie, a próbki ich nasion pobrano jedynie z kilkunastu przeanalizowanych pól uprawnych Dolnego Śląska i Opolszczyzny. Odporność tych gatunków zidentyfikowano metodą testu biologicznego. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 64.

Ponadto rośliny i nasiona *Hyoscyamus niger* pobrano z 14 pól. Nie zidentyfikowano żadnego osobnika wykazującego odporność w stosunku do herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII.

W przypadku niektórych gatunków chwastów nie natrafiono na żadne przykłady literaturowe, świadczące o zidentyfikowaniu ich odporności na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy.

Tabela 63

Odporność *Thlaspi arvense* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Thlaspi arvense* on herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Substancja aktywna Active ingredient	Test biologiczny Bioassay		Pomiar fluorescencji Fluorescence measurement	
	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]	liczba pól number of fields	udział [%] participation [%]
Atrazine	3	4	1	2
Simazine	2	3	0	0
Cyanazine	2	3	0	0
Prometryne	0	0	0	0
Metribuzine	0	0	0	0
Metamitron	1	1	1	2
Bentazone	0	0	0	0
Phenmedipham	0	0	0	0
Desmedipham	0	0	0	0
Chloridazone	1	1	-	-
Linuron	0	0	0	0
Chlortoluron	0	0	0	0
Isoproturon	0	0	0	0
Metobromuron	0	0	0	0

Tabela 64

Odporność *Myosotis arvensis*, *Aethusa cynapium*, *Galium aparine* i *Geranium pusillum* na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII
Resistance of *Myosotis arvensis*, *Aethusa cynapium*, *Galium aparine* and *Geranium pusillum* to herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Gatunek chwastu Weed species	Liczba badanych pól Number of tested fields	Odporność na Resistance to	Liczba pól z biotypami odpornymi Number of fields with resistant biotypes
<i>Myosotis arvensis</i>	17	atrazine simazine metamitron lenacil	4 3 2 2
<i>Aethusa cynapium</i>	11	atrazine simazine	4 2
<i>Galium aparine</i>	18	bentazone chlortoluron	3 2
<i>Geranium pusillum</i>	19	atrazine linuron	4 1

4.5. ODPORNOŚĆ KRZYŻOWA

Wśród badanych gatunków chwastów, oprócz odporności prostej na pojedyncze substancje aktywne herbicydów, zidentyfikowano również osobniki, które wykazywały odporność krzyżową na dwie i więcej substancji o tym samym mechanizmie działania. Analizowane biotypy wykazywały najczęściej odporność krzyżową na herbicydy triazynowe (np. atrazyna – symazyna, atrazyna – met amitron), a także pomiędzy triazynami i innymi substancjami aktywnymi z grupy inhibitorów fotosyntezy (np. atrazyna – linuron, atrazyna – lenacil). Zidentyfikowano również pojedyncze przypadki występowania odporności wewnątrz innych grup substancji chemicznych, np. w grupie pochodnych mocznika (linuron – chlorotoluron, izoproturon – chlorotoluron). Wyniki tych badań zamieszczono w tabeli 65, wykazując liczbę pól uprawnych, na których stwierdzono występowanie osobników z odpornością krzyżową.

Zjawisko odporności krzyżowej potwierdzają również w swoich pracach inni autorzy (77, 129, 130). Przypadki odporności krzyżowej spotkać można głównie na substancje z grupy triazyn. Znane są także przykłady świadczące o występowaniu odporności krzyżowej w innych układach: triazyny – chlorydazon, triazyny – lenacyl oraz triazyny – linuron i inne pochodne mocznika (48, 131, 172, 185). Występowanie tego zjawiska nie musi być spowodowane tym, że na danym polu uprawnym stosowano wszystkie herbicydy, na które zidentyfikowano odporność. T o t h C s a n t a v e r i i in. (182) zidentyfikowali biotypy *Ambrosia artemisiifolia* odporne na atrazynę (Węgry 1993). Po dziesięciu latach na tych samych polach ponownie przeprowadzono badania odporności i stwierdzono, że osobniki tego gatunku wykazują odporność nie tylko na atrazynę, ale również na inne substancje z grupy triazyn, takie jak: metrybutryna, prometryna, terbutryna i terbutyloazyna, pomimo że nie były one stosowane na tych polach.

W przypadku biotypów *Myosotis arvensis* i *Aethusa cynapium* zidentyfikowano odporność krzyżową na atrazynę i symazynę (1 pole). Natomiast wśród taksonów *Galium aparine*, *Geranium pusillum* i *Hyoscyamus niger* nie stwierdzono występowania zjawiska odporności krzyżowej.

4.6. ODPORNOŚĆ WIELOKROTNA

Na podstawie przeprowadzonych analiz wśród biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli* oraz *Centaurea cyanus* stwierdzono również występowanie odporności wielokrotnej pomiędzy dwoma grupami herbicydów – inhibitorami fotosyntezy (atrazyna) i inhibitorami ALS (chlorosulfuron, nikosulfuron, rimsulfuron, jodosulfuron i foramsulfuron); (tab. 66). Odporność wielokrotną zidentyfikowano tylko jedną metodą, tj. testem biologicznym. Dla sprawdzenia uzyskanych wyników dwa lata później (rok 2003) z tych samych pól ponownie pobrano materiał roślinny tych samych gatunków chwastów i poddano analizie metodą testu biologicznego. Przeprowadzone testy potwierdziły występowanie odporności wielokrotnej pomiędzy inhibitorami fotosyntezy i ALS.

Tabela 65

Oporność krzyżowa w grupie herbicydów – inhibitorów fotosyntezy PSII
 Cross-resistance in group of herbicides – inhibitors of photosynthesis PSII

Gatunek chwastu Weed species	Odporność krzyżowa Cross-resistance	Liczba pól Number of fields
<i>Anthemis arvensis</i> L.	atrazine – metamiltron	2
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	atrazine – simazine	11
	atrazine – prometryne	3
	atrazine – metribuzine	1
	atrazine – metamiltron	9
	atrazine – simazine - metamiltron	4
	atrazine – chloridazone	6
	atrazine – linuron	3
	atrazine – bentazone	2
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Med.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamiltron	3
	atrazine – cyanazine	1
<i>Centaurea cyanus</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamiltron	1
	atrazine – bentazone	1
<i>Chenopodium album</i> L.	atrazine – simazine	13
	atrazine – metamiltron	17
	atrazine – prometryne	3
	atrazine – simazine – metamiltron	5
	atrazine – linuron	3
	atrazine – chloridazone	7
	atrazine – lenacil	1
	metamiltron – chloridazone	5
	linuron – chlortoluron	3
	isoproturon – chlortoluron	1
	chloridazone – lenacil	2
<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	atrazine – simazine	2
	atrazine – cyanazine	2
	atrazine – prometryne	1
<i>Lamium amplexicaule</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamiltron	3
	atrazine – bentazone	1
<i>Lamium purpureum</i> L.	atrazine – metamiltron	2
	atrazine – bentazone	1
<i>Papaver rhoeas</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamiltron	3
	atrazine – bentazone	3
<i>Polygonum convolvulus</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – chloridazone	1
	lenacil – chloridazone	1

cd. tabeli 65

Gatunek chwastu Weed species	Odporność krzyżowa Cross-resistance	Liczba pól Number of fields
<i>Polygonum persicaria</i> L.	atrazine – metamitron	2
	atrazine – simazine	1
	atrazine – chloridazone	1
<i>Polygonum aviculare</i> L.	atrazine – metamitron	1
	atrazine – simazine	1
	atrazine – chloridazone	1
<i>Sinapis arvensis</i> L.	atrazine – simazine	1
	atrazine – metamitron	2
	atrazine – metribuzine	1
<i>Solanum nigrum</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamitron	2
	atrazine – prometryne	1
	atrazine – bentazone	1
	atrazine – chloridazone	1
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	atrazine – metamitron	1
	atrazine – simazine	1
<i>Thlaspi arvense</i> L.	atrazine – simazine – cyanazine	1
<i>Viola arvensis</i> Murr.	atrazine – metamitron	1
	atrazine – simazine	1
<i>Veronica persica</i> Poiret	atrazine – metamitron	1

Tabela 66

Odporność wielokrotna na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy i syntetazy acetylomleczanowej
Multi resistance to inhibitors of photosynthesis and ALS

Gatunek chwastu Weed species	Odporność Resistance	Liczba próbek Number of samples
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	atrazine i (and) rimsulfuron	0 (13)*
	atrazine i (and) nicosulfuron	7 (13)
	atrazine i (and) foramsulfuron, jodosulfuron	3 (13)
<i>Centaurea cyanus</i> L.	atrazine i (and) chlorsulfuron	2 (6)
<i>Chenopodium album</i> L.	atrazine i (and) rimsulfuron	15 (20)
	atrazine i (and) nicosulfuron	12 (20)
	atrazine i (and) foramsulfuron, jodosulfuron	16 (20)
<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	atrazine i (and) rimsulfuron	0 (14)
	atrazine i (and) nicosulfuron	10 (14)
	atrazine i (and) foramsulfuron, jodosulfuron	8 (14)

* w nawiasach podano całkowitą liczbę przebadanych próbek chwastów; in parenthesis given a sum of tested weed samples

Opis przykładów występowania zjawiska odporności wielokrotnej na różne substancje aktywne herbicydów można znaleźć w literaturze (14, 77, 118, 119, 140, 168).

4.7. PRZESTRZENNE ROZMIESZCZENIE BIOTYPÓW CHWASTÓW ODPORNYCH W POŁUDNIOWO-ZACHODNIEJ POLSCE

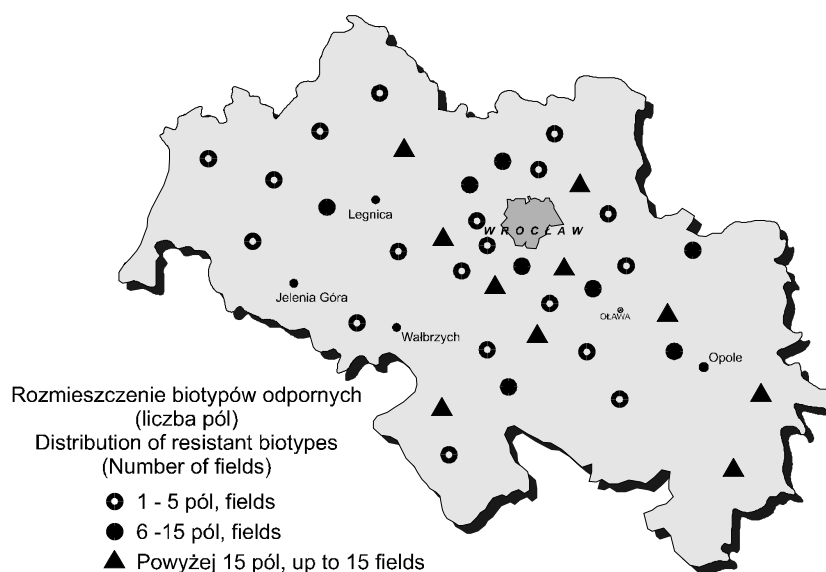
Wśród 23 gatunków chwastów zebranych z 784 pól uprawnych południowo-zachodniej Polski (Dolny Śląsk i Opolszczyzna) dominowały biotypy *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli*. Osobniki tych gatunków wykazywały odporność głównie na herbicydy z grupy triazyn: atrazynę, symazynę, prometrynę, cyjanazynę i metrybuzynę, a w przypadku *Chenopodium album* i *Amaranthus retroflexus* również na metamitron. Odporność wśród powyższych gatunków stwierdzono na 16-52% badanych plantacji, a liczebność osobników odpornych na niektórych polach przekraczała nawet 75%. W stosunku do innych herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy odporność wśród tych gatunków zidentyfikowano na kilku procentach pól objętych badaniami, w nasileniu nie przekraczającym 50% w zbiorowisku.

Z wywiadu środowiskowego wynikało, że na plantacjach, na których wystąpiły odporne gatunki *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli* w ciągu ostatnich 8 i więcej lat uprawiano kukurydzę w monokulturze lub była to roślina dominująca w zmianowaniach uproszczonych. Pola uprawne, na których zidentyfikowano najwięcej biotypów odpornych są obecnie częścią dużych gospodarstw prywatnych lub dzierżawionych, które wcześniej należały do Państwowych Gospodarstw Rolnych. Mniejszą liczbę przypadków odporności stwierdzono na plantacjach małych (5-10 ha), należących do rolników indywidualnych. To zróżnicowanie odporności może wynikać z odmiennych sposobów uprawy roli, systemu zmianowania i ilości środków chemicznych stosowanych do odchwaszczania roślin. Gospodarstwa indywidualne stosowały na ogół mniej herbicydów, poprawne zmianowanie roślin, tradycyjną uprawę roli i, dodatkowo, odchwaszczanie mechaniczne. Czynniki te wpływają na ograniczenie i opóźnienie wystąpienia zjawiska odporności.

Dla gatunków *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Polygonum aviculare*, *Lamium amplexicaule*, *Anthemis arvensis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus* i *Papaver rhoeas* liczebność osobników odpornych na herbicydy triazynowe przekraczała w kilku przypadkach 50% w zbiorowisku. Dla pozostałych taksonów udział biotypów odpornych na herbicydy triazynowe zwykle był mniejszy, a w stosunku do innych herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy odporność występowała na pojedynczych polach, w nasileniu do kilkunastu procent w zbiorowisku.

Na wybranych do analiz polach uprawnych stwierdzono również występowanie zjawiska odporności krzyżowej, głównie w grupie triazyn, oraz odporności wielokrotnej na herbicydy triazynowe (inhibitory fotosyntezy) i pochodne sulfonilomocznika (inhibitory ALS).

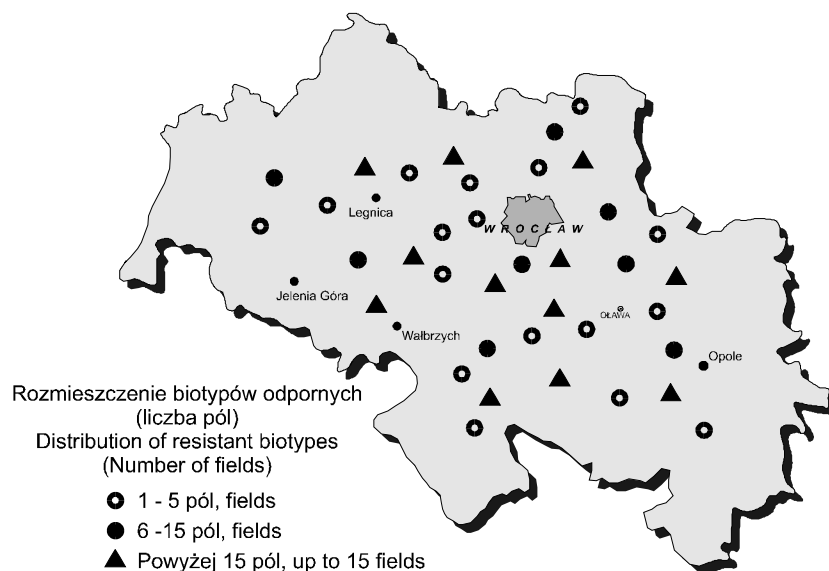
Na rysunkach 17-19 przedstawiono mapy terenu objętego badaniami z oznaczeniem obszarów, w których zlokalizowano najwięcej (powyżej 20% w zbiorowisku) osobników odpornych *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli*.



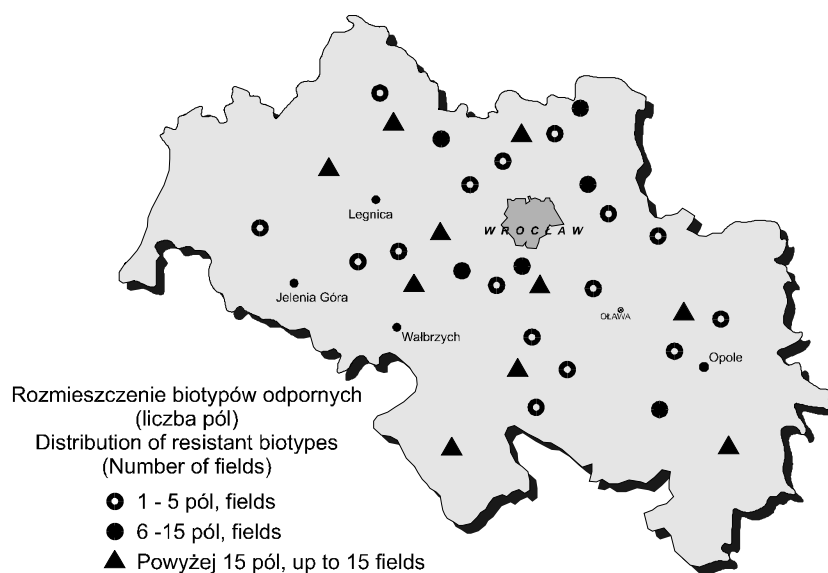
Rys. 17. Lokalizacja pól, na których zidentyfikowano osobniki odporne *Amaranthus retroflexus*
Location of fields, where resistant *Amaranthus retroflexus* biotypes were identified

Brak reakcji lub osłabione działanie niektórych herbicydów spowodowane odpornością chwastów wymusza na farmerach zmiany w dotychczasowym systemie uprawy i ochrony plantacji. Biotypy uodpornione, które nie zostały zniszczone, stają się konkurencyjne względem rośliny uprawnej, co prowadzi zarówno do zmniejszenia plonu, jak i pogorszenia jego jakości. Zdarzają się przypadki, kiedy rolnik widząc słabe działanie herbicydu zwiększa jego dawkę. Takie postępowanie nie eliminuje problemu zachwaszczenia, a może powodować zagrożenie dla człowieka i środowiska, którego wskaźnikami są pozostałości substancji aktywnej w plonie, zanieczyszczenie gleby oraz wód powierzchniowych i gruntowych (102, 108, 162).

Niezależnie od poglądów na mechanizm powstawania odporności czynnikiem stymulującym to zjawisko jest wieloletnie stosowanie herbicydów o tym samym mechanizmie działania. Występowanie i rozprzestrzenianie się osobników uodpornionych można skutecznie ograniczać, między innymi, poprzez odpowiedni dobór herbicydów i ich mieszanin. W Zakładzie Ekologii i Zwalczania Chwastów Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa prowadzone są badania, których celem jest opracowanie



Rys. 18. Lokalizacja pól, na których zidentyfikowano osobniki odporne *Chenopodium album*
Location of fields, where resistant *Chenopodium album* biotypes were identified



Rys. 19. Lokalizacja pól, na których zidentyfikowano osobniki odporne *Echinochloa crus-galli*
Location of fields, where resistant *Echinochloa crus-galli* biotypes were identified

systemów chemicznej regulacji zachwaszczenia plantacji, na których występują chwasty uodpornione (154, 157). Przeprowadzone prace wykazały, że w pierwszym etapie należy rozpoznać występujące biotypy chwastów i substancje, na które są one odporne. Dzięki tym informacjom można dobrać herbicydy o innych mechanizmach działania, skutecznie zwalczające gatunki uodpornione i nie fitotoksyczne dla roślin uprawnych. Na większości badanych pól uprawnych stwierdzono występowanie odporności prostej i krzyżowej. W takich sytuacjach szeroki asortyment preparatów zalecany do zwalczania chwastów w głównych uprawach umożliwi dobór herbicydów o różnym mechanizmie działania, skutecznie eliminujących zachwaszczenie.

Rozpatrując zmiany w występowaniu i liczebności biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na atrazynę (rozdz. 4.3.) można stwierdzić, że w ostatnich kilku latach na obszarze objętym badaniami nie obserwowano wyraźnych zmian ilościowych w występowaniu zjawiska odporności chwastów na tę substancję aktywną. W wielu przypadkach, szczególnie na plantacjach kukurydzy, można stwierdzić duże nasilenie *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli*, jak również innych gatunków chwastów odpornych na triazyny. Zmianowanie roślin i rotacja herbicydów o różnych mechanizmach działania nie wyeliminowała chwastów odpornych, a jedynie ograniczyła ich liczebność w zbiorowisku. W kukurydzy uprawianej w monokulturze po aplikacji herbicydu należącego do grupy o innym mechanizmie działania niż triazyny (np. herbicyd zawierający substancję aktywną z grupy pochodnych sulfonilomocznika) obserwowano wysoką skuteczność tego środka w zwalczaniu chwastów uodpornionych. Pomimo tego w zbiorowisku zachwaszczenia wtórnego pod koniec wegetacji kukurydzy nadal znaczący odsetek stanowiły osobniki odporne. Świadczy to o tym, że krótkotrwała zmiana rodzaju herbicydów lub ograniczone zmianowanie roślin nie eliminują problemu odporności.

Obecnie herbicydy triazynowe, a szczególnie te, które zawierają atrazynę, są wycofywane z rynku środków ochrony roślin, co w najbliższych latach powinno znacząco wpłynąć na zmniejszenie występowania i rozprzestrzeniania się chwastów odpornych na te substancje. Niestety, pomimo tych zmian występowanie zjawiska odporności nie będzie malało. Corocznie przybywa informacji o pojawieniu się nowych gatunków chwastów odpornych na inne grupy herbicydów, wśród których dominują inhibitory syntezy ALS (pochodne sulfonilomocznika, np. chlorosulfuron, jodosulfuron, nikosulfuron i rimsulfuron) oraz inhibitory acetylo CoA karboksylazy – chizalofop-P, fluazifop-P, setoksydym, diklofop metylowy i inne (142).

Szybki rozwój zjawiska odporności chwastów na różne środki ochrony roślin spowodował, że kraje zrzeszone w Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (EPPO) wprowadziły wymóg analizy zagrożenia odpornością w ramach badań nad oceną skuteczności środków ochrony roślin w procesie rejestracji i dopuszczenia ich do stosowania w praktyce. Procedura rejestracji w krajach Unii Europejskiej (199) wymaga, aby wnioskujący dostarczali informacje o możliwości wystąpienia i rozwoju odporności, w tym także danych o innych agrofagach lub roślinach, które mogłyby

wskazywać na prawdopodobieństwo rozwoju odporności. Opis wytycznych zawartych w procedurze dotyczącej m.in. możliwego sposobu szacowania i postępowania w przypadku zagrożenia odpornością oraz danych, które muszą być dostarczane dla opracowania wyników analiz i podejmowania decyzji rejestracyjnych można odnaleźć w Biuletynie EPPO (184).

W latach osiemdziesiątych i na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku źródła literaturowe informowały o przypadkach odporności na herbicydy z grupy triazyn, którą zidentyfikowano tylko dla kilku gatunków chwastów, występujących głównie w sadach i na plantacjach kukurydzy (115, 116, 156, 158). Ostatnie doniesienia (21, 50, 51, 57, 153, 175) oraz wyniki badań własnych wskazują, że zjawisko odporności zarówno prostej, krzyżowej i wielokrotnej dotyczy coraz większej liczby pól uprawnych, gatunków chwastów i substancji aktywnych herbicydów. Biorąc powyższe pod uwagę należy stwierdzić, że konieczne jest opracowanie odpowiednich metod postępowania i szkoleń producentów rolnych w zakresie rozpoznawania i przeciwdziałania zjawisku odporności, jak również uwzględnienie tego zagadnienia w programach edukacyjnych szkół rolniczych.

5. WNIOSKI

1. Osobniki większości badanych gatunków chwastów wykazywały odporność głównie na herbicydy triazynowe (atrazyna, symazyna, metamidron, prometryna). Odporność na te herbicydy zidentyfikowano najczęściej na polach, na których uprawiano kukurydzę w monokulturze lub była to roślina dominująca w uproszczonym zmianowaniu.

2. Taksony *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odporne na triazyny wystąpiły na 16-52% pól objętych badaniami. Na obszarach tych liczebność osobników odpornych przekraczała nawet 75% w zbiorowisku. W stosunku do innych herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy odporność zidentyfikowano na kilku procentach pól, w nasileniu nie przekraczającym 50% w zbiorowisku.

3. Wśród gatunków *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Polygonum aviculare*, *Lamium amplexicaule*, *Anthemis arvensis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus* i *Papaver rhoeas* liczebność osobników odpornych na herbicydy triazynowe przekraczała w kilku przypadkach 50% w zbiorowisku. Dla pozostałych taksonów nasilenie osobników odpornych na herbicydy triazynowe zwykle nie przekraczało 50% w populacji, a w stosunku do innych herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy odporność notowano na pojedynczych polach w ilości do kilkunastu procent w zbiorowisku.

4. Nie stwierdzono występowania biotypów chwastów odpornych na substancje aktywne herbicydów z grupy pochodnych kwasu karbaminowego (desmedifam i fenmedifam).

5. Oprócz odporności prostej wśród wielu gatunków chwastów stwierdzono odporność krzyżową, głównie na różne substancje z grupy triazyn (np. atrazyna – symazyna, atrazyna – metamitron) i jednocześnie na inne substancje aktywne herbicydów (np. atrazyna – linuron, atrazyna – lenacil, linuron – chlorotoluron, izoproturon – chlorotoluron) o tym samym mechanizmie działania.

6. Na polach uprawnych objętych badaniami zidentyfikowano osobniki *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli* i *Centaurea cyanus* wykazujące odporność wielokrotną w stosunku do atrazyny i pochodnych sulfonylomocznika (chlorosulfuron, nikosulfuron, rimsulfuron, jodosulfuron i foramsulfuron).

7. Wysoką porównywalność wyników analiz przeprowadzonych testem biologicznym i metodą pomiaru fluorescencji uzyskano dla substancji aktywnych herbicydów stosowanych powszodowo (zbieżność wyników 78-100%), natomiast dla herbicydów aplikowanych przedwschodowo porównywalność zastosowanych testów była niska (42-76%). Z tego względu wyniki uzyskane metodą pomiaru fluorescencji dla substancji aktywnych herbicydów stosowanych przedwschodowo nie są wiarygodne. Powinny być one zweryfikowane innymi dostępnymi metodami. Nie stwierdzono, aby gatunek testowanego chwastu miał wpływ na porównywalność zastosowanych metod identyfikacji biotypów odpornych

8. Stosowanie herbicydów o różnych mechanizmach działania i wprowadzenie zmianowania roślin zmniejszyło liczebność osobników odpornych w populacji.

9. Zjawisko odporności prostej, krzyżowej i wielokrotnej występuje u coraz większej liczby gatunków chwastów i na coraz więcej substancji aktywnych herbicydów. Nasilenie zjawiska i rozprzestrzenianie się odporności wymusza konieczność opracowania odpowiednich strategii i przeprowadzania szkoleń w zakresie rozpoznawania i przeciwdziałania zjawisku odporności.

Część badań opisanych w pracy wykonano w ramach działalności statutowej Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego oraz projektów badawczych finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji: granty nr 5P06B00116 i 3P06R09724

7. LITERATURA

1. Ahrens W. H., Stoller E. W.: Competition, growth rate and CO₂ fixation in triazine-susceptible and resistant smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*). *Weed Sci.*, 1983, **31**: 438-444.
2. Alfonso M., Pueyo J. J., Gaddour K., Etienne A. L., Kirilovsky D., Picorel R.: Induced new mutation of D1 serine-268 in soybean photosynthetic cell cultures produced atrazine resistance, increased stability of S2Q_B- and S3Q_B- states, and increased sensitivity to light stress. *Plant Physiol.*, 1996, **112**: 1499-1508.
3. Ali A., Fuerst E. P., Arntzen C. J., Souza-Machado V.: Stability of chloroplastic triazine resistance in rutabaga backcross generations. *Plant Physiol.*, 1986, **80**: 511-514.
4. Ali A., McLaren R. D., Souza-Machado V.: Chloroplastic resistance to triazine herbicides in *Sinapis arvensis* L. (wild mustard). *Weed Res.*, 1986, **26**: 39-44.
5. Ali A., Souza-Machado S.: Rapid detection of triazine resistant weeds using chlorophyll fluorescence. *Weed Res.*, 1981, **21**: 191-197.
6. Amesz I., Van Gorkom H. I.: Delayed fluorescence in photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1978, **29**: 47-66.
7. Ammon H. U., Beuret E.: Spread of triazine-resistant weeds in Switzerland and control measures to date. *Zeit. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz.*, 1984, **10**: 183-191.
8. Anderson M. P., Gronwald J. W.: Atrazine resistance in velvet leaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. *Plant Physiol.*, 1991, **96**: 104-109.
9. Anderson D. D., Higley L. G., Martin A. R., Roeth F. W.: Competition between triazine-resistant and susceptible common waterhemp (*Amaranthus rudis*). *Weed Sci.*, 1996, **44**: 853-859.
10. Bettini P., McNelly S., Sevignac M., Darmency H., Gasquez J., Dron M.: Atrazine resistance in *Chenopodium album*: Low and high levels of resistance to the herbicide are related to the same chloroplast *psbA* gene mutation. *Plant Physiol.*, 1987, **84**: 1442-1446.
11. Bohme H., Kunnert K. J., Boger P.: Sites of herbicidal action on photosynthesis: a fluorescence assay study. *Weed Sci.*, 1981, **29**: 371-375.
12. Boydston R. A., Slipe F. W.: Alteration of atrazine uptake and metabolism by tridiphane in giant foxtail (*Setaria faberi*) and corn (*Zea mays*). *Weed Sci.*, 1986, **34**: 850-858.
13. Bravin F., Zanin G., Preston C.: Resistance to diclofop-methyl in two *Lolium* spp. populations from Italy: studies on the mechanism of resistance. *Weed Res.*, 2001, **41**: 461-473.
14. Burnet M. W. M., Hart Q., Holtum J. A. M., Powles S. B.: Resistance to nine herbicide classes in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Sci.*, 1994, **42**: 369-377.
15. Burnet M. W. M., Loveys B. R., Holtum J. A. M., Powles S. B.: Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1993, **46**: 207-218.
16. Cavan G., Cussans J., Moss S. R.: Modelling different cultivation and herbicide strategies for their effect on herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Res.*, 2000, **40**: 561-568.
17. Cheung A. Y., Bogorad L., Van Montagu M., Schell J.: Relocating a gene for herbicide tolerance: A chloroplast gene is converted into a nuclear gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, **85**: 391-395.
18. Chodova D.: Searching for atrazine resistant weed populations in Czechoslovakia. *Fragm. Herb. Jugosl.*, 1988, **17**: 37-43.
19. Chodova D., Kral J., Zemanek J.: Detection of atrazine-resistant biotypes of pigweed and goosefoot by fluorescence method. *Agrochimia*, 1986, **26**: 205-207.
20. Chodova D., Mikulka J., Kocova M.: Comparison of chlorophyll fluorescence and chlorophyll content in triazine-resistant and -susceptible common groundsel (*Senecio vulgaris*). *Ochr. Rostl.*, 1995, **31(3)**: 185-194.
21. Ciarka D., Gawroński S. W.: Biologia i zwalczanie *Solanum nigrum* odpornego na herbicydy triazynowe. *Ochr. Rośl.*, 1996, **40**: 3-5.

22. Ciarka D., Szalacha E., Gawroński S. W.: Wykorzystanie techniki biologii molekularnej do identyfikacji gatunków chwastów odpornych na herbicydy triazynowe. Pam. Puł., 2002, **129**: 267-272.
23. Clay D. V.: New developments in triazine and paraquat resistance and co-resistance in weed species in England. Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1989: 317-324.
24. Conrad S. G., Radosevich S. R.: Ecological fitness of *Senecio vulgaris* and *Amaranthus retroflexus* biotypes susceptible or resistant to triazine. J. Appl. Ecol., 1979, **16**: 171-177.
25. Corriveau J. L., Coleman A. W.: Rapid screening method to detect potential biparental inheritance of plastid DNA and results for over 200 angiosperm species. Am. J. Bot., 1988, **75**: 1443-1458.
26. Darmency H.: Some effects of herbicide-selection on *Alopecurus myosuroides* Huds. Plant Soil, 1981, **59**: 491-494.
27. Darmency H.: Genetics of herbicide resistance in weeds and crops. Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1994: 263-297.
28. Darmency H., Chauvel B., Gasquez J., Matejicek A.: Variation of chlorophyll *a/b* ratio in relation to population polymorphism and mutation of triazine resistance. Plant Physiol. Biochem., 1992, **30**: 57-63.
29. Darmency H., Gasquez J.: Inheritance of triazine resistance in *Poa annua*: Consequences for population dynamics. New Phytol., 1981, **89**: 487-493.
30. Darmency H., Gasquez J.: Appearance and spread of triazine resistance in common lambsquarters (*Chenopodium album*). Weed Technol., 1990, **4**: 173-177.
31. Darmency H., Pernes J.: Use of wild *Setaria viridis* (L.) Beauv. to improve triazine resistance in cultivated *S. italica* (L.) Beauv. by hybridization. Weed Res., 1985, **25**: 175-179.
32. Darmency H., Pernes J.: Agronomic performance of a triazine resistant foxtail millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.). Weed Res., 1989, **29**: 147-150.
33. Debus R. J.: The manganese and calcium ions of photosynthetic oxygen evolution. Bioch. Bioph. Acta, 1992, **1102**: 269-352.
34. Dekker J., Burmester R.: Mutant weeds of Iowa: s-triazine-resistant plastids in *Chenopodium album* L. J. Iowa Academy of Science, 1989, **96**: 61-64.
35. DePrado R., Dominguez C., Tena M.: Triazine resistance in biotypes of *Solanum nigrum* and four *Amaranthus* species found in Spain. Weed Res., 1993, **33**: 17-24.
36. DePrado R., Dominguez C., Tena M.: Characterization of triazine-resistant biotypes of *Amaranthus* spp. found in Spain. Proc. VIII^{ème} Colloque International sur la Biologie, l'Ecologie et la Systematique des Mauvaises Herbes, Dijon, France, 1988: 247-256.
37. DePrado R., Lopez-Martinez N., Gimenez-Espinoza R.: Herbicide-resistant weeds in Europe: agricultural, physiological and biochemical aspects. Weed and Crop Resistance to Herbicides (eds. De Prado R., Jorin J., Garcia-Torres L.). Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, 1997: 17-27.
38. DePrado R., Romera E., Menendez J.: Atrazine detoxification in *Panicum dichotomiflorum* and target site *Polygonum lapatifolium*. Pestic. Bioch. Physiol., 1995, **52**: 1-11.
39. Devlin R. M., Murkowski A., Zbieć I., Karczmarczyk S., Skórska E.: Influence of buthidazole, diuron and atrazine on some light reactions of photosynthesis. Weed Sci., 1983, **31**: 879-883.
40. Devlin R. M., Zbieć I., Murkowski A., Karczmarczyk S.: The use of post-luminescence decay and fluorescence emission to detect initial herbicide toxicity. Weed Res., 1980, **21**: 133-136.
41. Dominguez C., Tena M., DePrado R.: Physiological and biochemical characteristics in triazine resistant biotypes of four *Amaranthus* species. J. Plant Physiol., 1994, **143**: 632-636.

42. Doyle C. J., Cousens R., Moss S. R.: A model of the economics of controlling *Alopecurus myosuroides* Huds. in winter wheat. *Crop Prot.*, 1986, **5**: 143-150.
43. Ducruet J. M., Gasquez J.: Observation de la fluorescence sur feuille entiere et mise en evidence de la resistance chloroplastique a l'atrazine chez *Chenopodium album* L. et *Poa annua* L. *Chemosphere*, 1978, **8**: 691-696.
44. Ducruet J. M., Ort D. R.: Enhanced susceptibility of photosynthesis to high leaf temperature in triazine resistant *Solanum nigrum* L. evidence for photosystem II D1 protein site of action. *Plant Sci.*, 1988, **56**: 38-48.
45. Eleftherohorinos I. G., Vasilakoglou I. B., Dhima K. V.: Metribuzin resistance in *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album* in Greece. *Weed Sci.*, 2000, **48**: 69-74.
46. Erickson J., Rahire M., Rochaix J., Mets L.: Herbicide resistance: changes at three distant sites in the herbicide binding protein. *Science*, 1985, **228**: 204-207.
47. Fraga M. I., Tasede M. G.: Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. *Weed Res.*, 2003, **43**: 333-340.
48. Furest E. P., Arntzen C. J., Pfister K., Penner D.: Herbicide Cross-Resistance in triazine – resistant biotypes of four species. *Weed Sci.*, 1986, **34**: 344-353.
49. Furest E. P., Norman M. A.: Interaction of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Sci.*, 1991, **39**: 458-464.
50. Gadamski G., Ciarka D., Gawroński S. W.: Molecular survey of Polish resistant biotypes of weeds. W: Proc. Second International Weed Control Congress. Copenhagen, DK, 1996: 547-550.
51. Gadamski G., Ciarka D., Gressel J., Gawroński S. W.: Negative cross resistance in triazine resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* and *Conyza canadensis*. *Weed Sci.*, 2000, **48**: 176-180.
52. Gasquez J.: Mutation for triazine resistance within susceptible populations of *Chenopodium album* L. *Herbicide Resistance in Weeds and Crops* (eds Caseley J. C., Cussans G. W., Atkin R. K.). Butterworth Heinemann, Oxford, UK, 1991: 103-114.
53. Gasquez J., Al Mouemar A., Darmency H.: Triazine herbicide resistance in *Chenopodium album* L.: occurrence and characteristics of an intermediate biotype. *Pest. Sci.*, 1985, **16**: 392-396.
54. Gasquez J., Darmency H.: Variation for chloroplast properties between two triazine resistant biotypes of *Poa annua* L. *Plant Sci. Lett.*, 1983, **30**: 99-106.
55. Gasquez J., Darmency H., Compoint J. P.: Comparaison de la germination et de la croissance de biotypes sensibles et résistants aux triazines chez quatre espèces de mauvaises herbes. *Weed Res.*, 1981, **21**: 219-225.
56. Gawroński S. W.: Inheritance of resistance to triazine herbicides by *Echinochloa crus-galli* L. Proc. 5th International Congress Society for the Advancement of Breeding Research in Asia and Oceania, Bangkok, Tajlandia, 1985: 797-801.
57. Gawroński S. W.: Chwasty odporne. I. Mechanizm i stan zjawiska w Polsce. *Ochr. Rośl.*, 1992, **5**: 3-4.
58. Gawroński S. W.: Biologia i odporność na herbicydy gatunków z rodzaju *Amaranthus*. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 33-38.
59. Gawroński S. W., Sugita M., Sugiura M.: Mutation of *psbA* gene in herbicide resistant populations of *Erigeron canadensis*. *Res. Photosyn.*, 1992, **17**: 405-407.
60. Gimenez-Espinosa R., Romera E., Tena M., De Prado R.: Fate of atrazine in treated and pristine accessions of three *Setaria* species. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1996, **56**: 196-207.
61. Glenn S., Phillips W. H., Kalnay P.: Long-term control of perennial broadleaf weeds and triazine-resistant common lambsquarters (*Chenopodium album*) in no-till corn (*Zea mays*). *Weed Technol.*, 1997, **11**: 436-443.
62. Govindje P.: Sixty three years since Kautsky: Chlorophyll *a* fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1995, **22**: 131-160.

63. Govindjee P., Jursinic P. A.: Photosynthesis and fast changes in light emission by green plants. *Photoch. Photobiol. Rev.*, 1979, **4**: 125-205.
64. Gray J. A., Balke N. E., Stoltenberg D. E.: Increased glutathione conjugation of atrazine confers resistance in a Wisconsin velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype. *Pest. Biochem. and Physiol.*, 1996, **55**: 157-171.
65. Gressel J.: Spread and action of herbicide tolerances and uses in crop breeding. *Proc. British Crop Protection Conference – Weeds*. Brighton, UK, 1983: 608-615.
66. Gressel J., Regev Y., Malkin S., Kleifield Y.: Characterization of an s-triazine-resistant biotype *Brachypodium distachyon*. *Weed Sci.*, 1983, **31**: 450-456.
67. Gressel J., Segel L. A.: *Herbicide Resistance in Plants* (eds. Le Baron M. M., Gressel J.). John Wiley & Sons, NY, USA, 1982: 325-334.
68. Gressel J., Segel L. A.: Modelling the effectiveness of herbicide resistance and mixed culture as strategies to delay or preclude resistance. *Weed Technol.*, 1990, **4**: 186-198.
69. Gronwald J. W.: Resistance to Photosystem II Inhibiting Herbicides. *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry* (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1994: 27-60.
70. Gronwald J. W., Andersen R. N., Yee C.: Atrazine resistance in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) due to enhanced atrazine detoxification. *Pest. Biochem. and Physiol.*, 1989, **34**: 149-163.
71. Gunsolus J. L.: *Herbicide resistant weeds*. North Central Regional Extension Publication, 1993, **468**: 1-10.
72. Gwizdek S., Murkowski A., Skórska E.: Application of luminescence method for estimation of herbicide phytotoxicity. *Acta Agrobot.*, 1985, **38(1)**: 33-39.
73. Hall D. O., Rao K. K.: *Photosynthesis*. Cambridge University Press, 1999: 1-259.
74. Hall L. M., Devine M. D.: Cross-resistance of a chlorsulfuron-resistant biotype of *Stellaria media* to a triazolopyrimidine herbicide. *Plant Physiol.*, 1990, **93**: 962-966.
75. Hall L. M., Holtum J. A. M., Powles S. B.: Mechanisms of responsible for cross resistance and multiple resistance. *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry* (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1995: 243-261.
76. Hall L. M., Stromme K. M., Horsman G. P.: Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false cleavers (*Galium spurium*). *Weed Sci.*, 1998, **46**: 390-396.
77. Hall L. M., Tardif F. J., Powles S. B.: Mechanisms of cross and multiple resistance in *Alopecurus myosuroides* and *Lolium rigidum*. *Phytoprotection*, 1994, **75**: 17-23.
78. Hatton P. J., Cole D. J., Edwards R.: Glutathione transferases and herbicide selectivity in maize and *Setaria faberi*. *Pest. Sci.*, 1996, **46**: 267-275.
79. Hatton P. J., Cummins I., Cole D. J., Edwards R.: Glutathione transferases involved in herbicide detoxification in the leaves of *Setaria faberi* (giant foxtail). *Physiol. Plantarum*, 1999, **105**: 9-16.
80. Heap I. M.: The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pest. Sci.*, 1997, **51**: 235-244.
81. Heap I. M.: International survey of herbicide-resistant weeds: lessons and limitations. *Proc. British Crop Protection Conference – Weeds*. Brighton, UK, 1999: 769-776.
82. Heap I. M.: International survey of herbicide-resistant weeds. Internet online document, 2004, <http://www.weedscience.com>. – 10.01.2005
83. Heap I. M.: International survey of herbicide-resistant weeds. Internet online document, 2005, <http://www.weedscience.com>. – aktualizacja 14.02.2005
84. Hirschberg J., McIntosh L.: Molecular basis of herbicide resistance in *Amaranthus hybridus*. *Science*, 1983, **222**: 1346-1349.
85. Holt J. S.: Reduced growth, competitiveness and photosynthetic efficiency of triazine-resistant *Senecio vulgaris* from California. *J. Appl. Ecol.*, 1988, **25**: 307-318.

86. Holt J. S., Thill D. C.: Growth and productivity of resistant plants. *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry* (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1994: 299-316.
87. Holtum J. A. M., Powles S. B.: Annual ryegrass: an abundance of resistance, a plethora of mechanisms. *Proc. British Crop Protection Conference – Weeds*. Brighton, UK, 1991: 1071-1078.
88. Jacobs B. F., Duesing J. H., Antonovics J., Patterson D. T.: Growth performance of triazine-resistant and susceptible biotypes of *Solanum nigrum* over a range of temperatures. *Can. J. Bot.*, 1988, **66**: 847-850.
89. Jędruszcak M., Antoszek R.: Ocena wrażliwości *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. na atrazynę i metrybuzynę. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 51-59.
90. Jordan N.: Effects of triazine-resistance mutation in fitness in *Amaranthus hybridus* (smooth pigweed). *J. Appl. Ecol.*, 1996, **33**: 141-150.
91. Jordan N.: Fitness effects of the triazine resistance mutation in *Amaranthus hybridus*: relative fitness in maize and soybean crops. *Weed Res.*, 1999, **39**: 493-506.
92. Kapeluszný J., Haliniarz M.: Ocena wrażliwości na herbicydy triazynowe kilku populacji *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* z terenu województwa lubelskiego. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 161-167.
93. Kees H.: Beobachtungen über Resistenzerscheinungen bei der Vogelmiere (*Stellaria media*) gegen Atrazin im Mais. *Gesunde Pflanz.*, 1978, **30(1)**: 137-142.
94. Kees H., Lutz A.: The problem of triazine resistance in annual weeds in maize and horticultural crops. *Gesunde Pflanzen.*, 1991, **43**: 216-220.
95. Kelly S. T., Coast G. E., Luthé D. S.: Mode of resistance of triazine resistant annual bluegrass (*Poa annua*). *Weed Technol.*, 1999, **13**: 747-752.
96. Kocova M., Chodova D., Mikulka J.: Use of Hill reaction activity to distinguish between atrazine resistant and susceptible biotypes of weeds. *Agrochemia*, 1988, **31**: 87-90.
97. Kolarz B., Rola J.: INFOHERB – baza danych herbicydów. *Mat. XXX Sesji Nauk. IOR*, cz. 2, 1990: 323-326.
98. Kolarz B., Rola J., Franek M., Sadowski J., Sumisławska J.: Informatyka w rolnictwie. Baza danych herbicydów INFOHERB. *Ochr. Rośl.*, 1991, **1**: 6-8.
99. Kornerova M., Holad, Chodova D.: The effect of irradiance on Hill reaction activity of atrazine-resistant and -susceptible biotypes of weeds. *Phytosynthetica*, 1998, **35(2)**: 265-268.
100. Kramer E., Lotz A. P.: Emergence depth of triazine susceptible and resistant *Solanum nigrum* seeds. *Ann. Appl. Biol.*, 1998, **132**: 277-288.
101. Krause F. H., Weis E.: Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. *Photosynth. Res.*, 1984, **5**: 139-157.
102. Kucharski M.: Pozostałości herbicydów w wodach powierzchniowych i gruntowych na terenach rolniczych. *Pam. Puł.*, 2004, **138**: 89-97.
103. Kucharski M., Rola H.: Identyfikacja chwastów odpornych na triazyny metodą pomiaru fluorescencji. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 257-262.
104. Kucharski M., Rola H.: Identyfikacja biotypów *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* wykazujących odporność krzyżową na herbicydy – inhibitory fotosyntezy fotosystemu II. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2003, **43(1)**: 218-223
105. Kucharski M., Rola H.: Identyfikacja wybranych biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy w uprawie buraka cukrowego. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 2004, **44(2)**: 884-886.
106. Kucharski M., Rola H., Marczevska K.: Identification of weed biotypes showing resistance and cross-resistance to photosystem II inhibiting herbicides on fields of South-West Poland. *AFPP Ann.*, 2004: 627-634.
107. Kucharski M., Sadowski J.: Pozostałości herbicydów w materiale roślinnym i glebie w Polsce na tle norm krajów Unii Europejskiej. *Pam. Puł.*, 2003, **132**: 253-261.
108. Kucharski M., Sadowski J.: Pozostałości substancji aktywnych herbicydów w ziarnie zbóż. *Pam. Puł.*, 2004, **135**: 129-135.

109. Kudsk P., Mathiassen S. K., Cotterman J. C.: Sulfonylurea resistance in *Stellaria media* L. Vill. Weed Res., 1995, **35**: 19-24.
110. Kyle O. I., Ohad J., Arntzen C. I.: Membrane protein damage and repair. Selective loss of a quinone-protein function in chloroplast membranes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1984, **81**: 4070-4074.
111. Le Baron H. M., McFarland J.: Herbicide resistance in weeds and crops: An overview and prognosis. Managing Resistance to Agrochemicals: From Fundamental Research to Practical Strategies (eds Green M. B., Le Baron H. M., Moberg W. K.) American Chemical Society Symposium, Series 421, Washington, DC, USA, 1990: 336-352.
112. Le Baron H. M.: Distribution and seriousness of herbicide resistant weed infestations world wide. Herbicide Resistance in Weeds and Crop (eds Caseley J. C., Cussans G. W., Atkin R. K.). Butterworth Heinemann, Oxford, UK, 1991: 27-55.
113. Lenski R. E., Mittler J. E.: The directed mutation controversy and Neo-Darwinism. Science, 1993, **259**: 188.
114. Letouze A., Gasquez J.: A pollen test to detect ACCase target-site resistance within *Alopecurus myosuroides* populations. Weed Res., 2000, **40**: 151-162.
115. Lipecki J.: *Capsella bursa-pastoris* (L) Med. – another weed resistant to simazine? Acta Soc. Bot. Pol., 1988, **1**: 187-189.
116. Lipecki J., Szwedo J.: Studies on the weed occurrence in herbicide strips in orchards in Eastern Poland. Proc. VIII^{me} Colloque International sur la Biologie, l'Ecologie et la Systematique des Mauvaises Herbes. Dijon, France, 1988: 305-312.
117. Lopez-Martinez N., Gonzalez-Gutierrez J., De Prado R.: Propanil activity, uptake and metabolism in resistant *Echinochloa* spp. biotypes. Weed Res., 2001, **41**: 187-196.
118. Lopez-Martinez N., Marshall G., De Prado R.: Resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to atrazine and quinclorac. Pesat. Sci., 1997, **51**: 171-175.
119. Maertens K. D., Sprague C. L., Tranel P. J., Hines R. A.: *Amaranthus hybridus* populations resistant to triazine and acetolactate synthase-inhibiting herbicides. Weed Res., 2004, **44**: 21-26.
120. Mapplebeck L. R., Souza-Machado V., Grodziński B.: Seed germination and seedling growth characteristics of atrazine-susceptible and resistant biotypes of *Brassica campestris*. Can. J. Plant Sci., 1982, **62**: 733-739.
121. Matthews J. M.: Management of herbicide resistant weed populations. Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1994: 317-335.
122. Maxwell B. D., Mortimer A. M.: Selection for herbicide resistance. Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry (eds Powles S. B., Holtum J. A. M.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 1994: 1-25.
123. McCloskey W. B., Holt J. S.: Triazine resistance in *Senecio vulgaris* parental and nearly isonuclear backcrossed biotypes is correlated with reduced productivity. Plant Physiol., 1990, **92**: 954-962.
124. McCloskey W. B., Holt J. S.: Effect of growth temperature on biomass production of nearly isonuclear triazine resistant and susceptible Common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) Plant Cell Environ., 1991, **14**: 699-705.
125. McNelly S., Bettini P., Seignac M., Darmency H., Gasquez J., Dron M.: A rapid method to test for chloroplast involvement in atrazine resistance. Plant Physiol., 1987, **83**: 248-250.
126. Meikle A., Finch R. P., McRoberts N., Marshall G.: A molecular genetic assessment of herbicide-resistant *Sinapis arvensis*. Weed Res., 1999, **39**: 149-158.
127. Mikulka J., Chodova D.: Differential sensitivity of resistant and sensitive *Chenopodium album* biotypes to herbicides. Agrochemia, 1987, **27**: 241-243.
128. Mikulka J., Chodova D.: Problems of herbicide-resistant Leeds. Agrochemia, 1988, **28**: 207-212.

129. Mikulka J., Chodova D.: The occurrence of resistance weeds in Czech Republic. Proc. International Symposium On Weed and Crop Resistance to Herbicides. Cordoba, Spain, 1995: 47.
130. Mikulka J., Chodova D.: Spread of resistant population of weeds to herbicides in The Czech Republic. Proc. XI^{eme} Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes. Dijon, France, 2000: 547-553.
131. Mikulka J., Chodova D.: The origination of weed resistance to herbicides: present state and prospects in The Czech Republic. Pam. Puł., 2002, **129**: 25-31.
132. Mikulka J., Chodova D., Kocova M.: Occurrence of the triazine herbicide resistant populations of Pale persicaria (*Polygonum persicaria*). Ochr. Rostl., 1988, **24**: 297-302.
133. Morrison I.N., Devine M.D.: Herbicide resistance in the Canadian prairie provinces: five years after the fact. Phytoprotection, 1994, **75**: 5-16.
134. Mullis K.B., Faloona F.A.: Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. Meth. Enzymol., 1987, **155**: 335-350.
135. Murkowski A.: Comparison of the delayed luminescence in triazine susceptible and resistant biotypes of *Brassica napus*. *Cruciferae* Newsletter, 1988, **13**: 119-124.
136. Murkowski A.: Biofizyczne metody badania fotosyntezy roślin rzepaku odpornych na herbicydy triazynowe. Rośl. Oleiste, 1995, **16(1)**: 127-134.
137. O'Donovan J.T., Jeffers G.M., Maurice D., Sharma M.P.: Investigation of a chlorsulfuron-resistant chickweed (*Stellaria media*) population. Can. J. Plant Sci., 1994, **74**: 693-697.
138. Orson J.H., Harris D.: The technical and financial impact of herbicide resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides*) on individual farm businesses in England. Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1997: 1127-1132.
139. Parks R.J., Curran W.S., Roth G.W., Hartwig N.L., Calvin D.D.: Herbicide susceptible common lambsquarters (*Chenopodium album*). Weed Sci., 1996, **44**: 517-522.
140. Powles S.B.: Success from adversity: Herbicide resistance can drive changes to sustainable weed management systems. Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1997: 1119-1126.
141. Powles S.B., Preston C., Bryan I.B., Justsum A.R.: Herbicide resistance: Impact and management. Adv. Agron., 1997, **58**: 58-91.
142. Praczyk T., Skrzypczak G.: Herbicydy. PWRiL Poznań, 2004: 1-274.
143. Rahman A.: Current status of herbicide resistance in New Zealand weeds. Proc. 9th Australian Weeds Conference, 1990: 196-200.
144. Rahman A., James T.K., Mortimer J.: Control of atrazine-resistant fathen in maize. Proc. 36th New Zealand. Weed and Control Conference, 1983: 229-232.
145. Rashid A., Newman J.C., O'Donovan J.T., Robinson D., Maurice D., Poisson D., Hall L.M.: Sulfonylurea herbicide resistance in *Sonchus asper* biotypes in Alberta, Canada. Weed Res., 2003, **43**: 214-220.
146. Regers S.O., Bendich A.J.: Extraction of DNA from miligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. Plant Molec. Biol., 1985, **5**: 69-76.
147. Ritter R.L., Menbere H.: Distribution and management of triazine-resistant weeds in The Mid-Atlantic Region of The USA. Proc. British Crop Protection Conference – Weeds, Brighton, UK, 1997: 1147-1152.
148. Rola H.: Identyfikacja biotypów chwastów uodpornionych na herbicydy triazynowe metodą testu biologicznego. Metodyka **1/2001**. IUNG Puławy, 2001: 1-10.
149. Rola H., Marczevska K.: Biotypy chwastów odporne na chlorosulfuron w rejonie Wrocławia. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 2002, **42(2)**: 575-577.
150. Rola H., Rola J.: Einfluss der Konkurrent durch *Amaranthus retroflexus* L. auf den Zukerruben und Meisanbau und seine chemischen Bekämpfungsmöglichkeiten in Sudwest Polen. Z. Pfl. Krank. Pflanzenschutz, 1992, **16**: 215-220.
151. Rola H., Rola J.: Konkurent von *Chenopodium album* und *Echinochloa crus-galli* auf mais. Proc. 8th EWRS Symposium, Braunschweig, Niemcy, 1993: 101-106.

152. R o l a H., R o l a J.: Badania nad występowaniem chwastów odpornych na triazyny na Dolnym Śląsku. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 1999, **39(1)**: 372-378.
153. R o l a H., R o l a J.: Występowanie *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* – biotypów odpornych na triazyny w kukurydzy na terenie południowo-zachodniej Polski. Pam. Puł., 2002, **129**: 11-24.
154. R o l a H., R o l a J., K u c h a r s k i M., M a r c z e w s k a K.: Zabezpieczenie roślin uprawnych przed chwastami odpornymi na herbicydy. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 2004, **44(1)**: 339-346.
155. R o l a H., R o l a J., S a d o w s k i J., K u c h a r s k i M., P i e t r S.: Influence of long-term application of triazine herbicides on ecosystem. Proc. 3rd International Weed Science Congress, Foz do Iguassu, Brazil, 2000: 243.
156. R o l a J.: Zjawisko uodparniania się niektórych gatunków chwastów na herbicydy. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 1988, **349**: 153-159.
157. R o l a J., R o l a H.: Control of triazine-resistant weeds in maize in southwest Poland. Zeit. Pflanzenk. Pflanzens., 1990, **12**: 509-514.
158. R o l a J., R o l a H., K u c h a r c z y k A.: Problem odporności chwastów na herbicydy w warunkach Polski. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 1989, **29(1)**: 57-73.
159. R y a n G. F.: Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. Weed Sci., 1970, **18**: 614-616.
160. S a d o w s k i J., K u c h a r s k i M.: Persistence of herbicides in surface water. Proc. 10th EWRS Sympozjum, Poznań, 1997: 194.
161. S a d o w s k i J., K u c h a r s k i M.: Monitoring of herbicidal pollution in ground and surface water on arable land of South-West Poland. J. Plant Prot. Res., 2003, **43 (3)**: 241-245.
162. S a d o w s k i J., K u c h a r s k i M., R o l a H.: Pozostałości herbicydów w środowisku glebowo-wodnym. Biul. Nauk. UWM, 2001, **12**: 23-32.
163. S c h m i d t R. R.: HRAC classification of herbicide according to mode of action. Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1997: 1133-1140.
164. S c h w e n g e r - E r g e r C., B o h n i s c h N., B a r z W.: A new *psbA* mutation yielding an amino-acid exchange at the lumen-exposed site of D1 protein. Zeit. Naturfor., 1999, **54**: 909-914.
165. S h a n e r D. L.: Herbicide resistance: Where are we? How did we get here? Where are we going? Weed Technol., 1995, **9**: 850-856.
166. S h a n e r D. L.: Herbicide resistance in North America: history, circumstances of development and current situation. Weed and Crop Resistance to Herbicides (eds. De Prado R., Jorriin J., Garcia-Torres L.). Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, 1997: 29-37.
167. S i b o n y M., M i c h e l A., H a a s H. U., R u b i n B., H u r l e K.: Sulfometuron-resistant *Amaranthus retroflexus*: cross-resistance and molecular basis for resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. Weed Res., 2001, **41**: 509-522.
168. S i b o n y M., R u b i n B.: Multiple resistance to ALS inhibitors and triazine herbicides in *Amaranthus* species. Proc. Intern. Symp. Weed and Crop Resistance to Herbicides. Cordoba, Spain, 1996: 112-114.
169. S i b o n y M., R u b i n B.: The ecological fitness of ALS-resistant *Amaranthus retroflexus* and multiple-resistant *Amaranthus blitoides*. Weed Res., 2003, **43**: 40-47.
170. S m e d a R. J., H a s e g a w a P. M., G o l d s b r o u g h P. B., S i n g h N. K., W e l l e r S. C.: A serine-to-threonine substitution in the triazine herbicide-binding protein in potato cells results in atrazine resistance without impairing productivity. Plant Physiol., 1993, **103**: 911-917.
171. S o l y m o s i P., K o s t y a l S.: Mapping of triazine resistance for *Amaranthus retroflexus* L. in Hungary. Weed Res., 1985, **25**: 411-414.
172. S o l y m o s i P., L e h o c z k i E.: Characterization of a triple (atrazine-pyrazon-pyridate) resistant biotype of common lambsquarters (*Chenopodium album* L.). J. Plant Physiol., 1989, **134**: 685-690.

173. Solymosi P., Lehoczki E., Laskay G.: Difference in herbicide resistance to various taxonomic populations of common lambsquarters (*Chenopodium album*) and late-flowering goosefoot (*Chenopodium strictum*) in Hungary. *Weed Sci.*, 1986, **34**: 175-180.
174. Souza-Machado V., Shupe J., Keller W.A.: Cytoplasmic-inherited atrazine resistance transmitted through anther culture in rutabaga. *Z. Pflanzenzuecht.*, 1985, **95**: 179-184.
175. Stacheci S., Adamczewski K.: *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* – występowanie i reakcja na herbicydy o różnym mechanizmie działania. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 247-252.
176. Stankiewicz M., Gadoński G., Gawroński S.W.: Genetic variation and phylogenetic relationship of triazine-resistant and triazine-susceptible biotypes of *Solanum nigrum*: analysis using RAPD markers. *Weed Res.*, 2001, **41**: 287-300.
177. Steinback K., McIntosh L., Bogorad L., Arntzen C.: Identification of the triazine receptor protein as a chloroplast gene product. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1981, **78**: 7463-7464.
178. Stowe A.M., Holt J.S.: Comparison of triazine-resistant and susceptible biotypes of *Senecio vulgaris* and their F1 hybrids. *Plant Physiol.*, 1988, **87**: 183-189.
179. Tharayil-Santhakumar N.: Mechanism of Herbicide Resistance in Weeds. Book Online, 2004 – www.weedscience.com.
180. Thomzik K.E., Hain R.: Transfer and segregation of triazine tolerant chloroplasts in *Brassica napus* L. *Theor Appl. Genet.*, 1988, **76**: 165-171.
181. Tomlin C.: *The Pesticide Manual*, 10th Edition. British Crop Protection Council, Farnham, UK, 1994: 1-1341.
182. Toth Csantaveri S., Hartmann F., Gracza L., Szentey L., Toth A., Hoffmann Z.: Response of the atrazine-resistant common ragweed populations (*Ambrosia artemisiifolia* L. syn. *A. elatior*) to other triazines in Hungary. *Proc. 4th International Weed Science Congress*, Durban, Republic of South Africa, 2004: 52-53.
183. Tremolieres A., Darmency H., Gasquez J., Dron M., Connan A.: Variation of transhexadecenoic acid content in two triazine-resistant mutants of *Chenopodium album* and their susceptible progenitor. *Plant Physiol.*, 1988, **86**: 967-970.
184. Van Gemerden J.F., De Goey J.W., Rotteveel A.J.W.: Guidance on resistance risk evaluation. *OEPP/EPPO Bulletin*, 1999, **29**: 111-116.
185. Van Oorschot J.L.P., Van Leeuwen P.H.: Inhibition of photosynthesis in intact plants of biotypes resistant or susceptible to atrazine and cross-resistant to others herbicides. *Weed Res.*, 1988, **28**: 223-230.
186. Vaughn K.C.: Physical basis for the maternal inheritance of triazine resistance in *Amaranthus hybridus*. *Weed Res.*, 1985, **25**: 15-19.
187. Vencill W.K., Foy C.L.: Distribution of triazine-resistant smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) and common lambsquarters (*Chenopodium album*) in Virginia. *Weed Sci.*, 1988, **36**: 497-499.
188. Wagner J., Haas H.U., Hurler K.: Identification of ALS inhibitor-resistant *Amaranthus* biotypes using polymerase chain reaction amplification of specific alleles. *Weed Res.*, 2002, **42**: 280-286.
189. Wang R.L., Dekker J.: Variation in herbicide resistance in *Setaria* spp. *Pest. Biochem. Physiol.*, 1995, **51**: 99-116.
190. Watson D., Mortimer A.M., Putwain P.D.: The seed bank dynamics of triazine resistant and susceptible biotypes of *Senecio vulgaris* – Implications for control strategies. *Proc. British Crop Protection Conference – Weeds*. Brighton, UK, 1987: 917-924.
191. Węgliński P.: *Genetyka molekularna*. PWN Warszawa, 1995: 159-160.
192. Whitehead C.W., Switzer C.M.: The different response of strains of wild carrot to 2,4-D and related herbicides. *Can. J. Plant Sci.*, 1963, **43**: 255-262.
193. Woźnica Z., Adamczewski K., Manthey F.A.: Biotypy chwastów odpornych na herbicydy. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl.*, 1996, **36(1)**: 96-101.

194. W r u b e l R. P., G r e s s e l Z.: Are herbicide mixtures useful for delaying the rapid evaluation of resistance? A case study. *Weed Technol.*, 1994, **8**: 635-648.
195. Y i h R. Y., M c R a e D. H., W i l s o n H. F.: Mechanism of selectivity action of 3'-4'-dichloropropionoanilide. *Plant Physiol.*, 1968, **43**: 1291-1296.
196. Z a n i n G., L u c h i n M.: Comparative growth and population dynamics of triazine-resistant and -susceptible biotypes of *Solanum nigrum* L. in relation to maize cultivation. *J. Genet. Breed.*, 1990, **44**: 207-216.
197. Z e m a n e k J.: Effect of herbicides on a resistant *Amaranthus retroflexus* and on *Echinochloa crus-galli*. *Agrochemia*, 1987, **27**: 367-371.
198. Detecting Herbicide Resistance. Plant pot assays – Dose response experiments. Internet document online, www.plantprotection.org/hrac - 15.01.2005.
199. Dyrektywa Rady EU 91/414/EWG z dnia 15 lipca 1991 dotycząca wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin. *Dziennik Urzędowy Wspólnot Europejskich*, **L230**: 1-32.
200. Zalecenia Ochrony Roślin na lata 2004/05. Inst. Ochr. Rośl., Poznań 2003.

ODPORNOŚĆ CHWASTÓW NA HERBICYDY Z GRUPY INHIBITORÓW
FOTOSYNTAZY PSII NA POLACH UPRAWNYCH
POŁUDNIOWO-ZACHODNIEJ POLSKI

Streszczenie

Słowa kluczowe: odporność, odporność krzyżowa, odporność wielokrotna, herbicydy, inhibitory fotosyntezy PSII, chwasty, identyfikacja, fluorescencja, test biologiczny.

Celem prowadzonych badań była:

- identyfikacja biotypów chwastów wykazujących odporność prostą i krzyżową na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII;
- sprawdzenie i porównanie metod umożliwiających identyfikację odporności (test biologiczny oraz pomiar fluorescencji);
- ustalenie częstotliwości występowania odpornych biotypów chwastów na polach uprawnych południowo-zachodniej Polski.

Badania prowadzono w latach 1999–2004. Liście i nasiona gatunków chwastów, takich jak: *Aethusa cynapium*, *Anthemis arvensis*, *Amaranthus retroflexus*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli*, *Galium aparine*, *Geranium pusillum*, *Hyoscyamus niger*, *Lamium amplexicaule*, *Lamium purpureum*, *Myosotis arvensis*, *Papaver rhoeas*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Sinapis arvensis*, *Solanum nigrum*, *Stellaria media*, *Thlaspi arvense*, *Viola arvensis* i *Veronica persica* pobrano z 784 pól uprawnych południowo-zachodniej Polski. Na polach objętych badaniami w ostatnich latach uprawiano, zwykle w monokulturze, kukurydzę, buraka i zboża (głównie pszenicę), stosując przy tym wybrane herbicydy.

Odporność identyfikowano metodami testu biologicznego (ocena fitotoksyczności, pomiar świeżej i suchej masy oraz wyznaczenie indeksu odporności) i pomiaru fluorescencji liści. Na podstawie przeprowadzonych testów stwierdzono odporność wielu biotypów chwastów na herbicydy z grupy pochodnych triazyn (atrazyna, symazyna, metamidron, prometryna, cyjanazyna i metrybuzyna), pochodnych mocznika (chlorotoluron, izoproturon i linuron), a także na herbicydy zawierające: lenacyl, chlorydazon i bentazon. Nie stwierdzono występowania biotypów odpornych na fenmedifam i desmedifam.

Niektóre biotypy chwastów wykazywały odporność krzyżową pomiędzy triazynami (np. atrazyna i symazyna, atrazyna i metamidron) oraz innymi herbicydami z grupy inhibitorów fotosyntezy (atrazyna – lenacyl, linuron – chlorotoluron, atrazyna – chlorydazon).

Kilka osobników *Amaranthus retroflexus*, *Centaurea cyanus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* wykazywało odporność wielokrotną (multi odporność) w stosunku do atrazyny i pochodnych sulfonilomocznika (inhibitory ALS), takich jak: chlorosulfuron, niko-sulfuron i rimsulfuron.

W pracy sprawdzono i porównano dwie metody służące do identyfikacji biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII – testu biologicznego i metody pomiaru fluorescencji liści. Ponadto dokonano oceny rozprzestrzeniania się biotypów odpornych na polach uprawnych Dolnego Śląska i Opolszczyzny.

RESISTANCE OF WEEDS TO PHOTOSYSTEM II INHIBITING HERBICIDES
ON FIELDS OF SOUTH-WEST POLAND

Summary

Keywords: resistance, cross-resistance, multi-resistance, herbicides, inhibitors of photosynthesis PSII, weeds, identification, fluorescence, bioassay

The origination of resistant weed populations and their spread is one of the most serious problems that complicate the system of weed control in many advanced countries throughout the world.

The aim of the research was:

- identification of resistant weeds to herbicides – inhibitors of photosynthesis of photosystem II,
- evaluation of resistant biotypes of weeds distribution on fields of South-West Poland,
- check and comparison of methods for resistance identification.

The research was conducted as monitoring tests. During six years (1999–2004) plants (leaves) and seeds of weeds, such as: *Aethusa cynapium*, *Anthemis arvensis*, *Amaranthus retroflexus*, *Capsella bursa-pastoris*, *Centaurea cyanus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli*, *Galium aparine*, *Geranium pusillum*, *Hyoscyamus niger*, *Lamium amplexicaule*, *Lamium purpureum*, *Myosotis arvensis*, *Papaver rhoeas*, *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Sinapis arvensis*, *Solanum nigrum*, *Stellaria media*, *Thlaspi arvense*, *Viola arvensis* and *Veronica persica* were collected from 784 fields in South-West Poland. These fields were cultivated through many years, usually in monoculture of maize, sugar beet and cereals (mainly winter wheat) and intensive chemical weed control by herbicides was used.

Resistance of weed biotypes were diagnosed by biological tests (evaluation of phytotoxicity, measurement of fresh and dry plant weight and calculating of resistance index) and by fluorescence method (measurement of leaves fluorescence).

Based on the both methods resistant biotypes of weeds were identified. Tested weeds were resistant mainly to derivative of triazine (atrazine, simazine, metamilon, prometryne, cyanazine and metribuzine) and to derivative of phenylurea (chlortoluron, isoproturon and linuron), lenacil, chloridazone and bentazone. Resistant biotypes to derivative of carbamate acid (phenmedipham and desmedipham) were not detected.

Tested weeds showed also cross-resistance between triazines (for example: atrazine – simazine, atrazine – metamilon) and others herbicides from group of photosynthesis inhibitors (atrazine – lenacil, linuron – chlortoluron, atrazine – chloridazone).

Several samples of *Amaranthus retroflexus*, *Centaurea cyanus*, *Chenopodium album* and *Echinochloa crus-galli* showed multi resistance to atrazine and derivative of sulfonyleurea (inhibitors of ALS), such as: chlorsulfuron, nicosulfuron and rimsulfuron.

In this work the methods for resistance identification (biological test and fluorescence measurement) were checked and compared.

Moreover distribution of resistant biotypes of weeds on fields of South-West Poland was evaluated.

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

W serii wydawniczej IUNG „**Monografie i Rozprawy Naukowe**” publikowane są recenzowane prace o charakterze monografii i oryginalne rozprawy naukowe (prace habilitacyjne) z zakresu agronomii i kształtowania środowiska rolniczego.

Wydruk tekstu do recenzji czcionką 11 p., z odstępem 1,5-wierszowym.

Przygotowanie do druku:

- tekst i tabele w programie Word, wersja 6.0 lub wyższa
- czcionka – Times New Roman
- układ pracy: spis treści, wstęp, metodyka, omówienie wyników i dyskusja, wnioski lub podsumowanie, literatura, streszczenie
- objaśnienia tabel, podpisy i opisy do rysunków oraz streszczenie pracy wraz ze słowami kluczowymi w językach polskim i angielskim

tekst

- czcionka – 11 p. (spis pozycji literatury i streszczenie angielskie – 9 p.)
- wcięcie akapitowe – 0,5 cm

tabele

- podział na wiersze i kolumny (z funkcji tworzenia tabel)
- szerokość dokładnie 12,5 cm (tabele w pionie) lub 18,5 cm (tabele w poziomie)
- czcionka 9 p., pojedyncze odstępy międzywierszowe
- umieszczone w oddzielnych plikach

rysunki

- czarno-białe
- wykresy w programie Word lub Excel
- wymiary w zakresie 12,5 cm × 18,5 cm
- dołączony wydruk w odpowiednich wymiarach, bardzo dobrej jakości, na białym papierze lub na folii
- w podpisach czcionka 9 p.
- na dyskietce w oddzielnych plikach

jednostki miary

- system SI
- jednostki zapisywać potęgowo (np. $t \times ha^{-1}$)

literatura

- spis literatury w układzie alfabetycznym wg nazwisk autorów, w kolejności: nazwisko (pismo rozstrzelone), pierwsza litera imienia, tytuł pracy, miejsce publikacji: tytuł wydawnictwa (wg ogólnie przyjętych skrótów tytułów czasopism), rok, numer (pismo pogrubione), strony
- cytowanie w tekście – jako numer pozycji ze spisu literatury (w nawiasach okrągłych) lub dodatkowo z nazwiskiem autora (pismo rozstrzelone).

Pracę do recenzji należy składać w 2 egzemplarzach. Po recenzji oryginalny egzemplarz recenzowany i ostateczną wersję pracy, uwzględniającą uwagi recenzenta i redaktora, składać do Redakcji w 1 egzemplarzu i na dyskietce (lub przesłać e-mailem) na adres:

Dział Upowszechniania i Wydawnictw
IUNG
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
e-mail: imarcinkowska@iung.pulawy.pl

W serii wydawniczej IUNG „**Monografie i Rozprawy Naukowe**” ukazały się następujące pozycje:

1. Adam Harasim – *Kompleksowa ocena płodozmianów z różnym udziałem roślin zbożowych i okopowych*. Puławy, 2002.
2. Stanisław Wróbel – *Określenie potrzeb nawożenia buraka cukrowego mikroelementami*. Puławy, 2002.
3. Janusz Podleśny – *Studia nad oddziaływaniem światła laserowego na nasiona, wzrost i rozwój roślin oraz plonowanie łubinu białego (*Lupinus albus* L.)*. Puławy, 2002.
4. Czesław Józefaciuk, Anna Józefaciuk, Eugeniusz Nowocień, Rafał Wawer – *Przeciwerozyjne zagospodarowanie zlewni wyżynnej potoku Grodarz z uwzględnieniem ograniczania występowania powodzi*. Puławy, 2002.
5. Jerzy Księżak – *Dynamika gromadzenia składników pokarmowych w organach roślin tradycyjnych i samokończących odmian bobiku w okresie od kwitnienia do dojrzałości pełnej*. Puławy, 2002.
6. Franciszek Pistelok – *Analiza zależności pomiędzy zanieczyszczeniem ze źródeł komunalnych a jakością powierzchniowych wód płynących na obszarach silnie zurbanizowanych na przykładzie zlewni Górnej Wisły*. Puławy, 2002.
7. Ewa Stanisławska-Głubiak – *Analiza wybranych czynników determinujących efekty dolistnego nawożenia molibdenem w uprawie rzepaku ozimego*. Puławy, 2003.
8. Kazimierz Noworolnik – *Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na plonowanie jęczmienia jarego w różnych warunkach siedliska*. Puławy, 2003.
9. Teresa Doroszevska – *Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka (PVY)*. Puławy, 2004.
10. Eugeniusz K. Chyłek – *Uwarunkowania procesu modernizacji rolnictwa i obszarów wiejskich w Polsce*. Puławy, 2004.
11. Zbigniew Samoń – *Studia nad metodami energooszczędnego suszenia chmielu*. Puławy, 2004.
12. Ryszard Weber – *Zmienność plonowania odmian pszenicy ozimej w zależności od przedplonu i sposobu uprawy roli*. Puławy, 2004.
13. Janusz Igras – *Zawartość składników mineralnych w wodach drenarskich z użytków rolnych w Polsce*. Puławy, 2004.