

**Mariusz Kucharski, Katarzyna Marczevska-Kolasa, Henryka Rola,
Krzysztof Domaradzki**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

ODPORNOŚĆ CHWASTÓW NA HERBICYDY W ŚWIETLE BADAŃ IUNG-PIB W LATACH 1999–2010*

Wstęp

Herbicydy stanowią trwały element w technologii uprawy roślin. 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 zjawiska selekcji i nagromadzenia się w siedlisku biotypów chwastów odpornych na jeden lub kilka herbicydów w obrębie gatunku uznawanego dotychczas za wrażliwy (4, 5, 20, 30, 35). 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 (6). W warunkach naturalnych biotypy odporne stanowią znikomy odsetek w populacji. Po aplikacji herbicydu większość osobników wrażliwych ginie, a 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 (7).

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 wrażliwa dotychczas dzika marchew (*Daucus carota* L.) przestała reagować na tę substancję (36). Jak wynika z licznych publikacji liczba biotypów wykazujących odporność na herbicydy z różnych grup chemicznych wzrasta (9, 22, 25, 38). Według najnowszych badań, prowadzonych przez różne ośrodki naukowe na świecie (9), dotychczas zidentyfikowano 200 gatunków (365 biotypów) chwastów odpornych na różne substancje aktywne herbicydów. Wśród nich 115 to chwasty dwuliścienne, a 85 jednoliścienne. Biotypy odporne zidentyfikowano na ponad 460 tysiącach pól uprawnych o łącznej powierzchni kilku milionów hektarów w ponad 40 krajach. Najliczniejszą grupę stanowią gatunki odporne na inhibitory ALS (113 biotypów) oraz na inhibitory fotosyntezy na poziomie fotosystemu II (PS II) – 94 biotypy. Inhibitory syntetazy

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.6 w programie wieloletnim IUNG - PIB

acetylomleczanowej (ALS) to grupa herbicydów, które uniemożliwiają biosyntezę aminokwasów o łańcuchach rozgałęzionych, takich jak: walina, leucyna i izoleucyna, poprzez blokowanie działania enzymu ALS. Wynikiem tego jest silne zahamowanie wzrostu korzeni oraz części nadziemnych i w efekcie obumieranie roślin.

Inhibitory fotosyntezy to grupa substancji, które zakłócają proces fotosyntezy w fazie jasnej, na poziomie fotosystemu II lub I. Herbicydy należące do tej grupy blokują swobodny przepływ elektronów przez fotosystem II w wyniku czego dochodzi do rozpadu chlorofilu i karotenoidów. Pierwszym objawem po ich zastosowaniu są chlorozy liści, pojawiające się już po kilku dniach od zastosowania herbicydu.

Mechanizmy powstawania odporności chwastów na herbicydy nie są proste i jeszcze nie w pełni poznane. Jest to problem, nad którym pracuje wielu naukowców na świecie. Często różnice pomiędzy biotypami odpornymi i wrażliwymi na herbicydy nie są widoczne, a reakcja rośliny na zastosowaną substancję może wynikać z różnic fizjologicznych lub genetycznych danej populacji. Badania zmian morfologiczno-anatomicznych oraz fizjologiczno-biochemicznych zachodzących u wrażliwych i odpornych biotypów wykazują, że zmiana miejsca działania i przyspieszony metabolizm substancji aktywnej to dwa najczęściej spotykane mechanizmy powstawania odporności.

Problem odporności chwastów na herbicydy inhibitory ALS oraz inhibitory fotosyntezy PS II dotyczy obecnie także Polski (12, 25). 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 uprawie kukurydzy oraz w sadach (15, 27). Na opisywanych terenach po wielu latach stosowania tych związków zaobserwowano występowanie *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na herbicydy zawierające takie substancje aktywne, jak: atrazyna, symazyna, cyjanazyna i prometryna. Zjawisko odporności różnych biotypów chwastów narasta i obejmuje nowe grupy herbicydów, do niedawna uważanych za skuteczne w walce z zachwaszczeniem (3, 10, 13, 14, 31).

Na podstawie badań prowadzonych przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy (IUNG-PIB) już w latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia stwierdzono na terenie Dolnego Śląska występowanie biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na herbicydy triazynowe (27). W 2001 roku pojawiły się również pierwsze informacje o występowaniu na tym terenie biotypów *Apera spica-venti* i *Centaurea cyanus* odpornych na chlorosulfuron – substancję z grupy pochodnych sulfonylomocznika (25). Dzięki uzyskanym dotacjom w postaci finansowania projektów badawczych w Zakładzie Herbologii i Techniki Uprawy Roli IUNG-PIB od końca lat dziewięćdziesiątych wykonano szereg badań nad identyfikacją chwastów odpornych na herbicydy z różnych grup chemicznych oraz opracowano nowe metody biochemiczne umożliwiające identyfikację chwastów odpornych.

Metodyka badań

Badania prowadzone w latach 1999–2010 obejmowały pola uprawne położone na terenie województw dolnośląskiego i opolskiego. W sumie z blisko 900 pól (szacowana powierzchnia około 15 tys. hektarów) pobrano materiał roślinny i nasienny różnych gatunków chwastów w celu identyfikacji odporności (tab. 1).

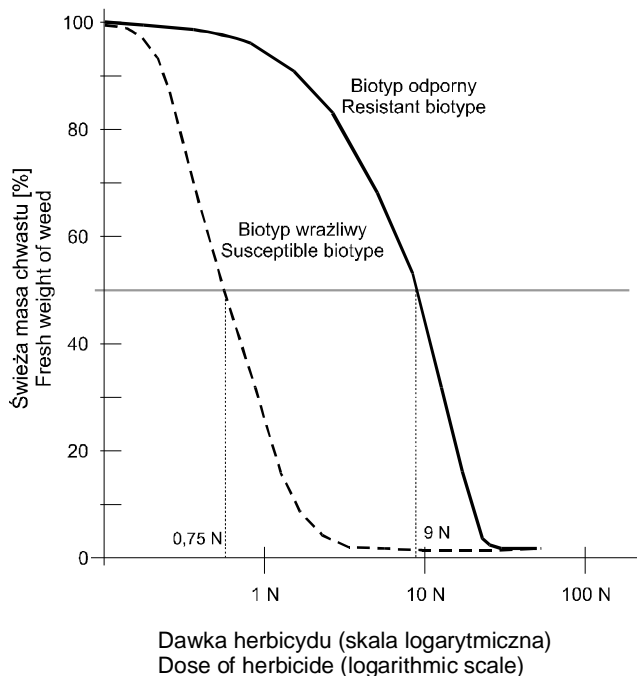
Tabela 1

Wykaz gatunków chwastów, których próbki pobrano do analiz

Skrót	Nazwa łacińska	Nazwa polska
AETCY	<i>Aethusa cynapium</i> L.	blekot pospolity
ANTAR	<i>Anthemis arvensis</i> L.	rumian polny
AMARE	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	szarłat szorstki
APESV	<i>Apera spica-venti</i>	miotła zbożowa
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.	bodziszek 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

Na plantacjach tych rolnicy przez ostatnie 10 lat uprawiali w monokulturze kukurydę, burak cukrowy i zboża. Z monitorowanych pól pobierano nasiona i liście chwastów, które stanowiły materiał do badania odporności na substancje aktywne herbicydów z grupy:

- inhibitorów fotosyntezy na poziomie fotosystemu II: atrazyna, symazyna, metamitron, chlorotoluron, izoproturon, metrybuzyna, linuron, bentazon, lenacil, fenmedifam, desmedifam;



Rys. 1. Wyznaczanie ED_{50} dla odpornych i wrażliwych na herbicydy biotypów chwastów
 Źródło: badania własne.

- inhibitorów syntetazy acetylmleczanowej (ALS), takich jak: chlorosulfuron, tribenuron metylowy i tifensulfuron metylowy.

W dobie nasilenia zjawiska odporności chwastów na herbicydy szczególną uwagę zwraca się na poszukiwanie prostych i szybkich metod identyfikacji ekotypów odpornych. Najbardziej popularną i uniwersalną metodą jest test biologiczny (24). Pozwala on oszacować reakcję roślin na herbicydy z różnych grup chemicznych i o różnym mechanizmie działania. Umożliwia on w stosunkowo krótkim czasie oszacować reakcję roślin na różne substancje aktywne herbicydów stosowane w dawkach kilkakrotnie wyższych od zalecanych w praktyce. Dla określenia stopnia odporności na herbicydy wyznaczono wskaźnik ED_{50} , który określa taką dawkę herbicydu, pod wpływem której następuje redukcja świeżej masy roślin o 50%, w porównaniu z roślinami kontrolnymi, których nie poddawano działaniu środka. ED_{50} wyznaczono graficznie, przyjmując wartości średnie z trzech powtórzeń (12).

Iloraz ED_{50} dla biotypów odpornych i wrażliwych na daną substancję wyznacza tzw. indeks odporności (Resistance Index – RI). Na jego podstawie wyróżniamy trzy poziomy odporności: poziom niski ($2 < RI < 4$), poziom średni ($4 < RI < 8$) oraz poziom wysoki ($RI > 8$). Opisaną metodę przyjęto jako referencyjną.

W celu potwierdzenia odporności wykazanej testem biologicznym opracowano w Zakładzie Herbologii i Techniki Uprawy Roli we Wrocławiu metody biochemiczne

pozwalające w szybki sposób określić zmiany zachodzące w metabolizmie rośliny po zastosowaniu herbicydu o określonym mechanizmie działania i świadczących o jej odporności lub wrażliwości na zastosowaną substancję.

Identyfikacja odporności chwastów na inhibitory fotosyntezy PS II

Spektrofotometria fluorescencyjna

W przypadku odporności chwastów na inhibitory fotosyntezy na poziomie fotosytemu II wykorzystano pomiary fluorescencji liści roślin odpornych i wrażliwych biotypów chwastów. Metoda ta jest stosunkowo szybka i prosta – nie wymaga specjalnej obróbki materiału roślinnego. Do badań wykorzystuje się bowiem całe liście chwastów wcześniej moczone w roztworze substancji aktywnej herbicydu i w wodzie (obiekt kontrolny). Przygotowanie materiału oraz pomiary wykonane były zgodnie z metodą opisaną przez K u c h a r s k i e g o (12). Wynikiem analizy jest krzywa zmian fluorescencji w czasie.

Identyfikacja odporności chwastów na inhibitory ALS

Chromatografia gazowa

Metoda ta pozwala na określenie wpływu inhibitorów ALS na zawartość wolnych aminokwasów w liściach roślin odpornych i wrażliwych na herbicydy z tej grupy. Metoda polega na ekstrakcji próbek roślinnych wodą. Ekstrakt po odwirowaniu poddawany jest derywatywacji w celu otrzymania lotnych pochodnych oznaczanych aminokwasów. Otrzymane związki oczyszcza się i oznacza na chromatografii gazowej z detekcją na spektrometrze masowym (GC/MS). Taka technika pozwala na rozdzielanie mieszaniny aminokwasów oraz ich ilościowe oznaczenie. Ponadto metoda ta odznacza się wysoką czułością i pozwala uzyskać następujące limity wykrywalności dla aminokwasów: leucyna 0,5 ng, izoleucyna 1 ng, walina 0,25 ng.

Kalorymetria izotermiczna

Metoda kalorymetrii izotermicznej opracowana została w Instytucie Fizjologii Roślin Polskiej Akademii Nauk w Krakowie (32). Pozwala ona ocenić bezpośredni wpływ zastosowanej substancji na ogólny metabolizm rośliny poprzez pomiar ilości wydzielanego ciepła przez liście odpornych i wrażliwych biotypów chwastów opryskanych herbicydem – inhibitorem ALS. Pomiary aktywności metabolicznej wykonano na kalorymetrze izotermicznym w 21°C. Długość blaszki liściowej pobieranej do pomiarów wynosiła każdorazowo 6 cm. Przed wykonaniem pomiaru fragment liścia ważono, a następnie umieszczano w ampułach pomiarowych, zanurzając liście w 1 ml wody destylowanej. Pomiary mocy cieplnej prowadzono przez 30 minut, w 9 powtórzeniach dla każdego obiektu. Wynikiem pomiaru jest ilość energii cieplnej wyrażonej w $\text{mJ} \cdot \text{g}^{-1}$.

Spektrofotometria

Do pomiarów aktywności enzymu syntetazy acetylomleczanowej (ALS) wykorzystano metodę kolorymetryczną. Materiałem do badań były opryskane herbicydem najmłodsze liście odpornych i wrażliwych na inhibitory ALS biotypów chwastów. Po dodatkowym opryskaniu roślin kwasem 1,1-cyklopropanodikarbokstylowym (CPCA) następowała akumulacja acetomleczanu (produktu reakcji katalizowanej przez ALS), który ogrzewany w środowisku kwaśnym ulegał dekarboksylacji do acetoiny. Do pomiaru stężenia acetoiny wykorzystano odpowiednio zaadaptowany test Westerfelda, pierwotnie mający służyć oznaczaniu stężenia tego związku we krwi (37). Dodanie kreatyny i α -naftolu do roztworu zawierającego acetoinę powodowało formowanie się trwałego kompleksu barwnego. Po oczyszczeniu i sklarowaniu roztworu mierzono absorbancję przy długości fali 525 nm. Wyniki porównywano z roślinami kontrolnymi nieopryskanymi herbicydem, a tylko samym CPCA.

Wyniki

Odporność chwastów na inhibitory fotosyntezy PS II

Spośród badanych gatunków chwastów zebranych z pól południowo-zachodniej Polski (Dolny Śląsk i Opolszczyzna) dominowały biotypy *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-gall*. Osobniki tych gatunków wykazywały odporność głównie na herbicydy z grupy triazyn: atrazynę, symazynę i metrybuzynę, a w przypadku *Chenopodium album* i *Amaranthus retroflexus* również na metamitron. Odporność wśród powyższych gatunków stwierdzono na 15-54% badanych plantacji, a liczebność osobników odpornych w zbiorowiskach 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 nieprzekraczającym 50% w zbiorowisku. 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 zjawisko odporności stwierdzono na pojedynczych polach, w nasileniu do kilkunastu procent w zbiorowisku.

Oprócz odporności prostej, na pojedyncze substancje aktywne herbicydów, wśród badanych gatunków chwastów 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 – metamitron), następnie pomiędzy triazynami i innymi substancjami aktywnymi z grupy inhibitorów fotosyntezy (np. atrazyna – linuron, atrazyna – lenacil). Zidentyfikowano również pojedyncze przypadki wy-

stępowania odporności na substancje z innych grup chemicznych, np. w grupie pochodnych mocznika (linuron – chlorotoluron, izoproturon – chlorotoluron);(tab. 2).

Występowanie zjawiska odporności krzyżowej potwierdzają również w swoich pracach inni autorzy (8, 21). Głównie spotkać można przypadki odporności krzyżowej 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 (2, 22, 29, 34). Występowanie tego zjawiska nie musi być spowodowane tym, że na danym polu stosowano wszystkie herbicydy, na które zidentyfikowano odporność. T o t h C s a n t a v e r i i n. (33) zidentyfikowali biotypy *Ambrosia artemisiifolia* odporne na atrazynę (Węgry 1993). Po dziesięciu latach na tych samych polach przeprowadzono ponowne badania odporności i stwierdzono, że osobniki tego gatunku wykazują odporność nie tylko na atrazynę, ale również na inne substancje z grupy triazyn, tj. metrybuzyna, prometryna, terbutryna i terbutyloazyna, pomimo że nie były one stosowane na tych polach.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wśród biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli* oraz *Centaurea cyanus* stwierdzono również występowanie odporności wielokrotnej na dwie grupy herbicydów – inhibitorów fotosyntezy (atrazyna) i inhibitorów ALS (chlorosulfuron, nikosulfuron,

Tabela 2

Oporność krzyżowa w grupie herbicydów – inhibitorów fotosyntezy PSII

Gatunek chwastu	Odporność krzyżowa	Liczba pól
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	atrazine – simazine	11
	atrazine – prometryne	3
	atrazine – metribuzine	1
	atrazine – metamitron	9
	atrazine – simazine - metamitron	4
	atrazine – chloridazone	6
	atrazine – linuron	3
	atrazine – bentazone	2
<i>Centaurea cyanus</i> L.	atrazine – simazine	2
	atrazine – metamitron	1
	atrazine – bentazone	1
<i>Chenopodium album</i> L.	atrazine – simazine	13
	atrazine – metamitron	17
	atrazine – prometryne	3
	atrazine – simazine – metamitron	5
	atrazine – linuron	3
	atrazine – chloridazone	7
	atrazine – lenacyl	1
	metamitron – chloridazone	5
	linuron – chlortoluron	3
	isoproturon – chlortoluron	1
	chloridazone – lenacyl	2

Źródło: badania własne.

rimsulfuron, jodosulfuron i foramsulfuron). Odporność wielokrotną zidentyfikowano tylko jedną metodą, tj. testem biologicznym. Dla sprawdzenia uzyskanych wyników z tych samych pól po dwóch latach ponownie pobrano materiał roślinny tych samych gatunków chwastów i poddano analizie metodą testu biologicznego. Przeprowadzone testy potwierdziły występowanie odporności wielokrotnej na inhibitory fotosyntezy i ALS. Opis przykładów występowania zjawiska odporności wielokrotnej na różne substancje aktywne herbicydów możemy odnaleźć w źródłach literaturowych (1, 8, 16).

Odporność chwastów na inhibitory ALS

W przypadku odporności chwastów na inhibitory ALS spośród wszystkich przebadanych gatunków chwastów wyselekcjonowano dwa, które wykazują odporność na herbicydy sulfonilomocznikowe stosowane w zbożach, a są to *Apera spica-venti* i *Centaurea cyanus* (17, 18). Na kilku polach uprawnych objętych monitoringiem stwierdzono obecność biotypów *A. spica-venti* odpornych na chlorosulfuron oraz mieszaninę chlorosulfuronu z flupyrsulfuronem metylowym. Biotypy miotły zbożowej z pól Dolnego Śląska charakteryzowały się wysokim stopniem odporności. Niektóre odporne na chlorosulfuron biotypy do osiągnięcia tego samego poziomu zniszczenia wymagały ponad 100-krotnie wyższej dawki chlorosulfuronu i 66-krotnie wyższej dawki jego mieszaniny z flupyrsulfuronem metylowym niż biotypy wrażliwe (tab. 3).

Tabela 3

Wyznaczanie indeksu odporności (resistance index RI) dla roślin *Apera spica-venti*

Obiekt	Pole	ED ₅₀		Indeks odporności
		ilość substancji czynnej (g)		
		S	R	R/S
Chlorosulfuron	Zagórzycze	9	309	34,3
	Prochowice	9	1276	141,8
	Laskowice	9	1034	114,9
	Wojśław	8	311	38,7
Chlorosulfuron + flupyrsulfuron metylowy	Zagórzycze	6	123	20,5
	Prochowice	7	248	35,4
	Laskowice	7	462	66,0
	Wojśław	6	134	22,3

S – biotyp wrażliwy

R – biotyp odporny

Źródło: badania własne.

W przypadku odporności *C. cyanus* problem jest nieco mniejszy, ale i tutaj stwierdzono odporność na chlorosulfuron oraz jego mieszaninę z tifensulfuronem metylowym. Bardzo niepokojący jest fakt, że tribenuron metylowy, który w normalnych warunkach niszczy ten gatunek chwastu, na badanych polach w średnim stopniu ograniczał wzrost *C. cyanus*. Nawet 90% przebadanych biotypów wykazywało średnią

wrażliwość na tę substancję. Może to świadczyć o narastającym problemie z odpornością tego gatunku chwastu na herbicydy sulfonilomocznikowe.

Od 2008 roku w Zakładzie Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu podjęto badania w ramach projektu MNiSW (N N310 300 134) nad opracowaniem nowych metod identyfikacji odporności chwastów na herbicydy sulfonilomocznikowe. Metody te mają umożliwić ilościowy i jakościowy pomiar parametrów biochemicznych, które ulegają zmianom pod wpływem działania tych środków. Wybór metody chromatografii gazowej (w pomiarach zawartości wolnych aminokwasów) oraz spektrofotometrii (w aktywności enzymu ALS) wynikał z mechanizmu działania środków sulfonilomocznikowych. Metoda oznaczania aminokwasów z wykorzystaniem chromatografu gazowego ze spektrometrem masowym okazała się wystarczająco wydajna i szybka, aby możliwe było ilościowe i jakościowe oznaczenie zawartości aminokwasów w materiale roślinnym. Analiza zawartości wolnych aminokwasów (waliny, leucyny i izoleucyny) u odpornych na herbicydy sulfonilomocznikowe biotypów *Apera spica-venti* i *Centaurea cyanus* wykazała wzrost ich zawartości w porównaniu z roślinami kontrolnymi oraz z biotypami wrażliwymi (19). Taki wynik świadczyć może o przydatności tej metody do rozróżniania biotypów wrażliwych i odpornych na te związki.

Na obecnym etapie badań nie potwierdzono jeszcze przydatności metody spektrofotometrii w ocenie aktywności enzymu ALS. Brak powtarzalności uzyskanych wyników, jak również słaba zbieżność wyników uzyskanych tą metodą w porównaniu z klasycznym biotestem powoduje, że nie można jej polecić do identyfikacji odporności na herbicydy sulfonilomocznikowe.

Wyniki pomiarów ilości wydzielanego ciepła przez odporne i wrażliwe biotypy chwastów wskazują na możliwość zastosowania również metody kalorymetrii izotermicznej w badaniach odporności na herbicydy (19). Jak podaje S t o k ł o s a i in. (32) metoda ta znalazła już zastosowanie w badaniach odporności *Avena fatua* na inhibitory ACCazy. Prowadzone we współpracy z Instytutem Fizjologii Roślin Polskiej Akademii Nauk w Krakowie badania wskazały, że metoda ta może być przydatna w badaniach odporności jedno- i dwuliściennych gatunków chwastów na herbicydy z różnych grup chemicznych

Podsumowanie

Brak reakcji lub niedostateczne działanie niektórych herbicydów spowodowane odpornością chwastów wymusza na rolnikach zmiany w dotychczasowym systemie uprawy i ochrony plantacji. Biotypy odporne, które nie zostały zniszczone, stają się konkurencyjne względem rośliny uprawnej, co prowadzi do zmniejszenia plonu, jak również pogorszenia jego jakości. Zdarzają się przypadki, kiedy rolnik widząc słabe działanie herbicydu podwyższa jego dawkę. Takie postępowanie nie eliminuje problemu zachwaszczenia, a może powodować zagrożenie dla człowieka i środowiska poprzez pozostałości substancji aktywnej w plonie, zanieczyszczenie gleby oraz wód powierzchniowych i gruntowych (11, 28).

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 odpornych można skutecznie ograniczać, między innymi, poprzez odpowiedni dobór herbicydów i ich mieszanin. W Zakładzie Herbologii i Technik Uprawy Roli IUNG-PIB prowadzone są badania, których celem jest opracowanie systemów chemicznej regulacji zachwaszczenia plantacji, na których występują chwasty odporne (26). 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, które skutecznie zwalczają gatunki odporne i nie są fitotoksyczne dla rośliny uprawnej. Na większości analizowanych pól stwierdzono występowanie odporności prostej i krzyżowej. W takich sytuacjach szeroki asortyment preparatów zalecany do zwalczania chwastów w głównych uprawach umożliwia 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, można stwierdzić, że w ostatnich kilku latach nie obserwowano na obszarze objętym badaniami wyraźnych zmian ilościowych w występowaniu zjawiska odporności chwastów na ten herbicyd. 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 odpornych. Pomimo tego w zbiorowisku zachwaszczenia wtórnego pod koniec wegetacji kukurydzy nadal znaczący odsetek stanowiły osobniki odporne. Świadczy to o tym, że krótkotrwała zmiana asortymentu herbicydów lub ograniczone zmianowanie roślin nie eliminuje problemu odporności.

Obecnie herbicydy zawierające atrazynę zostały 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 pojawianiu się nowych gatunków chwastów odpornych na inne grupy herbicydów, wśród których obecnie 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 (23). Wzrost liczebności biotypów chwastów odpornych na herbicydy wymusza na placówkach naukowych konieczność opracowania nowych,

prostych, szybkich i tanich metod analitycznych umożliwiających identyfikację roślin odpornych. Uzasadnione jest zatem prowadzenie dalszych badań, by uzyskać jednoznaczną odpowiedź o zmianach w procesach biochemicznych zachodzących u odpornych i wrażliwych na zastosowaną substancję biotypów chwastów oraz skutecznie przeciwdziałać rozprzestrzenianiu się tego zjawiska.

Literatura

1. 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.
2. 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.
3. Gawroński S. W.: Biologia i odporność na herbicydy gatunków z rodzaju *Amaranthus*. *Pam. Puł.*, 2002, **129**: 33-38.
4. Gawroński S. W., Sugita M., Sugiura M.: Mutation of *psbA* gene in herbicide resistant populations of *Erigeron canadensis*. *Research in Photosynthesis*, 1992, **17**: 405-407.
5. 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.
6. Gressel J.: Spread and action of herbicide tolerances and uses in crop breeding. *Proc. British Crop Protection Conference – Weeds*. Brighton, UK, 1983, 608-615.
7. Gressel J., Segel L. A.: Herbicide resistance in plants (eds. LeBaron M. M., Gressel J.). John Wiley & Sons, NY, USA, 1982, 325-334.
8. 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.
9. Heap I. M.: International survey of herbicide-resistant weeds. Internet online document, 2011, <http://www.weedscience.com>. – 27.09.2011
10. Kapeluszyński 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.
11. Kucharski M.: Pozostałości herbicydów w wodach powierzchniowych i gruntowych na terenach rolniczych. *Pam. Puł.*, 2004, **138**: 89-97.
12. Kucharski M.: Odporność chwastów na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII na polach uprawnych południowo-zachodniej Polski. *Monografie i Rozprawy Naukowe*, 2005, **14**: ss. 103.
13. 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.
14. 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.
15. Lipeccki J.: *Capsella bursa-pastoris* (L) Med. – another weed resistant to simazine? *Acta Soc. Botanic. Pol.*, 1988, **1**: 187-189.
16. 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.
17. Marczevska K., Sadowski J., Rola H.: Changes in branched chain amino acids content in leaves of *Apera spica-venti* biotypes resistant and susceptible to chlorsulfuron. *J. Plant Prot. Res.*, 2006, **46(2)**: 191-198.

18. Marczevska-Kolasa K., Skoczowski A., Kucharski M.: The gas chromatography and isothermal calorimetry as the methods to estimating resistance of *Centaurea cyanus* to chlorsulfuron. Proceedings 15th Symposium, 12-15 July, Kaposvar, Węgry, 2010, 40.
19. Marczevska-Kolasa K., Skoczowski A., Kucharski M., Sumińska J., Sadowski J.: Biochemiczne metody identyfikacji odporności chwastów na herbicydy.: Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 2011, **51(3)**: (w druku).
20. Mikulka J., Chodova D.: Problems of herbicide-resistant Leeds. Agrochemia, 1988, **28**: 207-212.
21. 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.
22. Mikulka J., Chodova D.: The origination of weed resistance to herbicides: present state and prospects in Czech Republic. Pam. Puł., 2002, **129**: 25-31.
23. Praczyk T., Skrzyżczak G.: Herbicydy. Wyd. PWRiL Poznań, 2004, ss. 274.
24. Rola H., Kucharski M., Marczevska K., Gawroński S., Ciarka E., Szalacha E.: Metody identyfikacji biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II. Wyd. IUNG - PIB. Puławy, 2006, ss. 17.
25. Rola H., Marczevska K.: Biotypy chwastów odporne na chlorosulfuron w rejonie Wrocławia. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 2002, **42(2)**: 575-577.
26. Rola H., Rola J., Kucharski M., Marczevska K.: Zabezpieczenie roślin uprawnych przed chwastami odpornymi na herbicydy. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 2004, **44(1)**: 339-346.
27. Rola J., Rola H., Kucharczyk A.: Problem odporności chwastów na herbicydy w warunkach Polski. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 1989, **29(1)**: 57-73.
28. Sadowski J., Kucharski M., Rola H.: Pozostałości herbicydów w środowisku glebowo-wodnym. Biul. Nauk. UWM, 2001, **12**: 23-32.
29. Solyosi P., Lehoczki E.: Characterization of a triple (atrazine-pyrazon-pyridate) resistant biotype of common lambsquarters (*Chenopodium album* L.). J. Plant Physiol., 1989, **134**: 685-690.
30. Solyosi 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.
31. Stacheci S., Adamczewski K.: *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* – występowanie i reakcja na herbicydy o różnym mechanizmie działania. Pam. Puł., 2002, **129**: 247-252.
32. Stokłosa A., Janeczko A., Skoczowski A., Kieć J.: Isothermal calorimetry as a tool for estimating resistance of wild oat (*Avena fatua* L.) to aryloxyphenoxypropionate herbicides. Thermochimica Acta, 2006, **411**: 203-206.
33. 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 trazines in Hungary. Proc. 4th International Weed Science Congress, Durban, Republic of South Africa, 2004, 52-53.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. Westerfeld W.W.: Colorimetric determination of blood action. J. Biol. Chem., 1945, **161**: 495-502.
38. Woźnica Z., Adamczewski K., Manthey F.A.: Biotypy chwastów odpornych na herbicydy. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Rośl., 1996, **36(1)**: 96-101.

Adres do korespondencji:

*dr hab. Mariusz Kucharski, prof. nadzw.
Zakład Herbologii i Techniki Uprawy Roli
IUNG-PIB
ul. Orzechowa 61
50-540 Wrocław
tel.: (71) 363 87 07 wew. 105
e-mail: m.kucharski@iung.wroclaw.pl*

