

HENRYKA ROLA, MARIUSZ KUCHARSKI

Zakład Ekologii i Zwalczania Chwastów we Wrocławiu
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach

ZASTOSOWANIE RÓŻNYCH METOD IDENTYFIKACJI ODPORNOŚCI CHWASTÓW NA HERBICYDY NA PRZYKŁADZIE TAKSONÓW WYSTĘPUJĄCYCH W KUKURYDZY

Use of weed resistance identification methods based on weed species occurring in maize crop

ABSTRAKT: Celem prowadzonych badań była identyfikacja odporności biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* na atrazynę.

Badania prowadzono w latach 1999–2004. Próbkę roślin (liście) i nasiona chwastów zebrano z 623 pól Dolnego Śląska, gdzie uprawiano kukurydzę w monokulturze lub w ograniczonym zmianowaniu ze zbożami i burakiem cukrowym. W badaniach wykorzystano metody: biotestu, pomiaru uorescencji liści i molekularną – technikę PCR, które potwierdziły występowanie chwastów odpornych.

Na blisko 50% plantacji kukurydzy zidentyfikowano biotypy *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* odporne na atrazynę. Występowanie odpornych osobników *Echinochloa crus-galli* stwierdzono na około 14% badanych pól kukurydzy.

słowa kluczowe: key words:

odporność – resistance, fotosystem II – photosystem II, identyfikacja – identification, triazyny – triazines, kukurydza – maize

WSTĘP

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 (9).

W warunkach naturalnych biotypy odporne występują w bardzo niewielkim nasileniu. Po aplikacji herbicydu większość osobników wrażliwych ginie, a ta 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 (10).

Chwasty mogą wykazywać odporność tylko na jeden herbicyd, tzw. odporność prostą lub pojedynczą. 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. Liczne prace porównujące właściwości biotypów wrażliwych i odpornych w obrębie tego samego gatunku wskazują, że zmiana miejsca działania herbicydu (ang. modified target site), przyspieszony (wzmoczony) metabolizm substancji aktywnej herbicydu (ang. enhanced detoxification (metabolism)) oraz połączenie obu procesów to najczęściej spotykane mechanizmy odporności (8, 10).

Pojawienie się biotypów odpornych w obrębie gatunku wrażliwego zostało po raz pierwszy stwierdzone w Kanadzie w 1963 roku, gdzie po kilkuletnim stosowaniu 2,4-D dzika marchew (*Daucus carota* L.), wcześniej wrażliwa, przestała reagować na ten herbicyd (30). W przypadku herbicydów z grupy inhibitorów fotosyntezy pierwszym potwierdzonym przypadkiem odporności były rośliny *Senecio vulgaris* L., które przestały być zwalczane przez symazynę (28). Po ponad 30 latach Heap (11) donosił o udokumentowanej odporności w przypadku ponad 210 biotypów chwastów, z których 65 to osobniki odporne na herbicydy triazynowe. Liczba biotypów wykazujących odporność na herbicydy z różnych grup chemicznych ciągle wzrasta. Według najnowszych badań, prowadzonych przez różne ośrodki naukowe na świecie, dotychczas zidentyfikowano 174 gatunki (291 biotypów) chwastów odpornych na różne substancje aktywne herbicydów (12).

W Polsce pierwsze doniesienia o problemach z odpornością chwastów na herbicydy pojawiły się w połowie lat osiemdziesiątych zeszłego wieku. Związki z grupy triazyn stosowane były corocznie w monokulturze kukurydzy i w sadach (7, 15, 26, 27). Na terenach tych po wielu latach rośliny *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli* nie były niszczone przez herbicydy triazynowe zawierające takie substancje aktywne, jak: atrazyna, symazyna, cjanazyna i prometryna. Również w Polsce zjawisko odporności różnych biotypów chwastów narasta i obejmuje nowe grupy herbicydów, do niedawna uważane za skuteczne w walce z zachwaszczeniem (8, 13, 14, 22-24, 29).

Celem badań była identyfikacja (różnymi metodami) oraz określenie liczebności w zbiorowisku (plantacje kukurydzy) wybranych gatunków chwastów (*Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* i *Echinochloa crus-galli*) wykazujących odporność na atrazynę – substancję aktywną herbicydu należącego do grupy inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II.

MATERIAŁ I METODY

W latach 1999–2004 badaniami objęto 623 plantacje kukurydzy na Dolnym Śląsku i Opolszczyźnie. Z pól pobrano materiał roślinny (liście chwastów i nasiona) w celu identyfikacji odporności. W obiektach tych rolnicy uprawiali kukurydzę w monokulturze lub w ciągu ostatnich lat była ona uprawą dominującą (w bardzo ograniczonym zmianowaniu z burakami i zbożami). Do najczęściej stosowanych środków ochrony

roślin należały herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy, zawierające atrazyne (dane uzyskane z wywiadu środowiskowego).

Odporność biotypów wybranych chwastów na herbicydy o mechanizmie działania PSII ustalono metodami: testów biologicznych, pomiaru zmian uorescencji liści i molekularną – PCR.

Metoda testu biologicznego

Test biologiczny został opracowany w Zakładzie Ekologii i Zwalczania Chwastów IUNG i opisany przez Rolę (21). Polega on na identyfikacji biotypów odpornych na podstawie oceny kondycji i masy chwastów po aplikacji różnych dawek herbicydu. Brak reakcji rośliny (dobra kondycja, świeża i sucha masa zbliżona do kontroli) na stosowane dawki herbicydu (zalecana i wielokrotnie wyższa) świadczy o odporności danego biotypu na badany środek.

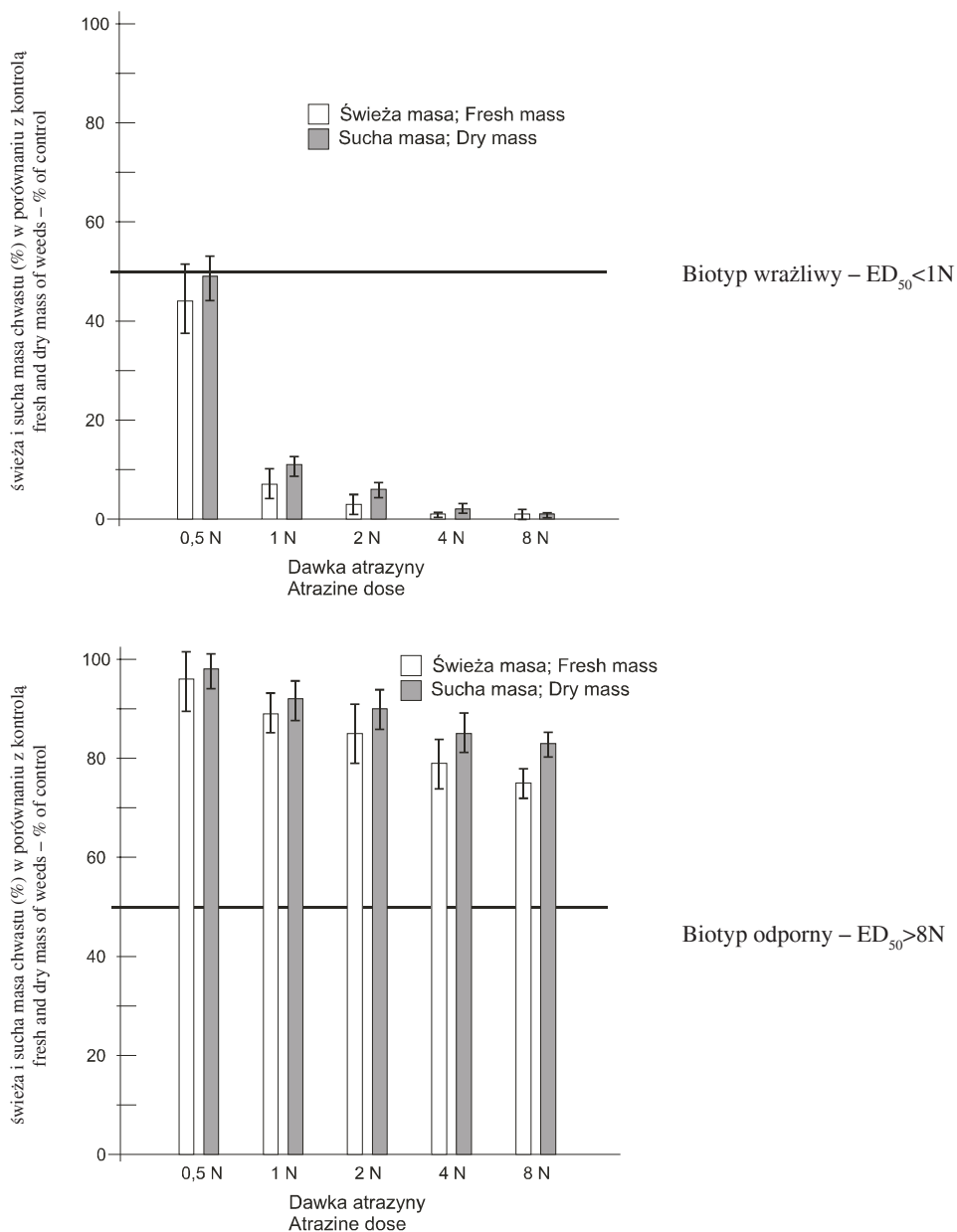
Pobieranie i przygotowanie nasion. Nasiona chwastów zbierano w okresie ich dojrzałości pełnej. Na polach, po przekątnej, wytyczono bloki o powierzchni 100 m² (10 m × 10 m). W obrębie bloku identyfikowano rosnące gatunki chwastów, a następnie z każdej rośliny pobierano całe owocostany. W zależności od wielkości plantacji nasiona chwastów zbierano z 5–10 bloków. Następnie suszono je w temperaturze pokojowej, oczyszczano, znakowano 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 część objętościowa kwasu na 19 części wody.

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. Określono maksymalną pojemność wodną tak przygotowanego substratu.

Przebieg testu. Plastikowe doniczki o pojemności 320 ml napełniano 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 głębokość 2–3 mm (5 nasion w doniczce). Test prowadzono w warunkach kontrolowanych, w szklarni, gdzie utrzymywano temperaturę 25/15 ±3°C (dzień/noc). Pomieszczenie doświetlano lampami sodowymi tak, aby natężenie światła wynosiło 450 ±50 μmol m⁻²s⁻¹ przez 16 godzin w cyklu dobowym.



N – dawka rekomendowana; recommended dose

Pionowe odcinki reprezentują błąd standardowy wartości średniej dla 3 powtórzeń

Vertical bars represent the standard errors of the mean values for 3 replications

Rys. 1. Wpływ atrazyny na świeżą i suchą masę roślin *Chenopodium album*
In uence of atrazine on fresh and dry mass of *Chenopodium album*

Po ustaleniu się wschodów utrzymywano stałą liczbę roślin. Herbicydy stosowano w dawkach stanowiących 0,5-, 1-, 2-, 4-, 8-, 16- i 32-krotność dawki rekomendowanej przez producenta w zabiegach polowych (N). Herbicydy stosowano w fazie 3–4 liści chwastu. 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 i ciśnienie 250 kPa.

Kondycję roślin oceniano 3–4 tygodnie po wykonanym zabiegu, stosując skalę 1–9, gdzie „9” oznacza dobrą kondycję rośliny (brak uszkodzeń), natomiast „1” oznacza całkowite jej zniszczenie. Około 5–6 tygodni po aplikacji herbicydów oznaczono świeżą i suchą masę testowanych roślin. Do oceny działania herbicydów zastosowano wskaźnik ED₅₀ (Effective Dose), tj. określono wielkość dawki herbicydu, po której masa roślin zmniejszyła się o 50% w porównaniu z obiektem kontrolnym. Przykładowy wynik testu biologicznego przedstawiono na rysunku 1.

Doświadczenia testowe wykonywano w trzech powtórzeniach, a uzyskane wyniki porównano z kontrolą (obiekty bez oprysku herbicydami). Podobny przebieg testów biologicznych do oceny odporności różnych biotypów roślin na herbicydy opisują Maertens i in. (16).

Wszystkie konieczne w toku prowadzenia doświadczeń analizy statystyczne wykonywano w programie STATGRAPHICS, w wersji 1.41PL.

Pomiar uorescencji liści

Jedną z metod umożliwiających szybką identyfikację biotypów chwastów odpornych na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII jest pomiar zmian uorescencji ich liści. Pomiar uorescencji to użyteczna metoda analityczna oparta na spektroskopii emisyjnej. Do pomiarów wykorzystuje się spektro uorometr. Wynikiem analizy spektro uorometrycznej jest krzywa charakteryzująca zmiany uorescencji w czasie. Kształt krzywej indukcji uorescencji w liściu może ulec zmianie po dodaniu substancji blokującej transport elektronów (inhibitor fotosyntezy PSII). Widmo emisyjne uorescencji i jej zmiany w czasie mogą być rejestrowane bez potrzeby uszkodzenia materiału badawczego (np. liścia). Technika pomiaru uorescencji chlorofilu jest nieinwazyjna i niedestrukcyjna dla roślin i w ciągu sekund dostarcza informacji o zmianach w przebiegu fotosyntezy. Szybkość i łatwość wykonywania pomiarów umożliwia przebadanie dużych ilości materiału roślinnego z wielu pól uprawnych.

Spśród zastosowanych metod identyfikacji odporności na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII pomiar uorescencji liści umożliwia, oprócz jakościowej, również ilościową analizę odporności w populacji. Pobranie reprezentatywnej liczby roślin z danego pola (w opisywanych badaniach pobierano po 100 roślin), a następnie szybka i stosunkowo tania analiza uorescencji pozwala na ustalenie odporności i ilościowego stosunku pomiędzy osobnikami wrażliwymi i odpornymi na rozpatrywanym obszarze, czyli podanie liczebności biotypów odpornych i wrażliwych w zbiorowisku.

Materiał i jego przygotowanie do analiz. Materiałem do badań były liście chwastów. Z jednego pola (wzdłuż przekątnej) pobierano 100 roślin znajdujących się w fazie umożliwiającej odcięcie 5 młodych, dobrze wykształconych liści.

Próbki roślin przechowywano w lodówce, w woreczkach foliowych lub pojemnikach plastikowych do czasu wykonania analiz, lecz nie dłużej niż 6 dni od momentu zbioru.

Proces przygotowania roztworów i pomiaru uoescencji bazował na metodzie opisanej przez Ducrueta i Gasqueza (4), którą zmodyfikowali De Prado i in. (3), Fraga i Tasende (5) oraz Kucharski i Rola (13).

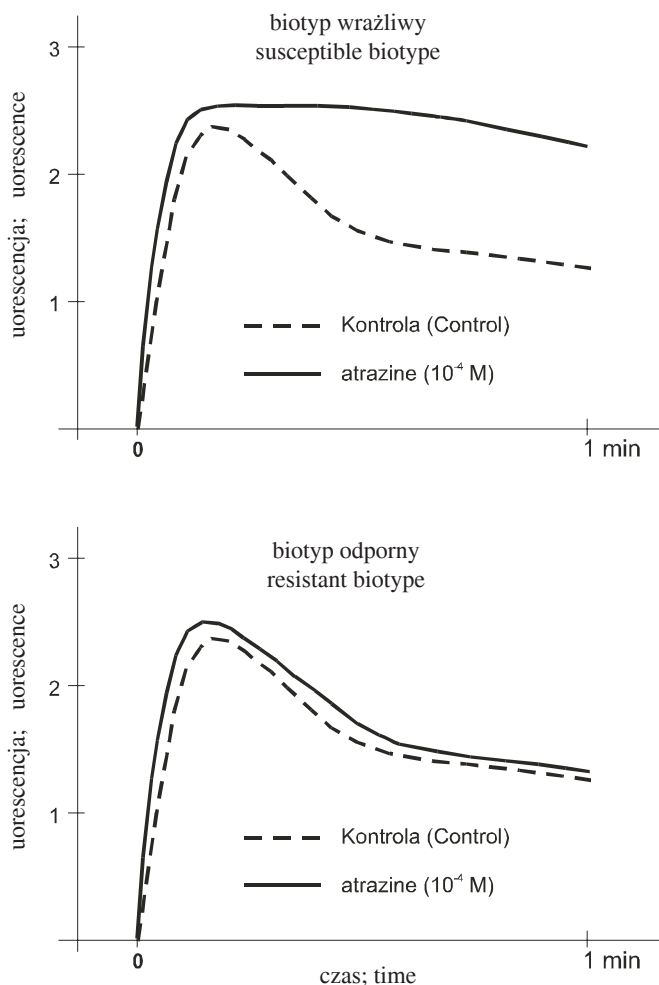
Bezpośrednio przed przystąpieniem do analizy z każdej rośliny odcinano 5 młodych, dobrze wykształconych liści. Trzy z nich moczone (szalki Petriego) w roztworze wodnym atrazyny (stężenie ok. 100 μM), a pozostałe dwa liście – w wodzie destylowanej (kontrola). Wszystkie próbki liści przenoszono do komory klimatycznej ustawionej na temperaturę $22 \pm 0,2^\circ\text{C}$ i oświetlenie o natężeniu $350 \pm 10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Po trzech godzinach wyłączano oświetlenie i przez 1 godzinę próbki przechowywano w ciemności. Po tym czasie liście poddawano analizie. Do wykonania pomiarów wykorzystywano spektrofotometr uoescencyjny, model F-2500 firmy HITACHI, wyposażony w przystawkę do próbek stałych. Ustawiano następujące parametry pomiaru:

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

Każdy liść (moczonej w roztworze substancji aktywnej herbicydu albo w wodzie – kontrola) umieszczano w celi pomiarowej, wykonując pomiar uoescencji. Wynikiem przeprowadzonej analizy była krzywa zmian uoescencji w funkcji czasu.

Interpretacja wyniku analizy. Po otwarciu przysłony spektrofotometru następowwała rejestracja wartości uoescencji. Dla obiektu kontrolnego uoescencja osiąga poziom maksymalny, a następnie jej wartość szybko spada i po pewnym czasie ulega stabilizacji. W próbkach, które wykazują wrażliwość na zastosowaną substancję aktywną herbicydu po osiągnięciu wartości maksymalnej uoescencji nie odnotowuje się jej spadku z upływem czasu (wartość jest zbliżona do maksymalnej w ciągu czasu trwania pomiaru); (rys. 2A). Natomiast krzywe uzyskane po analizie próbek odpornych na substancję aktywną herbicydu są zbliżone w przebiegu do próbki kontrolnej (moczonej w wodzie); (rys. 2B).

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



Rys. 2. Krzywe uorescencji dla próbki liści *Chenopodium album*
 Fluorescence curves for leaves of *Chenopodium album* sample

Metoda molekularna – technika łańcuchowej syntezy polimerazy (PCR) fragmentów DNA roślin

Badania odporności z wykorzystaniem metody PCR przeprowadzono w Katedrze Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa SGGW w Warszawie z wykorzystaniem materiału roślinnego uzyskanego podczas prac w ramach grantu KBN 5P06B00116. Jak podają autorzy metody (1, 7), materiałem wyjściowym do analiz molekularnych jest całkowity DNA (kwas dezoksyrybonukleinowy) niosący ze sobą informację genetyczną, wyizolowany z tkanek roślinnych.

Typowy schemat reakcji PCR jest szeregiem cykli złożonych z następujących etapów: 1. rozdzielenia nici DNA (denaturacja), 2. przyłączania starterów do matrycy DNA, 3. wydłużania (elongacji) łańcucha DNA syntetyzowanego na bazie matrycy.

Identyfikowane fragmenty DNA dają obraz prążków, które są widoczne na żelu dzięki dodawanemu do żelu lub próbki barwnikowi uoryzującemu – bromku etydyny. Związek ten ma zdolność do wnikania w strukturę DNA, a pod wpływem promieni ultrafioletowych emituje promienie widzialne.

Opisana metoda pozwala na identyfikację odporności typu „w miejscu działania” (target site).

WYNIKI I DYSKUSJA

Na plantacjach kukurydzy dominowały trzy gatunki chwastów: *Amaranthus retro exus* L., *Chenopodium album* L. i *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. Inne taksony występowały w mniejszym nasileniu. Do regulacji zachwaszczenia tych upraw powszechnie stosowano herbicydy z grupy triazyn, a w szczególności atrazynę. Na podstawie przeprowadzonych badań, wykorzystując opisane metody stwierdzono na około 50% plantacji kukurydzy występowanie biotypów *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* odpornych na atrazynę. Odporne osobniki *Echinochloa crus-galli* zidentyfikowano na około 14% badanych pól kukurydzy. W przypadku analizy PCR wśród próbek roślin *Chenopodium album* nie stwierdzono osobników odpornych, natomiast wśród *Echinochloa crus-galli* zidentyfikowano tą metodą tylko 2 biotypy odporne (tab. 1). Tak duże rozbieżności w wynikach analiz PCR i dwóch pozostałych metod mogą wskazywać, że chwasty w testowanych próbkach posiadają głównie odporność typu enzymatycznego (detoksyfikacja herbicydu). W przypadku biotypów *Amaranthus retroflexus* występuje odporność genetyczna („w miejscu działania”).

Wykorzystując metodę pomiaru uorescencji ustalono procentowy udział biotypów odpornych w zbiorowiskach. Liczebność osobników odpornych w populacjach *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* wahała się w przedziale 8–100%, natomiast w przypadku *Echinochloa crus-galli* nie przekraczała 60%. Przykładowe wyniki przedstawiono w tab. 2.

Wieloletnie stosowanie herbicydów triazynowych do odchwaszczania plantacji kukurydzy spowodowało, że odporność na tę grupę substancji aktywnych jest bardzo rozpowszechniona niemal na całym świecie (12, 20).

Podobne rezultaty w identyfikacji odporności prostej i krzyżowej w stosunku do substancji aktywnych z grupy inhibitorów fotosyntezy fotosystemu II opisują De Prado (2), Furest i in. (6), Mikulka i Chodova (17-19), Gadomski i in. (7).

Tabela 1

Identyfikacja chwastów odpornych na atrazynę
Identification of atrazine resistant weeds

Gatunek chwastu Weed species	Metoda identyfikacji Identification method	Liczba badanych próbek Number of tested samples	Biotypy odporne Resistant biotypes	
			liczba number	udział procentowy participation (%)
<i>Amaranthus retroflexus</i>	PCR	131	61	47
	FM	78	38	49
	TB	139	63	45
<i>Chenopodium album</i>	PCR	127	0	0
	FM	163	84	52
	TB	214	100	47
<i>Echinochloa crus-galli</i>	PCR	206	2	1
	FM	139	17	12
	TB	188	27	14

PCR – technika łańcuchowej syntezy polimerazowej; polymerase chain reaction technique

FM – metoda pomiaru uorescencji; uorescence method

TB – test biologiczny, biological test

Tabela 2

Procentowy udział biotypów odpornych na atrazynę na wybranych polach Dolnego Śląska
Percentage of atrazine resistant biotypes in selected fields of Lower Silesia

Miejscowość Location	% biotypów odpornych; % of resistant biotypes		
	<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Echinochloa crus-galli</i>
Janówek	46	83	27
Swojków	68	92	10
Lipowiec	32	11	18
Gać	74	92	6
Ligota Polska	26	79	41
Jankowice	100	78	0
Karczyce	0	44	0
Bystre	27	0	0

Obecnie stosowanie herbicydów z grupy triazyn jest znacznie ograniczane. W ich miejsce rolnicy mają możliwość aplikacji najnowszych środków z grupy sulfonylo-mocznika, które równie skutecznie zwalczają chwasty na plantacjach kukurydzy (25), lecz są już zidentyfikowane biotypy chwastów odpornych i na tę grupę herbicydów (22).

WNIOSKI

1. Na objętych badaniami plantacjach kukurydzy dominowały *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli*.

2. Zastosowane metody umożliwiły identyfikację biotypów *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* odpornych na atrazynę.

3. Na około 50% plantacji objętych badaniami stwierdzono występowanie biotypów *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* odpornych na atrazynę. Odporne osobniki *Echinochloa crus-galli* zidentyfikowano na ok. 14% badanych pól kukurydzy.

4. Wykorzystując metodę pomiaru uorescencji ustalono procentowy udział biotypów odpornych w zbiorowiskach. Liczebność osobników odpornych w populacjach *Amaranthus retroflexus* i *Chenopodium album* wahała się w przedziale 8–100%, natomiast *Echinochloa crus-galli* nie przekraczała 60%.

5. W przypadku *Amaranthus retroflexus* dominowała odporność typu genetycznego („w miejscu działania”), natomiast u *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* stwierdzono głównie odporność typu enzymatycznego (detoksyfikacja herbicydu).

LITERATURA

1. 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.
2. De Prado R.: Herbicide resistance in Europe: agricultural, biochemical and physiological aspects. W: Proc. International Symposium On Weed and Crop Resistance to Herbicides, Cordoba, Spain, 1995, 35.
3. De Prado R., Dominguez C., Tena M.: Characterization of triazine-resistant biotypes of *Amaranthus* spp. found in Spain. W: Proc. VIII^{ème} Colloque International sur la Biologie, l'Ecologie et la Systematique des Mauvaises Herbes, Dijon, France, 1988, 247-256.
4. Ducruet J.M., Gasquez J.: Observation de la uorescence 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.
5. Fraga M.I., Tasende M.G.: Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. Weed Res., 2003, 43: 333-340.
6. 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.
7. Gadomski 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.
8. Gawroński S.W.: Chwasty odporne. I. Mechanizm i stan zjawiska w Polsce. Ochr. Rośl., 1992, 5: 3-4.
9. Gressel J.: Spread and action of herbicide tolerances and uses in crop breeding. W: Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1983, 608-615.
10. Gressel J., Segel L.A.: Resistance - mode of action. W: Herbicide Resistance in Plants, Red.: LeBaron M.M., Gressel J., John Wiley & Sons, NY, USA, 1982, 325-334.
11. Heap I.M.: International survey of herbicide-resistant weeds: lessons and limitations. W: Proc. British Crop Protection Conference – Weeds. Brighton, UK, 1999, 769-776.
12. Heap I.M.: International survey of herbicide-resistant weeds. Internet online document, <http://www.weedscience.com> – 22.12.2004.

13. Kucharski M., Rola H.: Identyfikacja chwastów odpornych na triazyny metodą pomiaru uorescencji. *Pam. Puł.*, 2002, 129: 257-262.
14. Kucharski M., Rola H.: Identyfikacja biotypów *Amaranthus retro exus* i *Chenopodium album* wykazujących odporność krzyżową na herbicydy – inhibitory fotosyntezy fotosystemu II. *Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 2003, 43(1): 218-223.
15. Lipecki J.: *Capsella bursa-pastoris* (L) Med. – another weed resistant to simazine? *Acta Soc. Bot. 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. Mikulka J., Chodova D.: The occurrence of resistance weeds in Czech Republic. W: *Proc. International Symposium On Weed and Crop Resistance to Herbicides*, Cordoba, Spain, 1995, 47.
18. Mikulka J., Chodova D.: Spread of resistant population of weeds to herbicides in The Czech Republic. W: *Proc. XI^{emc} Colloque International sur la Biologie des Mauvaises Herbes*, Dijon, France, 2000, 547-553.
19. 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.
20. Ritter R.L., Menbere H.: Distribution and management of triazine-resistant weeds in The Mid-Atlantic Region of The U.S.A. W: *Proc. Brighton Crop Protection Conference – Weeds*, Brighton, UK, 1987, 1147-1152.
21. Rola H.: Identyfikacja biotypów chwastów uodpornionych na herbicydy triazynowe metodą testu biologicznego. *Metodyka*. Wyd. IUNG Puławy, 2001, 1/2001.
22. Rola H., Marczevska K.: Biotypy chwastów odporne na chlorosulfuron w rejonie Wrocławia. *Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 2002, 42(2): 575-577.
23. Rola H., Rola J.: Badania nad występowaniem chwastów odpornych na triazyny na Dolnym Śląsku. *Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 1999, 39(1): 372-378.
24. Rola H., Rola J.: Występowanie *Amaranthus retro exus*, *Chenopodium album* i *Echinochloa crus-galli* – biotypów odpornych na triazyny w kukurydzy na terenie południowo-zachodniej Polski. *Pam. Puł.*, 2002, 129: 11-24.
25. Rola H., Rola J., Kucharski M., Marczevska K.: Zabezpieczenie roślin uprawnych przed chwastami odpornymi na herbicydy. *Prog. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.*, 2004, 44(1): 339-346.
26. Rola J.: Zjawisko uodparniania się niektórych gatunków chwastów na herbicydy. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1988, 349: 153-159.
27. Rola J., Rola H., Kucharczyk A.: Problem odporności chwastów na herbicydy w warunkach Polski. *Prog. Plant Protect.*, 1989, 29(1): 57-73.
28. Ryan G.F.: Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci.*, 1970, 18: 614-616.
29. Stankiewicz M., Gadomski 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.
30. 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.

USE OF WEED RESISTANCE IDENTIFICATION METHODS BASED ON WEED SPECIES OCCURRING IN MAIZE CROP

Summary

The aim of the study was the identification of *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* and *Echinochloa crus-galli* biotypes resistant to photosystem II inhibiting herbicides (atrazine).

The research was conducted during five years (1999–2004). Plants (leaves) and seeds of weeds were collected from 623 fields in South-West Poland (Lower Silesia), where maize was cultivated in monoc-

ulture or in simplified crop rotation with sugar beet and cereals. Resistant biotypes were diagnosed by PCR technique, uorescence method and biotest. The method allowed the identification of resistant biotypes. On about 50% of tested fields *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album* resistant to atrazine were observed. This phenomenon for *Echinochloa crus-galli* was identified on about 14% of the tested fields.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 I 2005 r.