

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Filip I. Vranješ

**ULOGA MORFO-ANATOMSKE GRAĐE U
OSETLJIVOSTI *CHENOPODIUM ALBUM L.*
I ABUTILON THEOPHRASTI MEDIK.
PREMA MEZOTRIONU**

Doktorska disertacija

Beograd, 2019.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Filip I. Vranješ

**EFFECT OF MORPHO-ANATOMY OF
*CHENOPODIUM ALBUM L. AND ABUTILON
THEOPHRASTI* MEDIK. ON RESPONSE TO
MESOTRIONE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019.

Komisija za pregled i odbranu:

Mentor: Dr Dragana Božić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije: Dr Sava Vrbničanin, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Danijela Pavlović, viši naučni saradnik
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Dr Dragana Rančić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Vele Tešević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet

Datum odbrane:

Neizmernu zahvalnost želim da uputim svom mentoru, *prof. dr Dragani Božić*, na nesebično pruženoj podršci, znanju, iskustvu i prijateljstvu u celokupnom naučnom radu.

Veoma sam zahvalan *prof. dr Savi Vrbničanin* za stručnu pomoć i sugestije tokom naučnog rada, pisanja disertacije i završnim korekcijama teksta.

Želim da se zahvalim *dr Danijeli Pavlović* za pomoć u realizaciji ispitivanja, pisanju disertacije i završnim korekcijama teksta.

Takođe, zahvaljujem se:

Koleginici *prof. dr Dragani Rančić* na pomoći oko merenja i analize morfo-anatomskih preparata.

Kolegama *prof. dr Veletu Teševiću* i *Mirjani Cvetković*, istraživač saradniku, na pomoći oko analize epikutikularnih voskova i obradi podataka.

Kolegama *prof. dr Đorđu Moravčeviću*, *doc. dr Ilinka Pećinar*, *dr Ani Anđelković*, *dipl. ing. Radenku Radoševiću* na pomoći oko realizacije dela laboratorijskih oglada.

Kolegama *Danijeli Petković*, *Dejanu Gajinu*, *Dejanu Nedeljkoviću* i *dr Mariji Sarić* na pomoći oko statističke obrade podataka i pruženim sugestijama.

Marti Klar na pomoći oko grafičkog prikaza rezultata.

Katedrama za *pesticide* i *botaniku*, Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu.

Institutu za zaštitu bilja i životne sredine i Institutu za pesticide i zaštitu životne sredine, pri čemu zahvalnost želim da uputim na otvorenim vratima Instituta.

Posebnu zahvalnost želim da uputim kompaniji Galenika Fitofarmacija a.d. i svim kolegama na pruženoj podršci, savetima i ukazanom poverenju.

Najveću zahvalnost dugujem roditeljima *Ivanu* i *Kseniji*, sestri *Tijani* i bratu *Danijelu* čija mi je nesebična ljubav, podrška i razumevanje bila glavna snaga i motivacija.

ULOGA MORFO-ANATOMSKE GRAĐE U OSETLJIVOSTI *CHENOPODIUM ALBUM* L. I *ABUTILON THEOPHRASTI* MEDIK. PREMA MEZOTRIONU

Sažetak. Radi sagledavanja uticaja različitih faktora (faze razvoja, morfo-anatomske građe listova i površinskih struktura lista) na osetljivost *Chenopodium album* i *Abutilon theophrasti* prema mezotrionu obavljena su istraživanja u kontrolisanim uslovima. Eksperimenti su realizovani u laboratorijama Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu tokom 2016-2017. godine. Biljke ispitivanih vrsta su gajene u komori za gajenje biljaka, a kada su dostigle odgovarajuću fazu razvoja primenjen je herbicid mezotrion u odgovarajućoj količini/količinama. Za potrebe procene uticaja faze razvoja na osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu biljke u različitim fazama razvoja (*C. album*: 2, 4, 6, 8 i 10 razvijenih listova, *A. theophrasti*: 1, 2, 3, 4 i 5 razvijenih listova) su tretirane preporučenom količinom (120 g a.s. ha⁻¹) mezotriona. U cilju utvrđivanja osetljivosti biljaka prema mezotrionu u fazi koja se pokazala kao najosetljivija (*C. album*: 4 razvijena lista; *A. theophrasti*: faza 2 razvijena lista) primenjene su rastuće količine herbicida kako bi se procenile efektivne doze (3,75, 7,5, 15, 30, 60 i 120 g a.m. ha⁻¹) na osnovu sledećih parametara: suva masa biljaka, odnos varijabilne i maksimalne fluorescencije, efektivni prinos fluorescencije PSII, intenzitet ozelenelosti listova, relativni sadržaj hlorofila i sadržaj karotenoida. Kako bi se utvrdio uzrok smanjenja osetljivosti biljaka *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu sa starenjem, analizirana je anatomska građa listova (debljina lista, debljina epidermalnih ćelija lica i naličja lista, debljina mezoila, palisadnog i sunderastog tkiva), površinske strukture lista (broj voštanih žlezda i stoma prisutnih na licu i naličju lista *C. album*, odnosno broja dlaka i stoma prisutnih na licu i naličju lista *A. theophrasti*), kao i epikutikularni voskovi.

Dobijeni rezultati su pokazali da faza razvoja u vreme primene mezotriona značajno utiče na osetljivost obe ispitivane vrste (*C. album* i *A. theophrasti*). Primena preporučene količine herbicida mezotrion u najranijim fazama razvoja dovela je do veoma visoke redukcije mase biljaka (>90%), ali se sa starenjem biljaka osetljivost smanjivala (redukcija mase <60%). Međutim, na osnovu istog parametra (suve mase biljaka) nakon primene rastućih količina ovog herbicida utvrđeno je da je količina manja od 50 g a.s. ha⁻¹ dovoljna za postizanje ED₉₅ kada je *C. album* u fazi 4 lista i *A. theophrasti* u fazi 2 lista. Za redukciju fluorescencije hlorofila za 95% (ED₉₅) neophodno je primeniti 85 g mezotriona ha⁻¹. Nasuprot tome, pokazalo se da mezotrion ne izaziva brze promene u stepenu ozelenelosti listova i relativnom sadržaju hlorofila u listovima tretiranih biljaka (ED₉₅ > 120 g a.s. ha⁻¹), što ukazuje da ovi

parametri nisu podesni za ocenu osetljivosti biljaka prema mezotrionu. Ramanovom spektroskopijom potvrđeno je da se sadržaj karotenoida u tretiranim biljkama *C. album* i *A. theophrasti* značajno razlikuje od sadržaja karotenoida u netretiranim biljkama, što ukazuje da se ova nedestruktivna i jednostavna metoda može koristiti za brzo i jednostavno testiranje osetljivosti biljaka prema mezotrionu u prvih nekoliko (1-3) dana nakon primene kada vizuelni simptomi još nisu uočljivi.

Na osnovu analize anatomske građe listova utvrđeno je da se sa starenjem listova povećava debljina parametara anatomske građe, dok se broj analiziarnih površinskih struktura smanjuje, što se može dovesti u vezu sa smanjenjem osetljivosti biljaka prema mezotrionu. Takođe, jedno od objašnjenja za smanjenje osetljivosti biljaka sa starenjem jesu i promene u sadržaju epikutikularnih voskova, pri čemu se udeo ovih voskova sa starenjem lista *C. album* povećava, a sa starenjem *A. theophrasti* smanjuje. Osim promena u količini voskova menja se odnos hemijskih jedinjenja koja ulaze u njihov sastav.

Svi analizirani parametri kada se analiziraju odvojeno utiču na osetljivost biljaka *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu, dok je sama reakcija biljaka na ovaj herbicid rezultat kompleksnog istovremenog uticaja svih ovih faktora.

Ključne reči: *Abutilon theophrasti*, anatomija, *Chenopodium album*, epikutikularni voskovi, faza razvoja, mezotrion, morfologija, osetljivost, površinske strukture, Ramanova spektroskopija

Naučna oblast: Biotehničke nauke

Uža naučna oblast: Herbologija

UDK: 582.662:582.685.2]:581.4/.5(043.3)

EFFECT OF MORPHO-ANATOMY OF *CHENOPODIUM ALBUM* L. AND *ABUTILON THEOPHRASTI* MEDIK. ON RESPONSE TO MESOTRIONE

Abstract. In order to examine the influence of factors such as growth stage, morpho-anatomical structure of leaves and structures on leaf surface on the susceptibility of *Chenopodium album* and *Abutilon theophrasti* to herbicide mesotrione. The experiments were conducted in the glasshouse laboratories of the Faculty of Agriculture in Belgrade during 2016 and 2017. The plants were cultivated in a growth chamber, and after reaching the suitable growth stage, the relevant amount of mesotrione was applied. To assess the influence of the growth stage on the sensitivity of *C. album* and *A. theophrasti* to mesotrione in different growth stages (*C. album*: 2, 4, 6, 8 and 10 leaves, *A. theophrasti*: 1, 2, 3, 4 and 5 leaves) plants were treated with the recommended amount (120 g a.i. ha⁻¹) of mesotrione. In order to determine the susceptibility of plants to mesotrione at the stage that proved to be the most sensitive (*C. album*: 4 leaves; *A. theophrasti*: phase 2 leaves), different amounts of mesotrione were applied to estimate the effective doses (3.75, 7.5, 15, 30, 60 and 120 g a.i. ha⁻¹). Following parameters were measured: plant dry weight, variable and maximum fluorescence ratio, effective PSII fluorescence yield, leaf greening intensity, relative chlorophyll content and carotenoid content. In order to determine the cause of decreased sensitivity of *C. album* and *A. theophrasti* plants to mesotrione with each growth stage, the following analyses were conducted: the anatomical structure of leaves (leaf thickness, thickness of epidermal cells on the adaxial and abaxial side, thickness of mesophyle, palisade and sponge tissue), leaf surface structure (the number of wax glands and stoma present on the adaxial and abaxial side of *C. album* leaves, the number of trichomae and stoma present on the adaxial and abaxial side of *A. theophrasti* leaves), as well as content of epicuticular waxes on leaves.

The results showed that the growth stage at the time of mesotrione application significantly affected the sensitivity of both species. The application of the recommended dose of mesotrione in the earliest growth stages led to a very high reduction in plant mass (>90%), but with plant maturation, the sensitivity decreased (mass reduction <60%). Furthermore, based on the same parameter (dry mass of plants) after applying different amounts of mesotrione, less than 50 g a.s. ha⁻¹ were sufficient to reach ED₉₅ when *C. album* is in stage 4 leaves and *A. theophrasti* is in stage 2 leaves. To reduce chlorophyll fluorescence by 95% (ED₉₅) 85 g of mesotrione ha⁻¹ needs to be applied. However, mesotrione did not cause rapid changes in leaf greenness and relative chlorophyll content in

leaves of treated plants ($ED_{95} > 120 \text{ g a.s. ha}^{-1}$), indicating that these parameters are not suitable for assessing plant susceptibility to mesotrione. Raman spectroscopy confirmed that carotenoid content was significantly different in treated plants *C. album* and *A. theophrasti* comparing to carotenoid content in untreated plants. Thus, it indicates that this non-destructive and simple method could be used to quickly and easily test the susceptibility of plants to mesotrione in the first few (1-3) days after application before visual symptoms become apparent.

Based on the analysis of the anatomical structure of the leaves, it can be noted that with the leaves maturation, the thickness of the anatomical structure parameters increases, while the number of analytical surface structures decreases. This may be a cause for a decrease in the sensitivity of plants to mesotrione. In addition, one of the explanations for reducing the sensitivity of plants with maturation is the change in epicuticular waxes content, whereby the proportion of these waxes increases with maturation of the *C. album* leaves and decreases with the maturation of *A. theophrasti*. In addition to changes in the amount of waxes, the chemical compounds ratio of their composition also changes.

When analysed separately, all the parameters affect the susceptibility of *C. album* and *A. theophrasti* to mesotrione, while the plants reaction to mesotrione is the result of the complex simultaneous influence of all these factors.

Key words: *Abutilon theophrasti*, anatomy, *Chenopodium album*, epicuticular wax, growth stage, mesotrione, morphology, sensitivity, structures on leaf surface, Raman spektroskopy

Scientific field: Biotechnical Science

Specialized scientific field: Weed Science

UDC: 582.662:582.685.2]:581.4/.5(043.3)

SADRŽAJ

1	UVOD	1
2	PREGLED LITERATURE	3
2.1	Primena herbicida u savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji.....	3
2.2	Uticaj različitih faktora na osetljivost korova prema herbicidima.....	6
2.3	Uticaj faze razvoja na osetljivost korova prema herbicidima.....	7
2.4	Uticaj morfo-anatomske građe lista na osetljivost korova prema herbicidima.....	8
2.5	Uticaj voskova lista na osetljivost korova prema herbicidima	11
2.6	Nedestruktivne metode za ispitivanje reakcija biljaka prema herbicidima.....	13
2.6.1	Očitavanje relativnog sadržaja hlorofila SPAD-metrom.....	13
2.6.2	Očitavanje parametara fluorescencije hlorofila.....	15
2.6.3	Ramanova spektroskopija	16
2.7	<i>Chenopodium album</i> L.....	19
2.8	<i>Abutilon theophrasti</i> Medik.	20
2.9	Mezotrion	22
3	MATERIJAL I METODE	24
3.1	Biljni materijal	24
3.2	Herbicid.....	25
3.3	Metode	25
3.3.1	Osetljivost <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka	25
3.3.2	Reakcije biljaka <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	26
3.3.3	Sadržaj karotenoida u listovima <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	28
3.3.4	Anatomska građa lista <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	29
3.3.5	Površinske strukture lista <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	30
3.3.6	Sadržaj voskova u listovima <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	31
3.3.7	Statistička obrada podataka.....	32
4	REZULTATI	33
4.1	Osetljivost <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka	33
4.2	Reakcije biljaka <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	37
4.2.1	Suva masa	38

4.2.2	Fluorescencija hlorofila.....	39
4.2.3	Sadržaj hlorofila.....	41
4.3	Uticaj mezotriona na sadržaj karotenoida u listu <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	43
4.4	Anatomska građa lista <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	47
4.4.1	Anatomska građa lista <i>C. album</i>	49
4.4.2	Anatomska građa lista <i>A. theophrasti</i>	51
4.5	Površinske strukture lista <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	53
4.6	Epikutikularni voskovi lista <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	59
5	DISKUSIJA.....	66
5.1	Osetljivost <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka	66
5.2	Reakcije biljaka <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	67
5.3	Uticaj mezotriona na sadržaj karotenoida u listu <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i>	70
5.4	Uloga anatomske građe lista u osetljivosti <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	72
5.5	Uloga površinskih struktura lista u osetljivosti <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	74
5.6	Uloga epikutikularnih voskova lista u osetljivosti <i>C. album</i> i <i>A. theophrasti</i> prema mezotrionu	77
6	ZAKLJUČAK.....	80
7	LITERATURA	82
	PRILOZI	104
	BIOGRAFIJA	118
	IZJAVE.....	119

1 UVOD

Savremeni koncept zaštite bilja podrazumeva primenu integralne zaštite useva od štetnih organizama, uključujući i korove. Integralna zaštita je proizvodni sistem koji je zasnovan na ekološki prihvatljivim i ekonomski profitabilnim principima i korišćenju aktuelnih i sveobuhvatnih informacija o štetnim organizmima i merama za njihovo suzbijanje. Ipak, pored nastojanja da se upotreba herbicida smanji, hemijsko suzbijanje korova je i dalje najzastupljeniji i najefikasniji način suzbijanja korova. Kako bi se integralna zaštita efikasnije sprovodila, neophodno je dobro poznavanje biologije useva, štetnih organizama i njihove interakcije sa uslovima spoljašnje sredine.

Osetljivost korova na herbicide zavisi ne samo od primenjenog preparata, već i od brojnih drugih faktora koji mogu biti biotički i abiotički. U biotičke faktore koji utiču na usvajanje herbicida preko nadzemne mase spadaju: veličina lisne površine, debljina kutikule, prisustvo dlaka, oštećenja na listovima, fiziološko stanje biljke, faza razvoja i dr. U abiotičke faktore koji utiču na folijarno usvajanje herbicida spadaju: vlažnost lisne površine, svetlost, temperatura, relativna vlažnost vazduha, padavine, vetar i drugi. Na delovanje herbicida su najosetljiviji "mladi" korovi, tj. korovi čija faza razvoja ne prelazi 4-6 listova, ali dosadašnja istraživanja su pokazala da se i korovi sa više razvijenih listova mogu suzbiti na efikasan način (Kieloch and Domaradzki, 2011). Sa razvojem biljke dolazi do povećanja površine listova i izmena u njihovoj građi i fiziologiji. Usled toga, efekat delovanja herbicida je značajno slabiji na starije biljke u poređenju sa biljkama koje su tretirane u ranijim fazama (Kieloch and Domaradzki, 2011).

Chenopodium album L. i *Abutilon theophrasti* Medik. spadaju u grupu čestih korovskih vrsta u usevima okopavina širom sveta (Kruger et al., 2009; Follak et al., 2014). Morfologija listova ovih vrsta je različita (*C. album* sa kutikularnim voskom, *A. theophrasti* sa dlakama), što može značajno uticati na usvajanje herbicida, a time i na njihov efekat u suzbijanju. Voskovi na površini listova *C. album* predstavljaju prepreku za apsorpciju herbicida (Burghardt et al., 2006). *A. theophrasti* ima znatno više dlaka na listovima od većine korova, čak i u poređenju sa nekim drugim vrstama iz roda *Abutilon* (Shaheen et al., 2009), što može znatno smanjiti apsorpciju herbicida, a time ograničiti i njegovu efikasnost u suzbijanju ove korovske vrste. Prisustvo dlaka sa obe strane lista povećava površinu koja dolazi u dodir s herbicidom, ali se smanjuje količina herbicida koji dolazi u dodir sa kutikulom, usled čega se smanjuje usvajanje (Warwick and Black, 1988).

Mezotrion je selektivni, sistemski herbicid za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih korova i nekih travnih korova u kukuruzu (Mitchell et al., 2001). Može se koristiti za suzbijanje korova u različitim klimatskim uslovima i tipovima zemljišta (Sutton et al., 2002). Brojne vrste širokolisnih korova su osetljive na mezotrion (Armel et al., 2003; Nurse et al., 2010). Period primene mezotriona je širok, što omogućava njegovu primenu pre nicanja ili nakon nicanja, sve do pojave 8. lista useva kukuruza. Iz tog razloga je podesan za suzbijanje korova poput *C. album* i *A. theophrasti*, koji imaju neujednačen i razvučen period nicanja.

Održavanje nivoa zakorovljenosti useva ispod praga štetnosti je otežano usled toga što se iz godine u godinu postavljaju sve viši standardi za registraciju herbicida, tako da na tržištu ostaje sve manji broj dostupnih jedinjenja. Dodatna otežavajuća okolnost je to što na tržištu već duže vreme nema pojave novih aktivnih supstanci herbicida, a posebno što nema novih mehanizama delovanja. Uporedo sa tim, intenzivna upotreba herbicida je dovela do razvoja rezistentnih populacija korova prema herbicidima različitim mehanizama delovanja širom sveta, što ograničava upotrebu postojećih herbicida u takvim populacijama. Sve navedeno nameće potrebu za intenzivnijim proučavanjem i boljim poznavanjem korova, odnosno njihove biologije i ekologije, kako bi se ta znanja maksimalno iskoristila za povećanje efikasnosti postojećih herbicida.

Cilj istraživanja u ovom radu je da se primenom relevantnih metoda i postupaka utvrdi osetljivost korovskih vrsta *C. album* i *A. theophrasti* na mezotrion u različitim fazama razvoja biljaka. Pored toga, na osnovu analize morfo-anatomske građe listova, odnosno površinskih struktura (kod *C. album* voštanih žlezda i stoma, a kod *A. theophrasti* dlaka i stoma), anatomske građe lista (debljine epidermisa lica i naličja, debljine palisadnog i sunđerastog tkiva, kao i debljine mezofila i ukupne debljine lista) i kvalitativnog i kvantitativnog sastava epikutikularnog voska u listovima, da se utvrdi uloga ovih parametara u ispoljavanju osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu. Takođe, 1 od ciljeva je da se u fazama koje se pokažu kao najosetljivije i najpodesnije za primenu mezotriona ispituju reakcije biljaka ovih vrsta na rastuće količine mezotriona i pri tome utvrdi koja metoda je najpodesnija za utvrđivanje reakcija biljaka na mezotrion.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 Primena herbicida u savremenoj poljoprivrednoj proizvodnji

Suzbijanje korova predstavlja osnovnu komponentu u skoro svakom sistemu biljne proizvodnje jer nivo zakorovljenosti značajno utiče na prinos. Upotreba herbicida je postala uobičajan način za zaštitu useva od korova širom sveta i predstavlja najpouzdaniji i najekonomičniji način suzbijanja korova. Posebno je značajna upotreba herbicida u zemljama u razvoju gde dolazi do pojave migracije ljudi iz sela u gradove tako da je dostupno sve manje radne snage, a ujedno je zbog povećanja ljudske populacije potrebno ostvariti sve veće prinose (Gianessi, 2013). Otkriće herbicida je značajno doprinelo efikasnijem suzbijanju korova, smanjenju gubitaka prinosa i povećanju kvaliteta hrane. Sa primenom herbicida se započelo sredinom prošlog veka pri čemu su od pedesetih do osamdesetih godina 20. veka na svakih nekoliko godina otkrivani herbicidi sa novim mehanizmom delovanja, nakon čega je nastupio period u kome nije bilo otkrića novih mehanizama delovanja (Westwood et al., 2018; Heap, 2019). Neki od uzroka za smanjeni razvoj novih molekula herbicida su u stvaranju genetički modifikovanih useva koji su tolerantni na glifosat, sve strožija regulativa za odobrenje primene herbicida i ukрупnjavanje kompanija u agrohemijskoj industriji (Kraehmer and Drexler, 2009; Westwood et al., 2018). Da bi ispoljio delovanje, herbicid nakon primene treba da bude usvojen od strane biljke, gde je potom izložen brojnim metabolitičkim procesima i reakcijama, usled čega može biti metabolički inaktiviran ili ispoljiti fitotoksično dejstvo na biljke. Primena istih ili herbicida istog mehanizma delovanja tokom više uzastopnih vegetacionih sezona može dovesti do razvoja rezistentnosti korova na te herbicide. Relativno brzo nakon uvođenja prvih herbicida, ustanovljena je i pojava rezistentnosti vrste *Senecio vulgaris* L. na atrazin (Ryan, 1970). Od tada do danas potvrđena je rezistentnost 502 biotipa prema herbicidima različitih hemijskih grupa (Heap, 2019). Problematika rezistentnosti zahteva posebnu pažnju jer ukoliko dođe do razvoja rezistentnosti na herbicid, mogućnost suzbijanja korova su značajno ograničene jer se rezistentnost javlja čak i na neselktivne herbicide poput glifosata (Kleinman and Rubin, 2017).

U razvijenim poljoprivrednim zemljama, intenzivna primena herbicida, dovela je i do nekih negativnih efekata. Pre svega, redukovana je plodored, napuštene su alternativne mere suzbijanja korova, te je intenzivna primena herbicida dovela do rezistentnosti korova i do kontaminacije podzemnih voda i zemljišta hemikalijama. Iz tog razloga, postoji potreba za

smanjenjem količine primene herbicida, rotacijom herbicida različitog mehanizma delovanja kao i upotrebom mešavina više različitih herbicida, odnosno njihovom kombinovanom primenom sa odgovarajućim agrotehničkim merama, čime se može sprečiti ili odložiti pojava rezistentnosti korova. Zabrinutost javnosti oko rizika primene i negativnog uticaja pesticida na životnu sredinu i javno zdravlje nameće potrebu za smanjenjem njihove primene. Tendencije su da se proizvodnjom zdravstveno bezbedne hrane osigura bezbednost i zaštita ljudi i životne sredine, što podrazumeva intenzivniju primenu agrotehničkih i drugih nehemijskih mera u suzbijanju korova. Međutim, primena herbicida je i dalje dominantna mera u borbi protiv ove grupe štetnih agenasa. Kako je primena hemijskih sredstava i dalje najzastupljenija mera za suzbijanje korova, utvrđivanje minimalne doze koja je potrebna za postizanje zadovoljavajućeg suzbijanja korova može biti optimalno rešenje za postizanje cilja smanjenja primene herbicida. Za uspešno suzbijanje korova neophodno je dobro poznavanje karakteristika herbicida (efikasnost, perzistentnost, mehanizam delovanja), zatim reakcija biljaka na herbicide, odnosno osetljivosti korovskih i istovremeno tolerantnosti gajenih biljaka na ova jedinjenja, kao i poznavanje biologije i ekologije korovskih vrsta i njihovih karakteristika značajnih za ispoljavanje osetljivosti prema herbicidima. Već duže vreme se na tržište ne plasiraju novi molekuli herbicida, a naročito ne novi molekuli sa novim mehanizmom delovanja. Iz tog razloga je potrebno što bolje poznavati karakteristike postojećih herbicida i pod kojim uslovima mogu ispoljiti zadovoljavajući nivo efikasnosti kako bi se što bolje iskoristio njihov potencijal, a ujedno odložila pojava rezistentnosti, koja se ubraja među najozbiljnije probleme sa kojim se stručnjaci suočavaju u praksi. U današnje vreme je najčešća preporuka da se suzbijanje korova, ali i drugih štetnih organizama, vrši u skladu sa konceptom integralne zaštite (IWM – *Integrated Weed Management*) (Malidža and Vrbničanin, 2015). Integralna zaštita se sastoji od aktuelnih informacija o štetnim organizmima i merama za njihovo suzbijanje, razvoju novih tehnoloških rešenja, njihovom povezivanju i primeni u skladu sa ekonomskim i ekološkim razvojem. Naime, ovaj sistem zaštite useva od korova podrazumeva: odabir odgovarajućih sorti ili hibrida, odgovarajući sistem gajenja (vreme, gustina i dubinu setve i adekvatno đubrenje), primenu plodoreda, adekvatnu obradu zemljišta i gajenje pokrovnih useva, adekvatan izbor mehaničkih, bioloških i hemijskih mera suzbijanja korova, primenu alternativnih mera za suzbijanje korova (plamen, infracrveno zračenje, pregrevana vodena para itd.) i dr. (Jhala et al., 2014).

Brojne studije su pokazale da različiti herbicidi mogu efikasno suzbijati korovske vrste sa nižim od preporučenih količina (Pannacci and Covarelli, 2009; Khaliq et al., 2011; Pannacci, 2016). Geier i sar. (2009) su utvrdili da se herbicid saflufenacil može primenjivati u količini

od 9 g a.s. ha⁻¹ umesto predviđenih 30 g a.s. ha⁻¹, pri čemu se postiže efikasnost od 90% u suzbijanju testiranih korovskih vrsta *Chorispora tenella* Pall. i *Amaranthus albus* L. Nasuport tome, Bussan i sar. (2000) su utvrdili da smanjenje količine primene herbicida nikosulfuron i setoksidim u odnosu na preporučenu dovodi do smanjenog efekta ovih herbicida na *Setaria faberi* Herrm. što onemogućava uspešno suzbijanje ove korovske vrste.

Setva tolerantnih useva na herbicide je postala deo česte poljoprivredne proizvodnje širom sveta (Kraehmer and Drexler, 2009). Usevi tolerantni na herbicide se dele na one dobijene oplemenjivanjem pomoću konvencionalnih metoda i transgene kod kojih je genetičkim inženjeringom introdukovao gen nesrodne vrste (najčešće bakterije) u genetički kod useva. Primeri useva dobijenih konvencionalnim metodama oplemenjivanja koji su visoko tolerantni na herbicide su hibridi suncokreta tolerantni na tribenuron-metil i imazamoks, koji ispoljavaju visok nivo tolerantnosti u odnosu na osetljive hibride suncokreta (Bozic et al., 2012). Ipak, u Sjedinjenim Američkim Državama se najčešće seju transgeni hibridi kukuruza i soje koji su tolerantni na glifosat (Knežević, 2016). U ovakvim usevima se u cilju efikasnijeg suzbijanja korova primenjuje glifosat ili njegove kombinacije sa drugim herbicidima poput mezotriona (Armel et al., 2003). Ali, masovna primena glifosata u Severnoj Americi i zavisnost isključivo od ovog herbicida u suzbijanju korova je dovela do pojave rezistentnih populacija, pri čemu je, na primer, za postizanje zadovoljavajućeg efekta u suzbijanju vrste *Ambrosia trifida* L. potrebna količina primene glifosata 18 puta veća od preporučenih 900 g a.s. ha⁻¹ (Vink et al., 2012).

Često se dešava da poljoprivrednici počnu sa primenom integralnih mera za suzbijanje korova tek nakon razvoja rezistentnosti na herbicide. Pojava rezistentnosti populacija brojnih korovskih vrsta u različitim usevima predstavlja verovatno najznačajniji podsticaj za promene u praksi suzbijanja korova i prihvatanju sistema rotacije useva i različitih mehanizama delovanja herbicida kako bi se smanjila mogućnost razvoja ove pojave. Širom sveta se konstantno vrši nadzor efikasnosti primene različitih herbicidnih i neherbicidnih mera u cilju odlaganja pojave rezistentnosti. Mere za sprečavanje pojave rezistentnosti uključuju razvoj tolerantnih useva na herbicide, rotaciju useva i herbicida različitih mehanizama delovanja, kombinaciju nekoliko aktivnih supstanci, nadzor količine primene i reakcije biljaka (Beckie, 2006; Norsworthy et al., 2012). Kombinovanje 2 ili više herbicida, odnosno aktivnih supstanci, je uobičajena praksa u tehnologiji zaštite od korova kod mnogih useva. Primenjuje se kako bi se omogućilo istovremeno suzbijanje što većeg broja korova, smanjenje troškova zaštite i smanjenje rizika od pojave rezistentnih biotipova korova (Stewart et al., 2009; Radivojević i sar., 2012; Evans et al., 2016).

2.2 Uticaj različitih faktora na osetljivost korova prema herbicidima

Osetljivost korova prema herbicidima zavisi od primenjenog preparata i biljne vrste, ali i od brojnih drugih abiotičkih (svetlost, temperatura, vlažnost vazduha, padavine) i biotičkih (debljina kutikule, prisustvo dlaka, fiziološko stanje biljke, faza razvoja biljke) faktora. U slučaju nepovoljnog uticaja ovih faktora efekat herbicida može biti značajno smanjen (Kieloch and Domaradzki, 2011). Efikasnost mnogih herbicida primenjenih nakon nicanja korova zavisi od agrometeoroloških uslova. Na primer, iako je glufosinat-amonijum neselektivni herbicid, utvrđeno je da njegova efikasnost zavisi od uslova životne sredine pod kojima se primenjuje, biljne vrste i količine primene (Steckel et al., 1997). Apsorpcija i translokacija herbicida fluazifop-P-butil su veće na višim temperaturama i kad je veća osunčanost, dok atrazin efikasnije suzbija vrste roda *Setaria* ukoliko nakon primene ovog herbicida pada kiša, dok glufosinat-amonijum bolje deluje na *Setaria viridis* L. sa porastom temperature (Goddard et al., 2010). Johnson i Young (2002) su primetili bolje delovanje mezotriona kada je primenjen pri temperaturi od 32°C na *A. theophrasti*. i *Xanthium strumarium* L. u odnosu na primenu pri temperaturi od 18°C. Nasuprot tome, McCurdy i sar. (2009) su utvrdili da uticaj mezotriona na *Digitaria sanguinalis* L. ne zavisi od promene temperature kada je ona u opsegu 18-32°C. Takođe, vlažnost vazduha utiče na delovanje herbicida, tako je na primeru delovanja mezotriona na *S. viridis* potvrđena efikasnost od 100% pri relativnoj vlažnosti od 95%, a pri relativnoj vlažnosti od 40% biljke su preživele njegovu primenu (Goddard et al., 2010). Osim toga, Johnson i Young (2002) su utvrdili da visoka relativna vlažnost (85%) utiče na bolju efikasnost mezotriona na *A. theophrasti* i *Amaranthus tuberculatus* L. u odnosu na njegovu efikasnost pri niskoj relativnoj vlažnosti (30%). Takođe, potvrđeno je da efikasnost herbicida acetohlor, metolahlor i petoksamid zavisi od uslova vlažnosti (Jursik et al., 2013). Pored toga, fenoksaprop-P-etil, fluazifop-P-butil, haloksifop-R-metil i setoksidim slabo suzbijaju *S. viridis* u uslovima suše (Kapusta et al., 1994). Nasuprot tome, Jursik i sar. (2015) su utvrdili da efikasnost herbicida oksifluorfen, aklonifen, acetohlor, dimetanamid i propizohlor samo neznatno zavisi od nivoa vlažnosti zemljišta.

Morfološke karakteristike površine lista utiču na delovanje herbicida na biljku (Sanyal et al., 2006a, 2006b; Marques et al., 2012). Kutikula i voštana prevlaka, koja se često nalazi preko nje, predstavljaju barijeru za prodiranje herbicida u listove, što ih čini značajnim biotičkim faktorima koji utiču na folijarnu apsorpciju herbicida (Ferreira et al., 2002; Wang

and Liu, 2007). S obzirom da se kutikula razlikuje po strukturi i sastavu unutar i među vrstama, propustljivost herbicida kroz kutikulu se može razlikovati u zavisnosti od biljne vrste što je uočeno za vrste poput breskve, krastavca, patlidžana, kruške, paprike, paradajza itd. (Bukovac et al., 1990). Lisek i sar. (2002) smatraju da je tolerantnost sorti jagode prema herbicidima fenmedifam, desmedifam i etofumesat u vezi sa debljinom kutikule i količinom epikutikularnih voskova. Pored toga, Bainard i sar. (2006) su pokazali da ukoliko se ukloni epikutikularni vosak sa listova *C. album* i *Amaranthus retroflexus* L. dolazi do značajnog povećanja (za 45%) usvajanja esencijalnog ulja (dobijenog iz *Syzygium aromaticum* L.) kod ove 3 vrste. Dlake na listovima, takođe utiču na usvajanje herbicida, s tim što njihova uloga u folijarnom usvajanju različitih rastvora još nije u potpunosti razjašnjena (Fernandez and Brown, 2013). Moguće objašnjenje je da se ukoliko su dlake prisutne na listovima biljaka, povećava površina koja dolazi u dodir sa herbicidom, a smanjuje količina herbicida koji dolazi u dodir sa kutikulom i koja se usvaja listom, što može značajno smanjiti usvajanje herbicida i njegovo delovanje (Wang and Liu, 2007; Huangfu et al., 2009). Nasuprot tome, u slučaju vrste *Ambrosia artemisiifolia* L. dlake na listovima utiču na zadržavanje herbicidnog rastvora glifosata i njegovo bolje usvajanje (Grangeot et al., 2006). Iako dlake na površini listova nekih korovskih vrsta onemogućavaju direktan i brz kontakt kapi herbicidnog rastvora i površine listova, one doprinose usvajanju herbicida u slučaju kada je njihova površina zasićena, tako što smanjuju isparavanje (Grangeot et al., 2006).

Sa razvojem (starenjem) biljaka dolazi do promena u broju stoma (kod pamuka, Wise et al., 2000) i dlaka (kod *X. strumarium* i samoniklog suncokreta *Helianthus annuus* L., Božić, 2010; *A. theophrasti*, *Echinochloa crus-galli* L. i *S. viridis*, Sanyal et al., 2006a, 2006b) po jedinici lisne površine, ali takođe i do promena u debljini tkiva lista (kod pamuka, Wise et al., 2000). Međutim, uloga morfo-anatomskih promena u osetljivosti biljaka prema herbicidima je do sada malo istraživana (Marques et al., 2012). Takav slučaj je i sa istraživanjima uticaja mnogih drugih abiotičkih i biotičkih faktora, što je posledica činjenice da je u današnje vreme pažnja naučne javnosti više usredsređena na proučavanje biohemijskih procesa i istraživanja na molekularnom nivou.

2.3 Uticaj faze razvoja na osetljivost korova prema herbicidima

Pored nabrojanih abiotičkih i biotičkih faktora, na osetljivost korovske vrste prema herbicidu značajno može uticati faza razvoja korova u momentu primene herbicida. Najosetljiviji su korovi u početnoj fazi razvoja, tj. čija faza rasta ne prelazi 4-6 listova. Sa

razvojem biljke dolazi do povećanja površine listova, izmena u njihovoj građi (što najčešće otežava usvajanje herbicida) i fiziologiji (što se odražava na njihov metabolizam u biljci). Usled toga, osetljivost na herbicide se značajno smanjuje u poređenju sa biljkama koje se tretiraju u ranim fazama.

Faza razvoja korovske vrste *Sorghum halepense* L. utiče na njenu osetljivost prema herbicidima primisulfuron-metil, nikosulfuron, fluazifop-P-butil i kletodim (Rosales-Robels et al., 1999). Naime, dejstvo ispitivanih herbicida se smanjivalo kako se povećavala faza razvoja tretiranih biljaka, odnosno, za postizanje efikasnosti preko 90% kada su korovske biljke bile u fazi 6-8 listova bilo je neophodno primeniti veću količinu herbicida nego kada su bile u fazi 4 lista (Rosales-Robels et al., 1999). Kieloch i Domaradzki (2011) su istraživali osetljivost korovskih vrsta *Anthemis arvensis* L., *C. album* i *Stellaria media* L. na herbicide (tribenuron-metil, jodosulfuron+amidosulfuron i metribuzin+amidosulfuron) u različitim fazama razvoja: 2-4, 6-8 i 10-12 listova. Dobijeni rezultati su zavisili od korovske vrste, faze razvoja, primenjenog herbicida i količine primene pri čemu je efekat primenjenih herbicida bio bolji kada su korovi bili u ranijim fazama razvoja. Pored toga, kombinacije herbicida fenoksaprop-P-etil+etoksisulfuron i penoksulam+chialofop-butil su imale visoku efikasnost za korovske vrste *E. crus-galli*, *Leptochloa chinensis* L., *Echinochloa colona* L. i *Digitaria ciliaris* Retz. kada su njihove biljke bile u fazi 4 lista, dok je efikasnost bila značajno niža u fazi 8 razvijenih listova (Chauhan and Abugho, 2012). Chachalis i sar. (2001b) su potvrdili da acifluorfen-Na, bentazon, bromoksinil, glufosinat-amonijum i glifosat odlično deluju na *Ipomoea hederacea* L., *Ipomoea wrightii* Gray, *Ipomoea lacunosa* L. i *Jacquemontia tamnifolia* L. kada su ove vrste u fazi 2-4 lista, ali je njihova osetljivost na navedene herbicide značajno manja kada su biljke u fazi 5-8 listova. Bellinder i sar. (2003) su istraživali osetljivost *A. artemisiifolia*, *Solanum ptycanthum* Dun., *Solanum sarrachoides* Sendt. i *A. theophrasti* u fazama kotiledoni, 2, 2-4, 4-6 listova prema herbicida bentazon i fomezafen, u varijantama bez i sa dodatkom ađuvanta. Pokazalo se da sa starenjem biljaka (kasnije faze razvoja) dolazi do smanjenja njihove osetljivosti, pri čemu se efikasnost herbicida može poboljšati dodavanjem ađuvanta (Bellinder et al., 2003).

2.4 Uticaj morfo-anatomske građe lista na osetljivost korova prema herbicidima

Anatomska i morfološka građa lista su karakteristične za vrstu (Vrbničanin i sar., 2006) ali kod iste vrste mogu biti znatno modifikovane pod uticajem spoljašnjih faktora ili u

različitim fazama razvoja biljke (Gavrilović et al., 2019). Morfo-anatomske karakteristike lista su veoma značajne za usvajanje folijarnih herbicida (Lisek et al., 2002).

Dlake su površinske strukture lista koje imaju taksonomski značaj i štite biljke od različitih biotskih i abiotskih uticaja poput UV-zračenja, suše i oštećenja koja izazivaju biljojedi, doprinose hlađenju listova (smanjuju apsorpciju kratkotalasnih zračenja), smanjuju transpiraciju i vlažnost listova i povećavaju razmenu gasova (Valverde et al., 2000; Brewer and Nunez, 2007; Haworth and Mcelwain, 2008; Skelton et al., 2012). Na površini listova različitih biljnih vrsta mogu biti prisutni različiti tipovi dlaka (Ferreira et al., 2002, 2007; Grangeot et al., 2006), čiji broj na licu i naličju listova, kao i građa, oblik i dimenzije mogu biti različiti u zavisnosti od vrste (Ferreira et al., 2002, 2007; Grangeot et al., 2006).

Pored brojnih funkcija koje im se pripisuju, dlake utiču na usvajanje herbicida, što se dalje odražava na osetljivost biljaka prema ovim jedinjenjima (Grangeot et al., 2006; Wang and Liu, 2007; Huangfu et al., 2009). Dugo je vladalo opšteprihvaćeno mišljenje da dlake predstavljaju barijeru za uspostavljanje kontakta između rastvora herbicida i površine lista, pri čemu se smanjuje površina lista koja dolazi u direktan kontakt sa herbicidom (DiTomaso, 1999). Međutim, novija istraživanja ukazuju da uloga dlaka u usvajanju herbicida i drugih rastvora nije u potpunosti razjašnjena (Fernandez and Brown, 2013), a neka dokazuju da dlake mogu ispoljiti pozitivan efekat na usvajanje herbicida (Grangeot et al., 2006). Prisustvo i brojnost dlaka na listu se menja tokom razvoja biljke, što je dokazano na primeru *Arabidopsis thaliana* L. (Telfer et al., 1997). S obzirom da dlake mogu da smanje površinu lista koja dolazi u direktan kontakt sa herbicidom, a *A. theophrasti* ima značajno više dlaka u odnosu na većinu korova pa čak i odnosu na neke druge korovske vrste roda *Abutilon* (Shaheen et al., 2009), to se može značajno odraziti na osetljivost ove vrste prema herbicidima. Iako dlake na površini listova nekih korovskih vrsta onemogućavaju direktan i brz kontakt kapi herbicidnog rastvora i površine listova, one doprinose usvajanju herbicida u slučaju kada je njihova površina zasićena, tako što smanjuju isparavanje. Grangeot i sar. (2006) su utvrdili da 1 od 3 tipa dlaka na listovima *A. artemisiifolia* utiče na zadržavanje herbicidnog rastvora glifosata i glufosinat-amonijum usled toga što na površini epidermisa lista postoji hidrofilni sloj.

Stome imaju funkciju u regulaciji razmene gasova između biljaka i spoljašne sredine. Pored toga, predstavljaju 1 od puteva za usvajanje folijarnih herbicida od strane biljaka (Liu, 2004; Wang and Liu, 2007), pri čemu je utvrđeno da veći broj stoma po jedinici površine lista obezbeđuje bolje usvajanje herbicida (Burkhardt et al., 2012), zbog tzv. rubnog efekta. Obično se nalaze na naličju lista, ali se u nešto manjem broju mogu naći i na licu. Broj stoma

po jedinici površine se menja sa razvojem biljaka, tako da je kod vrsta *E. crus-galli*, *S. viridis*, *C. album*, *A. theophrasti* i *Portulaca oleracea* L. zabeležen veći broj kod mlađih listova u odnosu na starije (Sanyal et al., 2006a; Sanyal et al., 2006b). Osim toga, Wise i sar. (2000) su utvrdili da je broj stoma po jedinici površine lista biljaka pamuka veći kod mlađih listova nego kod starijih. Ovo se može objasniti time što je ukupan broj stoma po listu konstantan, tj. sa povećanjem lisne površine se ne razvijaju nove stome, usled čega se smanjuje njihov broj po jedinici površine (Wise et al., 2000; Sanyal et al., 2006a). Na otvaranje i zatvaranje stoma utiču brojni abiotički faktori (svetlost, koncentracija CO₂, temperatura, snabdevanje biljke vodom i relativna vlažnost vazduha), pri čemu se prodor herbicida u biljke kroz stome može odvijati samo kada su otvorene i to kroz sloj kutikule koji se nalazi na površini zidova ćelija koje su u dodiru sa stominom dupljom. Stome koje imaju tanju kutikulu ćelija zatvaračica, propustljiviju za polarne supstance (usled toga što sadrži manje epikutikularnih voskova), predstavljaju podesnu putanju za prodiranje herbicida (Schreiber, 2005). Pod uticajem herbicida može doći do promena u brojnosti i građi stoma. Tako je imazamoks izazavao smanjenje broja stoma po jedinici površine kod tretiranih biljaka suncokreta (*Helianthus annuus* L.) u odnosu na netretirane, a pored smanjenja broja stoma, došlo je do promena i u njihovoj građi što je dovelo do gubitka njihove funkcije (Anastasov, 2010).

Na različitu osetljivost populacija iste korovske vrste prema herbicidima može uticati i razlika u anatomskoj građi biljaka. Monteiro i sar. (2015) su utvrdili da kod vrste *Arundo donax* L. dolazi do povećanja debljine tkiva lista sa porastom faze razvoja, ali da ove razlike u debljini tkiva nemaju statistički značajan uticaj na usvajanje i ispoljavanje efikasnosti glifosata primenjenog u različitim fazama razvoja ove vrste. Ipak, brojni su primeri da sa promenom faze razvoja dolazi do promena u anatomskoj građi lista biljaka, što ukazuje na mogućnost da te promene utiču na reakcije biljaka prema herbicidima. Tako je na primer kod biljaka pamuka potvrđeno da sa razvojem dolazi do zadebljana palisadnog tkiva, a time i mezofila lista (Wise et al., 2000). Osim što anatomska građa može uticati na osetljivost biljaka prema herbicidima, primena herbicida može da dovede do promena građe tkiva (Tuffi Santos et al., 2009) ili ćelijskih organela tretiranih biljaka (Pavlović i sar., 2013a,b), pri čemu su ove promene utvrđene u različitim tkivima korena, stabla, listova, kao i reproduktivnih organa (Tuffi Santos et al., 2009). Promene koje herbicidi izazivaju u anatomskoj građi biljaka zavise od više činilaca, kao što su: mehanizam delovanja herbicida, biljna vrsta, faza razvoja biljke tokom primene i druge. Pavlović et al. (2013a) su uočili oštećenja od glifosata na ćelijskom zidu i lamelama hloroplasta palisadnog tkiva kod listova soje. Takođe, glifosat

je kod biljnih vrsta *Eucalyptus* spp. i *A. theophrasti* izazavao promene u debljini lista, palisadnog i sunderastog tkiva, kao i glavnog nerva i epidermalnih ćelija lica (Ryerse et al., 2004; Tuffi Santos et al., 2009). Imazamoks je izazavao značajno povećanje debljine mezofilnog tkiva kod gajenog suncokreta tretiranog herbicidom imazamoks u odnosu na netretirane biljke (Anastasov, 2010).

2.5 Uticaj voskova lista na osetljivost korova prema herbicidima

Epikutikularni vosak zajedno sa kutikulom preko koje se nalazi, pored brojnih funkcija, predstavlja barijeru za prodiranje herbicida u listove (Ferreira and Reddy, 2000; Chachalis et al., 2001b; Ferreira et al., 2002). Hidrofobni epikutikularni vosak može biti amorfne, semikristalne ili kristalne prirode. Kristalni vosak smanjuje zadržavanje rastvora herbicida na površini kutikule u poređenju sa glatkom površinom. Pošto su epikutikularne kristalne voštane zone često nedostupne rastvorenim supstancama, one mogu usporiti prodiranje herbicida u tkivo lista. Površinske strukture epikutikularnih voskova mogu se razlikovati između biljnih vrsta ili čak među listovima pojedinačnih biljaka. Na listovima sa malo epikutikularnog voska depozit herbicida se širi na većoj površini, dok nasuprot tome, na listovima sa više razvijenim epikutikularnim voskom depozit herbicida pokriva manji deo lista. Što je manja količina herbicida u kontaktu sa površinom lista i apsorpcija je uglavnom manja (DiTomaso, 1999).

Pored epikutikularnog voska koji se nalazi na površini lista, kutikula uglavnom ima i unutrašnji sloj voska orijentisan upravno na površinu kutikule, koji je ugrađen unutar matrice kutina i označava se kao intrakutikularni vosak. Ovi voskovi mogu predstavljati put za apsorpciju nepolarnih herbicida. Polarni (hidrofilni) herbicidi se ne moraju aktivno transportovati kroz ove voskove jer se mogu lako kretati kroz susedni sloj kutina (DiTomaso, 1999). S obzirom da se intrakutikularni voskovi nalaze unutar membrane kutikule, oni imaju značajan uticaj na kretanje vode kroz njene membrane. Ovi voskovi su grupisani u kristalne i amorfne regione. Kristalni regioni imaju grupe alifatičnih molekula voskova nepropustljivih za vodu koji su gusto zbijeni, pri čemu se svaki molekul nalazi pod uglom od 90° u odnosu na površinu kutikule u pojedinačnim slojevima. Kristalni regioni su okruženi regionima koji su manje zbijeni i polarni što omogućava prolaz vode. Vremenom, tokom starenja lista, pojedinačni kristalni slojevi se lateralno izdužuju i povećavaju regione nepropustljive za vodu (Jenks and Hasegawa, 2005), što direktno dovodi do smanjenja mogućnosti usvajanja rastvora herbicida.

Mlađi listovi imaju tanju kutikulu, a tanja kutikula može biti jedan od razloga, ali ne i jedini, što su mlađe biljke osjetljivije prema herbicidima od starijih (Michitte et al., 2007; Carvalho et al., 2013). Lipofilne supstance, a među njima i pojedini herbicidi koji su u obliku formulacije pogodne za rastvaranje u lipidima (OD formulacije), se lakše transportuju kroz kutikulu sa debljom voštanom prevlakom (kod jagode i uljane repice), nego kroz kutikulu sa malom količinom voska (kod šećerne repe i kukuruza) (Baker et al., 1992). Može se zaključiti da uticaj prisustva i debljine voštane prevlake na usvajanje herbicida može biti različit. Lisek i sar. (2002) su došli do zaključka da je tolerantnost određenih sorti jagode prema herbicidima u direktnoj vezi sa debljinom kutikule i količinom epikutikularnih voskova. Čak i delovanje neselektivnog herbicida poput glifosata zavisi od forme voska. Tako je glifosat ispoljio slabije delovanje na *Brunnichia ovata* (Walt.) usled većeg sadržaja ugljovodonika u vosku, koji uslovljava hidrofobna svojstva i time smanjuje usvajanje rastvora herbicida u odnosu na *Campis radicans* L. koji je imao veći sadržaj alkohola u vosku, što je uslovljavalo hidrofilna svojstva i time omogućilo veće usvajanje rastvora herbicida (Chachalis et al., 2001a).

Osim debljine epikutikularnih voskova, na usvajanje rastvora herbicida utiču njihova fizičko-hemijska svojstva (Kerstiens, 1996), kao i razlike u sadržaju ovih voskova u listovima biljaka različite starosti (Schonherr and Baur, 1994). Sa aspekta hemijskog sastava, epikutikularni vosak predstavlja složenu smešu različitih organskih jedinjenja. Dominantno prisutna klasa jedinjenja su dugolančani *n*-alkani, i to dužine ugljeničnog lanca C₂₇-C₃₁. Pored alkana, u vosku se mogu naći i druga hemijska jedinjenja, npr. nezasićeni ugljovodonici, alkoholi, aldehidi, ketoni, kiseline, estri i druga srodna jedinjenja, kao i ciklična jedinjenja: triterpeni, derivati hidroksicimne kiseline, steroli i flavonoidi (Jovanović et al., 2016). Hatterman-Valenti i sar. (2011) su primenom tankoslojne hromatografije (TLC *thin layer chromatography*) utvrdili da se epikutikularni vosak *A. theophrasti* sastoji od masnih kiselina, primarnih alkohola, sekundarnih alkohola, estara i ugljovodonika. Ipak, hemijski sastav kutikularnog voska se menja tokom ontogenetskog razvoja lista. Rieder i Müller su (2006) detaljno proučavali kvalitativni sadržaj i hemijski sastav epikutikularnog voska na licu lista *Prunus laurocerasus* L. tokom ontogenetskog razvoja ove vrste. Dok se ukupna količina voskova konstantno povećavala tokom 60 dana trajanja razvoja i sazrevanja lista, relativni sadržaj se promenio 3 puta. Tokom prvih 10 dana razvoja lista u smeši voska je preovladavao alkil acetat, a nakon toga se postepeno smanjivao. On je zamenjen većim sadržajem primarnih alkohola čiji se sadržaj takođe smanjio nakon 10 dana, tako da je došlo do akumulacije alkana u vreme zrelosti lista.

Površinski voskovi se mogu analizirati kombinovanom metodom gasne hromatografije i masene spektrometrije. Jovanović i sar. (2015, 2016) su potvrdili da su obzirom na isparljivost voštanih jedinjenja, gasna hromatografija i masena spektrometrija (GC i MS) podesne za analizu/identifikaciju konstituenata smeše voska. Ova metoda je korišćena i pri istraživanju 3 klona topole (*Populus euramericana* cl. *Pannonia* (M1) i *Populus deltoides* cl. PE 19/66 i cl. B229 (Bora)), koji su uzgajani pod istim uslovima spoljašnje sredine usled čega su imali skoro istovetan hemijski sastav površinskog voska. Pokazalo se da je nonakozan bio dominantan sastojak, a identifikovani su i heksadekan, hentriakontan, oktadekan, tetradekanal i triakontan (Trudić i sar., 2013). Pomoću GC-MS metode je utvrđen sadržaj epikutikularnih voskova kod 8 populacija *Satureja montana* L. pri čemu je identifikovano 15 *n*-alkana homologa sa dužinom lanca u opsegu C₂₁-C₃₅, a najdominantniji *n*-alkan je nonakosan (C₂₉) (Todoš et al., 2015). Pored toga, sa gasnom hromatografijom (GC) i gasnom hromatografijom-masenom spektrometrijom (GC-MS) je utvrđeno da se *n*-alkani nalaze u proseku oko 10-12% kod *Pinus heldreichii* var. *pančići* Fukarek (Nikolić et al., 2010).

2.6 Nedestruktivne metode za ispitivanje reakcija biljaka prema herbicidima

Osetljivost biljaka prema herbicidima se može ispitivati primenom različitih destruktivnih ili invazivnih (podrazumevaju žrtvovanje biljaka) i nedestruktivnih (bez žrtvovanja biljaka, koje nesmetano nastavljaju rast i razvoj) metoda. Parametri koji se mogu pratiti nedestruktivnim metodama su vizuelna ocena, relativni sadržaja hlorofila (pomoću hlorofilmetra), parametri fluorescencije hlorofila i sadržaj karotenoida (pomoću Ramanove spektroskopije).

2.6.1 Očitavanje relativnog sadržaja hlorofila SPAD-metrom

S obzirom da hlorofili (zeleni pigmenti) učestvuju u fotosintezi i integralno su povezani sa fiziološkom funkcijom listova, stresno delovanje različitih faktora na biljke može se odraziti i na sadržaj hlorofila. Varijacije u sadržaju ovih pigmenata koje nastaju kao posledica delovanja različitih stresnih faktora (uključujući herbicide) mogu pružiti informacije o fiziološkom stanju listova. Promene u sadržaju hlorofila su najizrazitije pod uticajem herbicida čiji mehanizam delovanja je povezan sa procesom fotosinteze (Pavlovic et al.,

2006; Pavlovic et al., 2008), mada i herbicidi drugačijeg mehanizma delovanja mogu posredno uticati na promene u sadržaju hlorofila (Moldes et al., 2008; Pavlovic et al., 2013). Primenom herbicida koji deluju inhibitorno na fotosintezu blokira se transport elektrona i nastaje akumulacija radikala koji dovode do lipidne peroksidacije u membranama hloroplasta. Potom se ćelijske membrane urušavaju, gubi se sadržaj ćelija i sposobnost funkcionisanja ćelijskih organela poput hlorofila.

Određivanje sadržaja hlorofila u biljnom tkivu nakon ekstrakcije u metanolu, acetonu ili dimetilformamidu (DMF) podrazumeva žrtvovanje biljnog materijala. U više istraživanja je potvrđeno da je sadržaj hlorofila određen spektrofotometrijski nakon ekstrakcije iz listova u korelaciji sa očitavanjima pomoću prenosivog uređaja za merenje sadržaja hlorofila "SPAD-metra" (*Soil Plant Analysis Development*) (Uddling et al., 2007; Marengo et al., 2009; Ruiz-Espinoza et al., 2010; Ibrahim and Jaafar, 2013). Određivanje relativnog sadržaja hlorofila pomoću SPAD-metra je brz, efikasan i relativno pouzdan način za definisanje reakcija biljaka prema herbicidima. Merenje sadržaja hlorofila bez potrebe za žrtvovanjem biljaka omogućava praćenje više parametara na istoj biljci, istovremeno ili tokom perioda vremena, čime se dobijaju pouzdaniji i uporediviji podaci. Visoka osetljivost hloroplasta i hlorofila izolovanih iz biljke prema spoljašnjim faktorima može dovesti do donošenja pogrešnih zaključaka o sadržaju hlorofila. To se može prevazići primenom nedestruktivne metode zasnovane na očitavanju relativnog sadržaja hlorofila pomoću SPAD-metra. Osim za merenje sadržaja hlorofila (Fanaei et al., 2013), SPAD-metar se može koristiti i za ocenu ozelenosti listova biljaka izloženih stresnim uslovima nedostatka kiseonika (Boonlertnirun et al., 2013) i praćenje promena u biomasi i sadržaju azota (Shafagh-Kolvanagh et al., 2008; Naderi and Ghadiri, 2013). Određivanje relativnog sadržaja hlorofila pomoću SPAD-metra omogućava uočavanje stresnih efekata herbicida na biljke, na osnovu čega se može definisati nivo razlika u sadržaju hlorofila između netretiranih i tretiranih biljaka, kao i između biljaka različite osetljivosti na herbicide, što je potvrđeno u ispitivanjima uticaja atrazina na biljke *C. album* i *A. retroflexus* različite osetljivosti prema ovom herbicidu (Pavlovic et al., 2006; Pavlovic et al., 2008), kao i glifosata na korovsku vrstu *Conyza canadensis* (L) Cronquist (Pavlovic et al., 2013). U nekim slučajevima, očitavanje sadržaja hlorofila pomoću SPAD-metra se pokazalo kao preciznija metoda od destruktivne metode ekstrakcije hlorofila pomoću DMF-a (Pavlovic et al., 2006).

2.6.2 Očitavanje parametara fluorescencije hlorofila

Parametri fluorescencije hlorofila (najčešće odnos F_v/F_m) su se pokazali kao podesni za brzo utvrđivanje reakcija biljaka na herbicide, što se najčešće koristi za potvrđivanje rezistentnosti korova prema herbicidima. Tako su primenom ove metode Kaiser i sar. (2013) potvrdili rezistentnost *Alopecurus myosuroides* Huds. prema herbicidima fenoksaprop-P-etil i mezosulfuron-metil, a Wang i sar. (2018) rezistentnost *A. myosuroides* i *Apera spica-venti* L. prema različitim herbicidima iz grupe inhibitora enzima ALS (acetolaktat sintetaza) i ACC-aza (acetil koenzim A karboksilaza).

Fotosinteza je kompleksan proces, na koji utiču brojni faktori, usled čega promene u ovom procesu mogu da posluže kao indikator stresa, uključujući stres od delovanja herbicida na biljke, što se može iskoristiti za ispitivanje reakcija biljaka na herbicide. Molekuli hlorofila apsorbuju svetlosnu energiju koja se jednim delom koristi za proces fotosinteze (fotohemijaska energija), jednim delom se oslobađa u vidu toplote, dok se jedan deo reemituje kao svetlost, i taj proces se naziva fluorescencija hlorofila. Kada hlorofil apsorbuje svetlost, elektroni prelaze iz osnovnog u pobuđeno stanje, a pri njihovom povratku u osnovno stanje deo apsorbovane energije se rasipa. Ova svetlosna emisija poznata je kao fluorescencija. U tom slučaju zbog prelaska elektrona sa viših na niže energetske nivoe, izvesna količina apsorbovane energije se gubi kao toplota. Prema tome, ponovo emitovana svetlost ima manju energiju nego apsorbovana. Drugim rečima, talasna dužina fluorescentne svetlosti je uvek veća od apsorbovane. Hlorofli *a* u etarskom rastvoru apsorbuje na 430 i 665 nm, a fluorescira na 680 nm (Milo, 2009).

Parametari fluorescencije hlorofila koji reaguju na uticaj različitih stresnih faktora na proces fotosinteze su: maksimum fluorescencije u mraku (F_m), prinos fluorescencije u odsustvu aktinske svetlosti, tj. u nepobuđenom stanju (F_o), maksimum fluorescencije na svetlosti (F_m'), odnos varijabilne i maksimalne fluorescencije (F_v/F_m), efektivni prinos fluorescencije PSII (Φ_{PSII}) i dr. (Maxwell and Johnson, 2000). Optimalna vrednost parametra F_v/F_m za većinu biljnih vrsta iznosi 0,8 (Björkman and Demming, 1994). Vrednosti niže od 0,8 ukazuju da je proces fotosinteze smanjen pod uticajem nekih stresnih faktora među kojima može biti i stres izazavan delovanjem herbicida. Fluorescencija hlorofila je nedestruktivna metoda koja se koristi za brzu detekciju promena u metabolizmu listova čak i pre nego što je moguće vizuelno otkriti bilo kakav efekat na rast i razvoj u čemu se upravo ogleda prednost ove metode (Barbagallo et al., 2003), a pri tome očitavanje nema nikakvih štetnih efekata na ispitivanu biljku. Između ostalog, može se koristiti za praćenje kako

određena koncentracija herbicida utiče na fotohemiju listova tretiranih biljaka (Korres et al., 2003). Pored toga, merenjem fluorescencije listova se može pratiti i metabolizam herbicida u biljkama, što je potvrđeno za metabolizam metribuzina u soji, *A. theophrasti* i *Amaranthus hybridus* L. (Ahrens, 1989). Na fluorescenciju hlorofila mogu uticati herbicidi koji deluju na proces fotosinteze poput inhibitora fotosinteze u fotosistemu II (propanil, atrazin) (Norsworthy et al., 1998; Barbagallo et al., 2003), inhibitora 4-HPPD (mezotrion), (McCurdy et al., 2009), inhibitora protoporfirinogen oskidaze (bifenoks) (Barbagallo et al., 2003), ali i herbicida čiji mehanizam delovanja nije direktno povezan sa fotosintezom poput inhibitora EPSP sintetaze (glifosat) (Pavlović i sar., 2010), inhibitora ACCaze (fenoksaprop-P-etil) (Kaiser et al., 2013) i ALS inhibitora (mezosulfuron, jodsulfuron) (Kaiser et al., 2013). Različiti parametri fluorescencije hlorofila su se pokazali pogodnim za brzo utvrđivanje reakcije biljke na herbicide, uključujući otkrivanje rezistentnih biotipova korova. Tako je, rezistentnost biotipova *E. crus-galli* na herbicide propanil, fenoksaprop-P-etil, cihalofop-butil i penoksulam ovom metodom potvrđena u prirodu od 8 dana nakon primene herbicida (Zhang et al., 2016).

Uređaji za merenje fluorescencije hlorofila-fluorometri (PAM 2000 i PAM 2100), omogućavaju istraživanja fluorescencije hlorofila u polju, zahvaljujući tome što mere prinos fluorescencije čak i u uslovima pune osvetljenosti, a lako su prenosivi instrumenti (Rascher et al., 2000). U takvim uslovima je moguće merenje efektivnog prinosa fotosinteze P_{SII} (Φ_{PSII}) (Rascher et al., 2000), dok je za utvrđivanje potencijalnog prinosa fotosinteze P_{SII} (Fv/Fm) i dalje neophodna adaptacija fotosintetičkog aparata na mrak (Maxwell and Johnson, 2000).

2.6.3 Ramanova spektroskopija

U današnje vreme postoji veliki broj mikroskopskih, hemijskih i fizičkih metoda koje se koriste se da bi se bolje razumeo hemijski sastav i struktura biljnih ćelija, tkiva i organa (Gierlinger and Schwanninger, 2007). Ovo uključuje i Ramanovu spektroskopiju, koja se primenjuje preko 30 godina za ispitivanje biljnog materijala. U oblasti bioloških istraživanja prvo je primenjena u ispitivanjima traheida (Atalla and Agarwal, 1986). Tehnološki razvoj na polju filtera, detektora i lasera omogućio je da Ramanova spektroskopija postane pogodnija za istraživanja na biljnom materijalu (Agarwal, 2014). Takva istraživanja se obavljaju na makroskopskom i mikroskopskom nivou, omogućavajući 2- i 3- dimenzionalnu analizu posmatranog biljnog uzorka. Ramanova spektroskopija ima široku primenu, od istraživanja strukturnih polimera do sekundarnih metabolita i mineralnih supstanci (Gierlinger and

Schwanninger, 2007). To je relativno specifična spektroskopska tehnika koja meri razlike u strukturi funkcionalnih grupa koje sadrže veze kao što su C-C, C-O, C-H i O-H (Marquardt and Wold, 2004).

Mehanizmi odgovora biljaka na različite faktore stresa su se ranije istraživali primenom invazivnih metoda (poput ekstrakcije za spektrometriju i tečnu hromatografiju) za dobijanje uzoraka koji se koriste za analizu sadržaja karotenoida (Cserhati and Forgacs, 2001; Schoefs, 2002; Rys et al., 2015). Ove metode obično podrazumevaju dugačak proces pripreme uzoraka i skupu opremu za ekstrakciju i kvantifikaciju pigmenata. Dodatno, ove analitičke metode obično uključuju ekstrakciju pigmenata pomoću rastvarača i zahtevaju određene postupke tokom procesa koji mogu uticati na strukturu ili razaranje pigmenata (Baranski et al., 2005). S' druge strane, *in situ* analiza karotenoida pomoću Ramanove spektroskopije kao brze i nedestruktivne metode (Schrader et al. 1999; Baranski et al., 2005) može pružiti informacije o hemijskim komponentama u uzorku bez potrebe da se on prethodno priprema za analizu (Gierlinger and Schwanninger, 2007). Ramanova spektroskopija u kombinaciji sa svetlosnom mikroskopijom može pružiti informacije o funkcionalnim grupama molekula, u skladu sa jedinstvenim šablonima svetlosnog rasejavanja (Ramanov spektar) na ćelijskom nivou (Baranski et al., 2005). Zbog visoke Ramanove aktivnosti i rezonantnog efekta koji rezultuje u pojačavanju signala karotenoida ova tehnika ima veliki potencijal za procenu karotenoida nakon primene herbicida (Vitek et al., 2017). Dodatno, promene u karotenoidima lista se mogu primetiti na Ramanovim spektrima, pri čemu se intenzitet najvećeg i najspecifičnijeg pika može koristiti za izračunavanje njegove relativne koncentracije (Hassing et al., 2012).

Visoka spektralna i prostorna rezolucija Ramanove spektroskopije omogućava očitavanje hemijske heterogenosti na ćelijskom nivou (Piot et al., 2000). Njegova primena je od velikog značaja za istraživanje različitih tipova biljnih tkiva jer obezbeđuje informacije o sastavu i strukturi ćelijskih delova na molekularnom nivou, *in situ* bez bojenja i komplikovane pripreme uzoraka. Ramanovom spektrometrijom se mogu dobiti i kvalitativne i kvantitativne informacije o uzorku (Gierlinger and Schwanninger, 2007). Tako su primenom ove metode do sada rađene analize npr. celuloze i pektina (Gierlinger et al., 2010), karotenoida u plodu paradajza (Baranska et al., 2006; Qin et al., 2012), skroba, lipida i proteina u plodu pšenice (Manfait et al., 2004). Posebno je značajno to što Ramanova spektroskopija omogućava posebne prednosti za kvalitativnu i polu kvantitativnu analizu supstanci u biljnom materijalu, čak i ako su prisutne u malim koncentracijama, na nivou *ppm* (Baranska et al., 2004).

Ramanova spektroskopija je tehnika koja je potpuno suprotna svetlosnoj mikroskopiji, skenirajućoj elektronskoj mikroskopiji (SEM) i transmisivnoj elektronskoj mikroskopiji (TEM),

koje obezbeđuju samo morfološke informacije o analiziranom biljnom uzorku. Informacija dobijena Ramanovom spektroskopijom je dopuna informacijama koje se mogu dobiti infra crvenom (IR) spektroskopijom (Lang et al., 1986). Najčešće se morfološke karakteristike i biohemijski sastav pojedinačnih ćelija mogu okarakterisati različitim tipovima elektronske mikroskopije, florescentnom spektroskopijom i radiografijom. Međutim, te tehnike zahtevaju komplikovane procedure u pripremi uzoraka i analizi, i u većini slučajeva analitički uslovi ne dozvoljavaju merenja na živom materijalu (Baranski et al., 2005). Ramanova spektroskopija je alternativna metoda kojom se prevazilaze pomenuta ograničenja.

Iako su karotenoidi u listovima zastupljeni u malim koncentracijama (manje od 0,1 mg kg⁻¹) (Vitek et al., 2017), zbog specifičnog pobuđivanja Ramanovih spektara na talasnoj dužini 532 nm, detekcija karotenoida na ovom laseru se može postići Rezonantnom Ramanovom spektroskopijom. Prednosti Ramanove spektroskopije za detekciju karotenoida u poređenju sa analitičkim metodama (spektrofotometrijom i tečnom hromatografijom) podrazumevaju odsustvo ekstrakcije biljnih pigmenata i uticaja drugih faktora tokom pripreme uzoraka koji bi mogli dovesti i do strukturnih promena i destrukcije karotenoida (Baranski et al., 2005).

Pozicija svih pikova za karotenoide je specifična, ali zavisi od pozicije bočnih grupa karotenoida i broja kovalentnih veza, kao i interakcija sa drugim strukturnim jedinjenjima (Schulz et al., 2005; Baranska et al., 2006; Gierlinger and Schwanninger, 2007; de Oliveira et al., 2010). Pik na 1522 cm⁻¹ je u vezi sa dužinom polienskog lanca i može se pripisati karotenoidima sa 9 konjugovanih dvostrukih veza (Withnall et al., 2003; Baranski et al., 2005; Rys et al., 2014).

Schulz i sar. (2005) i Hassing i sar. (2012) su koristili pik na 1515 cm⁻¹ za identifikaciju čistog β -karotena, dok pik na 1522 cm⁻¹ predstavlja lutein. Oba pika podrazumevaju ukupni sadržaj karotenoida u uzorcima (Baranska et al., 2006, 2011; Rys et al., 2014). Lutein i β -karoten takođe imaju pikove visokog intenziteta na 1155 cm⁻¹ i srednjeg intenziteta na 1007 cm⁻¹ (Parker et al., 1999; Huang et al., 2010). Dodatno, neki pikovi se mogu videti Ramanovom spektroskopijom i ako imaju niži intenzitet od karotenoida na 1445 i 1604 cm⁻¹ i one se pripisuju fenolima (Schulz et al., 2005; Vitek et al., 2017). Njihov signal je uvek mnogo izraženiji u uslovima nerezonantnog Ramanovog pobuđivanja.

2.7 *Chenopodium album* L.

Chenopodium album L. (syn. *Chenopodium vulgare* Gueldenst) je jednogodišnja vrsta iz familije *Amaranthaceae*, u narodu poznata pod raznim imenima (pepeljuga, bela loboda, zelje). Vodi poreklo iz Evrope (DiTomaso and Healy, 2007), a preferira zemljišta bogata azotom. U današnje vreme je kosmopolitski korov i javlja se na svim kontinentima, naročito u umerenim klimatskim regionima, a areal rasprostranjenosti se kreće od 70° severne, pa sve do 50° južne geografske širine (DiTomaso and Healy, 2007; Bryson and DeFelice, 2010). Značajna je korovska vrsta na obradivim površinama, a može se naći na oranicama, pašnjacima, povrtnjacima, vinogradima, voćnjacima, ali i pored puteva. Sreće se na različitim tipovima zemljišta, a najbolje se razvija na obradivim površinama koja su bogate kalcijumom (DiTomaso and Healy, 2007). Izaziva značajne gubitke prinosa u svim usevima u kojima je prisutna, a u usevu kukurza oni mogu dostići do 70% (Sarabi et al., 2012). Jako alelopatско delovanje ove vrste može smanjiti klijavost i rast drugih vrsta (Jafari et al., 2007).

Ponik *C. album* ima linearne listiće kotiledona, koji su na vrhu zaokrugljeni. Listovi ponika su sa lica tamno zelene boje, a sa naličja crvenkaste pri čemu su 1. listovi naspramni i rombičnog oblika. Biljke su obično visine između 10-250 cm, razgranatog glavnog stabla, žuto-smeđe boje. Stablo je naborano i često prožeto ljubičastom ili crvenom bojom. Listovi su naizmenično raspoređeni, uglavnom glatki nazubljenog ruba, sa peteljkom i bez zaperaka, ovalno-lancelatnog oblika, tamno ili svetlo zelene boje, sa bledom pepeljastom prevlakom i obrasli sitnim dlačicama, a na poprečnom preseku dorzo-ventralne građe (Vranješ i sar., 2017). Smatra se da voštana prevlaka na površini lista predstavlja barijeru za apsorpciju herbicida (Burghardt et al., 2006). Dlake su gušće na donjoj strani lista, što naličje lista čini svetlijim od lica lista (Mastebroek et al., 1996). Biljke su monoecične, sa potpunim cvetovima. Cvetovi su hermafroditni i uglavnom se oprašuju vetrom. Cvast je velika, metličasta, i može biti i aksilarna i terminalna (Bassett and Crompton, 1978). Semena *C. album* u zemljištu zadržavaju klijavost 20-40 godina. Crne su boje i odlikuje ih visok stepen heterogenosti na morfološkom, citološkom i molekularnom nivou (Bhargava et al., 2006, 2008; Rana et al., 2010). Zbog brzog rasta i proizvodnje velike količine sitnog semena, može da se razvije i nekoliko generacija u 1 sezoni (Bouwmeester and Karssen, 1993).

U pogledu životnog ciklusa *C. album* je kasnoprolećna vrsta koja obično niče od aprila do juna, a period njene vegetacije traje od 160 – 200 dana, kada su dnevne temperature iznad 5,5°C. Kao jednogodišnja zeljasta biljka, razmnožava se samo semenom (Bassett and Crompton, 1978). Proizvodi 2 tipa semena zavisno od fotoperioda: crna semena koja su

dormantna i razvijaju se u periodu dugog dana i braon krupnija nedormantna semena koja se razvijaju u uslovima kratkog dana (DiTomaso and Healy, 2007).

U Srbiji i svetu je registrovan veliki broj herbicida namenjenih za suzbijanje *C. album* u različitim usevima, a 1 od njih je i mezotrion. Ukoliko se mezotrion primenjuje u preporučenoj količini od 120 g a.s. ha⁻¹, ispoljava veoma visoku efikasnost (preko 95%) u suzbijanju *C. album* (Elezović i sar., 2003; Radivojević i sar., 2014). Pokazalo se da ukoliko se mezotrion primenjuje folijarno u ranim fazama porasta *C. album* od 2 do 4 lista, visoka efikasnost se postiže i pri količini primene do 35 g a.s. ha⁻¹ što je značajno niže od preporučenih 120 g a.s. ha⁻¹ (Armel et al., 2003; Pannacci and Covarelli, 2009; Nurse et al., 2010). U svetu je utvrđena rezistentnost *C. album* na sledeće aktivne supstance: atrazin, metamitron, metribuzin, tifensulfuron-metil, tribenuron-metil, cijanizin, lenacil, terbutrin, simazin, imazetapir, nikosulfuron, imazamoks (Heap, 2019). U Srbiji je potvrđena smanjena osetljivost *C. album* na herbicide inhibitore FS II tj. atrazin (Janjić i sar., 1994; Janjić et al., 1995). S obzirom da se na ovoj listi ne nalazi mezotrion, njegova upotreba može biti dobro rešenje za suzbijanje populacija *C. album* koje su razvile rezistentnost na herbicide drugačijeg mehanizma delovanja.

2.8 **Abutilon theophrasti Medik.**

Abutilon theophrasti Medik. (syn. *A. avicennae* Gaertn.) je jednogodišnja vrsta iz familije *Malvaceae*, u narodu poznata pod raznim imenima (teofrastova lipica, lipica, žutoslez). Vodi poreklo iz Kine, ali se raširio u Aziji, Evropi, severnoj Africi, severnoj i južnoj Americi i Australiji, gde se javlja kao korov na obradivom zemljištu i na smetlištima, pogotovo u Jugoistočnoj Evropi i na Mediteranu (Kovacs et al., 2006; Kruger et al., 2009; Westerman et al., 2012; Follak et al., 2014; Vrbničanin i Božić, 2017). Najviše mu odgovaraju zemljišta bogata hranivima i pogodna za poljoprivrednu proizvodnju. Zato se najčešće javlja u okopavinama i to u usevima kukuruza, suncokreta, soje, šećerne repe, povrtnjacima (Warwick and Black, 1988). Osim toga, *A. theophrasti* se smatra izrazitim kompetitorom za hranljive materije, vodu, svetlost i nadzemni životni prostor. U usevu kukuruza može izazvati smanjenje prinosa i do 34% (Kovacs et al., 2006).

A. theophrasti formira uspravni nadzemni izdanak koji može biti nerazgranat ili pri vrhu granat, najčešće visine od 50 do 150 cm (Božić i sar., 2015a). Na stablu se nalaze srcoliki listovi na dugačkim drškama. Listovi su obrasli gustim beličastim dlakama i ta dlakavost je naročito izražena na epidermisu lica. Ima žute do žuto-narandžaste cvetove koji su

hermafroditni i aktinomorfni. Plod je čaura, crne boje, okruglo-pljosnatog oblika, prečnika do 3 cm (Božić i sar., 2015a). Seme je bubrežasto, ovalnog, srcolikog oblika takođe crne boje (Warwick and Black, 1988).

Ponik *A. theophrasti* ima okruglaste listiće kotiledona, koji su srcasti pri osnovi i nalaze se na drškama. Listovi ponika su jajoliki sa srcastom osnovom, sitno testerastog oblika po obodu i dlakavi. Hipokotil je debeo, slabo dlakav i zelenkaste boje. U pogledu životnog ciklusa *A. theophrasti* je kasnoprolećna vrsta koja klija i niče od aprila do maja, pri optimalnim temperaturama zemljišta od oko 16-20°C kada je seme na dubini manjoj od 10 cm, a cveta i plodonosi u periodu od juna do septembra. To je jednogodišnja zeljasta biljka, dakle, razmnožava se samo semenom.

Biološke i ekološke karakteristike *A. theophrasti* čine izuzetno konkurentnim u odnosu na gajene biljke, a otežavaju i njegovo suzbijanje. Listovi *A. theophrasti* imaju dlake koje povećavaju površinu koja dolazi u kontakt sa primenjenim herbicidom, odnosno, smanjuju količinu herbicida koja dolazi u kontakt sa površinom lista (Warwick and Black, 1988). Osim toga, imaju stome i dlake sa obe strane (na licu i naličju), mada je njihova brojnost veća na naličju lista. Kod *A. theophrasti* su prisutne zvezdaste dlake sa više od 12 zraka. Ove dlake su konusnog oblika sa tupim vrhom i u 1 zraku je prisutno 10-12 ćelija (Shaheen et al., 2009). Problem predstavljaju i relativno krupna semena, koja kličaju neujednačeno i time otežavaju suzbijanje ove korovske vrste. Osim kompetitivnih karakteristika, korovska vrsta *A. theophrasti* poseduje visok alelopatski potencijal zahvaljujući čemu inhibira klijanje i rast konkurentskih biljaka, čime stiče kompetitivnu prednost (Kazinczi et al., 2001; Šćepanović et al., 2007).

Ukoliko se mezotrion primenjuje u preporučenoj količini od 120 g a.s. ha⁻¹, ispoljava veoma visoku efikasnost (preko 95%) u suzbijanju *A. theophrasti* (Elezović i sar., 2003; Radivojević i sar., 2014). Pokazalo se da ukoliko se mezotrion primenjuje folijarno u ranim fazama porasta *A. theophrasti* do 4 lista, visoka efikasnost se postiže i pri količini primene do 35 g a.s. ha⁻¹ što je značajno niže od preporučenih 120 g a.s. ha⁻¹ (Armel et al., 2003; Pannacci and Covarelli, 2009; Nurse et al., 2010). U Srbiji i svetu je potvrđena rezistentnost *A. theophrasti* samo na atrazin (Pavlović et al., 2007; Heap, 2019). Ali bez obzira na to, postoje problemi sa adekvatnim hemijskim suzbijanjem zbog jako razvučenog perioda klijanja i nicanja tokom sezone. Pošto *A. theophrasti* klija tokom čitave sezone, veoma ga je teško suzbiti herbicidima, jer uvek 1 deo populacije biljaka preživi i proizvede seme. Uspešnost suzbijanja nakon nicanja zavisi od pravovremene primene herbicida, koji se mora primeniti kada ova vrsta ima 2-4 lista (Warwick and Black, 1988). Bez obzira na to što ima i

drugih herbicida koji ga efikasno suzbijaju, mezotrion je značajan upravo zbog tog razvučenog perioda primene i mogućnosti da se u kukuruзу primenjuje duže od drugih herbicida, tako da se njime mogu suzbijati kasnije iznikle biljke.

2.9 Mezotrion

Mezotrion (IUPAC 2-[4-(methylsulfonyl)-2-nitrobenzoyl]cyclohexane-1,3-dione), je herbicid koji pripada hemijskoj grupi triketona, benzoilcikloheksan-1,3 diona koji su hemijskim putem dobijeni iz biljke *Callistemon citrinus* (Curtis) Skeels (Mitchell et al., 2001). Kompanija Syngenta je razvila i 1. registrovala proizvod na bazi mezotriona 2001. godine (Mitchell et al., 2001). Mezotrion je selektivan za kukuruz zahvaljujući njegovom drugačijem metabolizmu (do 4-hidroksi derivata) u odnosu na korovske vrste i zbog sporijeg folijarnog usvajanja od strane kukuruza, pa se koristi za suzbijanje širokolisnih korova u usevu kukuruza. Mezotrion može biti usvojen folijarno ili korenom i ispoljava aktivnost pre i nakon nicanja useva (Armel et al., 2003). Nakon folijarne primene osetljive vrste ga brzo apsorbuju i translociraju akropetalno i bazipetalno. Simptomi delovanja mezotriona kod osetljivih biljaka postaju vidljivi u roku od 3 do 5 dana nakon primene i ispoljavaju se u vidu izbeljivanja listova, a zatim se javlja nekroza (Creech et al., 2004; Joy et al., 2009). Mezotrion katalizuje konverziju tirozina do plastokinona i α -tokoferola, odnosno inhibira enzim 4-hidroksi fenil piruvat dioksidgenaza (HPPD), što dovodi do smanjenja biosinteze karotenoida, usled čega dolazi do izbeljivanja tkiva i uvenuća biljke. Korovi ga folijarno usvajaju što dovodi do nekroze meristemskog tkiva (Mitchell et al., 2001). S obzirom na mehanizam delovanja mezotrion utiče na proces fotosinteze. Tako su Chreech i sar. (2004) utvrdili da je mezotrion značajno smanjio fotosintezu kod svih ispitivanih vrsta osim kukuruza i *S. viridis* u odnosu na netretiranu kontrolu. Smanjenje fotosinteze je trajalo sve do uvenuća test biljaka *E. crus-galli*, *A. theophrasti* i *A. retrolexus*, ali ne i *S. viridis*. Kod osetljivih biljaka tretiranih mezotrionom, smanjenje u fotosintezi nije postalo očigledno do 3. dana nakon tretiranja. Kukuruz ne podleže oštećenju od mezotriona zbog kombinacije slabog folijarnog usvajanja i brzog metaboličkog razlaganja herbicida. Smanjenje fotosinteze, korespondira sa smanjenjem suve mase u odnosu na netretirane biljke (Creech et al., 2004).

Mezotrion je efikasan u suzbijanju sledećih korova: *C. album*, *A. retroflexus*, *A. theophrasti*, *Polygonum pensylvanicum* L., *X. strumarium*, *A. artemisiifolia*, *Sonchus oleraceus* L. (Sutton et al., 2002; Armel et al., 2003; Nurse et al., 2010), ali postoji i slabo

delovanje na uskolisne korove (Johnson and Young, 2002). Da bi se mezotrion uspešno koristio za maksimalnu zaštitu kukuruza od korova, radi proširenja spektra delovanja na veći broj korova, pre svega uskolisnih, potrebno ga je kombinovati sa herbicidima iz drugih hemijskih grupa, kao na primer sa sulfonilureama (Mitchell et al., 2001; Radivojević i sar., 2012, 2014). Perzistentnost mezotriona u zemljištu je relativno kratka sa poluvremenom raspada od 5 do 15 dana (Johnson and Young, 2002), tako da je pravilna količina i vreme primene od suštinskog značaja za suzbijanje korova.

Uticao mezotriona na korovske vrste zavisi od njegove apsorpcije, translokacije i metabolizma kao i faktora koji utiču na ove procese. Apsorpcija mezotriona se može odvijati kroz kutikulu, stome i/ili pukotine nastale oštećenjima. Njegovo usvajanje zavisi od biljne vrste, odnosno od karakteristika njihove lisne površine (prisustva dlaka, voskova i sl.). Mitchell i sar. (2001) su utvrdili da *C. album* i *I. hederacea* usvajaju do 90% mezotriona u prvih 24 h nakon primene. Nasuprot tome, Armel i sar. (2005) su konstantovali da je vrsta *Cirsium arvense* L. usvojila oko 70% ovog herbicida u roku od 72 h nakon tretiranja, što dovodi do smanjene osetljivosti ove vrste na delovanje herbicida mezotrion u odnosu na jednogodišnje vrste. Osim toga, u okviru iste vrste apsorpcija može da se razlikuje u zavisnosti od nivoa osetljivosti hibrida na herbicid. Kod hibrida merkantilnog sirka je utvrđeno veoma slabo folijarno usvajanje mezotriona, čak i manje u odnosu na kukuruz (Joy et al., 2009). Uzrok ovome može biti prisustvo velikog broja čekinja-dlačica na listu (dlaka sa lukovičastom osnovom i ostrim vrhom) i veće količine voskova na listovima. Translokacija mezotriona se odvija sistemom provodnih sudova, odnosno ksilemom i floemom. U ispitivanju translokacije mezotriona pokazalo se da je translokacija mezotriona iz tretiranih listova bila približno ista u tolerantnim i osetljivim hibridima sirka i u veoma malim količinama kod kukuruza, soje i *C. arvense* (Mitchell et al., 2001; Armel et al., 2005; Joy et al., 2009). Sveukupno manje od 30% usvojenog mezotriona se translociralo sa površine lista preko koje je usvojen. Tolerantne vrste imaju sposobnost da metabolišu herbicid brže i intenzivnije u odnosu na osetljive vrste (Joy et al., 2009). Iz tog razloga se pretpostavlja da se tolerantnost gajenih biljaka sirka i kukuruza zasniva na bržem metabolizmu u odnosu na osetljive vrste (Joy et al., 2009). Armel i sar. (2005) su utvrdili da se kod *C. arvense* nakon primene mezotriona mogu izolovati 2 metabolita ovog herbicida: MNBA [4-(metilsulfonyl)-2-nitrobenzoic acid] i AMBA [2-amino-4-(metilsulfonyl) benzoic acid]. Joy i sar. (2009) su nakon primene mezotriona na osetljivi i tolerantni hibrid sirka detektovali iste ove metabolite. Pokazalo se da hibridi sirka tolerantniji na mezotrion brže metabolišu ovaj herbicid do 10% u odnosu na osetljivije hibride (Joy et al., 2009).

3 MATERIJAL I METODE

3.1 Biljni materijal

Semena *C. album* i *A. theophrasti* su prikupljena tokom vegetacione sezone 2015. godine sa njive na kojoj je gajen usev suncokreta u okolini Beograda (44°49'31,0''N, 20°10'06,2''E). Tokom te godine primenjeni su sledeći herbicidi: terbutilazin (770 g a.s. ha⁻¹), S-metolahlor (1170 g a.s. ha⁻¹) i imazamoks (32 g a.s. ha⁻¹). Sakupljena semena su očišćena i čuvana u mraku na sobnoj temperaturi (20-25°C). Eksperimenti su realizovani u laboratorijama Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu tokom 2016-2017. godine. Za potrebe ispitivanja biljke *C. album* i *A. theophrasti* su gajene u komori za gajenje biljaka (Slika 1). Ispitivane korovske vrste su posejane u plastične saksije prečnika 10 cm i zapremine 300 ml, ispunjene supstratom Floragard TKS 1¹. Saksije sa biljkama su potom stavljene u komore za gajenje sa režimom svetlosti (dan/noć) 14 h/10 h i odgovarajućim temperaturama 27°C/22°C. Podešeno je veštačko svetlo intenziteta 1300 fluksa (MH Philips 600W) na visini od 1 metar. Biljke su zalivane svakodnevno zapreminom vode koja je obezbedila optimalnu vlažnost zemljišta. Nakon nicanja broj biljaka je raščupavanjem sveden na 4 biljke po saksiji.



Slika 1. Biljke *C. album* u komori za gajenje biljaka

¹ "Floragard TKS1" (pH vrednost 5.6 sa sadržajem: 80% nemački beli treset+20% nemački crni treset+kreč+makroelementi N 140 mg l⁻¹, P 80 mg l⁻¹, K 190 mg l⁻¹ i mikroelementi (Mg, B, Mn, Mo, Fe, Zn), Nemačka)

3.2 Herbicid

Za ispitivanje reakcija *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu korišćen je preparat Skaut² koji je registrovan za suzbijanje širokolisnih korova u usevu kukuruza uz primenu ađuvanta Alteox wet 40³. Izbor herbicida za ispitivanje osetljivosti korovskih vrsta izvršen je na osnovu aktuelne primene herbicida u poljoprivrednoj proizvođačkoj praksi u Srbiji i do sada utvrđenih podataka o nivou osetljivosti korovskih vrsta na delovanje proizvoda na bazi a.s. mezotrion. Kako se za primenu a.s. mezotrion u Srbiji i pojedinim zemljama u okruženju preporučuje dodavanje ađuvanta, u eksperimente je uključen i ađuvant na bazi mineralnog ulja.

3.3 Metode

3.3.1 Osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka

Osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu u različitim fazama početnog razvoja biljaka je utvrđena na osnovu primene preporučene količine herbicida mezotrion (120 g a.s. ha⁻¹) na biljke u različitim fazama razvoja (*C. album*: 2, 4, 6, 8 i 10 razvijenih listova, *A. theophrasti*: 1, 2, 3, 4 i 5 razvijenih listova). Faze su odabrane na osnovu rezultata preliminarnih istraživanja. Kada su biljke dostigle navedene faze primenjena je preporučena količina (120 g a.s. ha⁻¹) preparata Skaut uz dodatak ađuvanta Alteox wet 40 (a.s. mineralno ulje (500 g l⁻¹) i polioksi alkohol (500 g l⁻¹)) u količini 1 l ha⁻¹. Herbicid je primenjen laboratorijskom prskalicom koja rasprskava 200 l vode po hektaru pod pritiskom 276 KPa. Za svaku ispitivanu fazu razvoja je obezbeđen isti broj netretiranih biljaka (kontrola). Efekat herbicida je ocenjen tako što je 14 dana nakon primene (DNP) herbicida uzorkovana nadzemna sveža masa biljaka, a nakon 7 dana sušenja na sobnoj temperaturi do postizanja kontantne suve mase je izmerena suva masa biljaka. Eksperiment je ponavljen 2 puta po potpuno slučajnom blok sistemu u 4 ponavljanja.

² "Skaut" (mezotrion 480 g l⁻¹, SC, Galenika Fitofarmacija, Srbija)

³ "Alteox wet 40" (mineralno ulje (500 g l⁻¹)+polioksi sorbitol oleate (300 g l⁻¹)+polioksitridecil alkohol (200 g l⁻¹), Galenika Fitofarmacija, Srbija)

3.3.2 Reakcije biljaka *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Na osnovu ispitivanja osetljivosti biljaka prema mezotrionu u različitim fazama razvoja utvrđeno je da je *C. album* najosetljiviji prema mezotrionu u fazi 4 lista, a *A. theophrasti* u fazi 2 lista što se može smatrati najpodesnijim fazama za primenu mezotriona u suzbijanju ovih vrsta. U odabranim fazama su urađena detaljna ispitivanja reakcija biljaka ovih vrsta na rastuće količine mezotriona, na osnovu čega su izračunate efektivne doze herbicida: ED₅₀, ED₉₀ i ED₉₅.

Na biljke *C. album* u fazi 4 razvijena lista i *A. theophrasti* u fazi 2 razvijena lista mezotrion (Skaut) je primenjen u sledećim količinama 3,75, 7,5, 15, 30, 60 i 120 g a.s. ha⁻¹ i u svim tretmanima je dodat adjuvant Alteox wet 40 (a.s. mineralno ulje (500 g l⁻¹) i polioksi alkohol (500 g l⁻¹)) u količini 1 l ha⁻¹. Netretirane biljke su uključene kao kontrola. Herbicid je primenjen pomoću laboratorijske prskalice koja rasprskava 200 l ha⁻¹ rastvora, pri pritisku od 276 kPa. Ocena efekata herbicida je urađena na osnovu merenja nadzemne suve mase biljaka, tako što je 14 DNP herbicida uzorkovana nadzemna biomasa, a nakon 7 dana sušenja na sobnoj temperaturi (oko 25°C) izmerena je suva masa biljaka. Eksperimentalni dizajn je bio potpuno slučajni blok sistem, pri čemu je u svaki tretman (količinu primene) bilo uključeno po 4 biljke, a ceo eksperiment je ponovljen 2 puta. Ogljed za utvrđivanje efekata mezotriona na intenzitet ozelenelosti lista, relativni sadržaj i fluorescenciju hlorofila je postavljen na isti način kao i za određivanje efektivnih doza na osnovu suve mase biljaka. Navedeni parametri su mereni 3 DNP herbicida. Biljke na kojima su mereni parametri fluorescencije hlorofila 2 h pre merenja su držane u mraku. Fluorometar PAM-2100⁴ je korišćen za očitavanje sledećih parametara: maksimalni (Fv/Fm-odnos varijabilne i maksimalne fluorescencije) i efektivni (Φ_{PSII}) prinos fluorescencije PSII, koji je apsorbovao kvantum svetlosti (Slika 2). Merenja su obavljena na središnjem delu potpuno razvijenog najmlađeg lista svake biljke. Intenzitet ozelenelosti listova (SPAD očitavanja), koji je u korelaciji sa sadržajem hlorofila očitavan je sa prenosivim hlorofilmetrom SPAD-502⁵. Relativni sadržaj hlorofila u listu se procenjuje na osnovu izmerene transmitovane svetlosti crvenog i infracrvenog dela spektra (Gratani, 1992). Očitavanje je rađeno u središnjem delu potpuno razvijenog najmlađeg lista svake biljke (Slika 3). Očitane SPAD vrednosti su pomoću standardne krive preračunate u relativni sadržaj hlorofila (RSH).

Standardna kriva za preračunavanje SPAD vrednosti u relativni sadržaj hlorofila je napravljena na osnovu očitanih SPAD vrednosti i utvrđenog stvarnog sadržaja hlorofila

⁴ PAM-2100 (Heinz Walz, Effeltrich, Nemačka)

⁵ SPAD-502 (Minolta Corp., Ramsey, NJ, SAD)

(nakon ekstrakcije u acetonu) u istim uzorcima. Sadržaj ukupnog hlorofila u listu određen je iz uzoraka mase oko 0,5 g, koji su do ekstrakcije čuvani na temperaturi od -20°C , u mraku. Odmrznuti uzorci su homogenizovani u avanu uz postepeno dodavanje 5 ml ledeno hladnog 80% rastvora acetona. Da bi se izbegla fotodestrukcija hlorofila, ekstrakcija je urađena pri slaboj svetlosti. Nakon ispiranja sa 5 ml acetona, homogenat je centrifugiran na 2000 g u trajanju 10 minuta. Dobijeni supernatant je čuvan u frižideru (u zatamnjenoj posudi) do očitavanja na spektrofotometru. Apsorpcija svetlosti je očitavana na talasnim dužinama: 663nm (hlorofil *a*), 646nm (hlorofil *b*), a koncentracija hlorofila *a* i *b* je izračunata po Wellburnu (1994):

$$\text{hlorofil } a: c_a=12.21A_{663}-2.81A_{646}; \quad \text{hlorofil } b: c_b=20.13A_{646}-5.03A_{663}$$

Na osnovu preračuna dobijene su koncentracije hlorofila izražene u $\mu\text{g/ml}$, koje su u mg/g sveže mase lista preračunate pomoću formule: $C=c \cdot V \cdot R / m \cdot 1000$, gde je: *C*-koncentracija pigmenta (mg/g), *c*-koncentracija pigmenta ($\mu\text{g/ml}$), *V*-ukupna zapremina ekstrakta (ml), *R*-faktor razblaženja (ukoliko je ekstrakt razblaživan), *m*-masa svežeg uzorka lista (g), 1000-faktor za prevođenje μg u mg .



Slika 2. Fluorometar PAM-2100



Slika 3. Hlorofilmetar SPAD-502

3.3.3 Sadržaj karotenoida u listovima *C. album* i *A. theophrasti*

Sadržaj karotenoida u listovima biljaka *C. album* i *A. theophrasti* je određen spektrofotometrijski pomoću Raman spektrometra XploRA (Horiba Jobin Yvon). Kada su biljke dostigle odgovarajuću fazu razvoja (*C. album* 4 lista, odnosno *A. theophrasti* fazu 2 lista), primenjen je preparat Skaut (a.s. mezotrion 480 g l⁻¹, SC) u količini od 120 g a.s. ha⁻¹ uz dodatak ađuvanta Alteox wet 40 (a.s. mineralno ulje (500 g l⁻¹) i polioksi alkohol (500 g l⁻¹)) u količini 1 l ha⁻¹. Snimanje listova Ramanovom spektroskopijom je urađeno 1, 2, 3. i 7. DNP mezotriona. Ramanovo rasejavanje svetlosti je pobuđeno Nd/YAG laserom na talasnoj dužini od 532 nm sa maksimalnom snagom lasera na uzorku od oko 20-25mW i rešetkom od 1200 linija mm⁻¹ pri čemu su spektri zabeleženi pri izlaganju uzoraka laseru u trajanju od 1 sekunde i jednokratnim skeniranjem uzoraka, sa korekcijom filtera od 10%. Za kalibraciju je korišćen silikon sa karakterističnim pikom na 520,47 cm⁻¹. Opseg spektra je analiziran u intervalu od 800 do 1800 cm⁻¹. U okviru ovog opsega, identifikovani su specifični vibracioni moduli karotenoida i hlorofila. Pobuđenost spektra je kontrolisana pomoću softvera LabSpec (Horiba Jobin Yvon) i analizirana pomoću programskog paketa Origin 8.6⁶. Na svim dobijenim spektrima su korigovane bazne linije i normalizovani intenziteti pomoću karakterističnog pika na poziciji 1522 cm⁻¹.

⁶ OriginLab, Northampton, MA, SAD

Biljke *C. album* i *A. theophrasti* (tretirane i netretirane) su kao pripadnici dikotiledonih korova veome slične u smislu njihovog hemijskog sastava, naročito sadržaja i sastava karotenoida i hlorofila. Da bi se potvrdila ova činjenica, urađena je PCA analiza (*Principal Component Analysis*) Ramanovih spektara dobijenih sa tretiranih i netretiranih listova *C. album* i *A. theophrasti*, tokom perioda od 1 do 7 DNP mezotriona. Za PCA analizu su korišćeni podaci koji su normalizovani najvišim intenzitetom pika i korišćenjem opsega spektra od 950 do 1650 cm^{-1} što se uglavnom pripisuje prisustvu karotenoida. Predprocesuiranje spektara je izvršeno pomoću softvera Spectragryph (Menges, 2018 "Spectragryph-optical spectroscopy software", Version 1.2.8, 2018, <http://www.ffmpeg2.de/spectragryph/>). PCA analiza je urađena pomoću PAST softvera (Hammer et al., 2001: PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm).

Ramanova spektroskopija je odabrana kao odgovarajuća metoda za analizu karotenoida, jer ne zahteva pripremu uzorka. Pored toga, ova metoda je neinvazivna jer ne zahteva „žrtvovanje“ biljaka tako da se one mogu koristiti za dalja ispitivanja. Pojedinačna merenja su izvršena na različitim mestima na listovima biljaka *C. album* i *A. theophrasti*. Kako bi se uzela u obzir nehomogenost uzorka, svaki uzorak lista je sniman najmanje 10 puta, a zatim je korišćen prosečan spektar kao reprezentativni spektar za svaki tretirani i netretirani list. Eksperiment je ponovljen 2 puta po potpuno slučajnom blok sistemu sa 4 ponavljanja po tretmanu.

Sadržaj karotenoida u listovima *C. album* i *A. theophrasti* je određen 7 DNP mezotriona i metodom ekstrakcije u acetonu, po potpuno istom postupku kao i sadržaj hlorofila. Karotenoidi su ekstrahovani iz netretiranih i biljaka tretiranih mezotrionom koju su prethodno korišćene za očitavanja sadržaja karotenoida pomoću Ramanove spektroskopije. Za izračunavanje sadržaja karotenoida na osnovu očitanih vrednosti apsorpcije korišćena je formula:

$$c_k = (1000A_{470} - 3,27c_a - 104C_b) / 198.$$

3.3.4 Anatomska građa lista *C. album* i *A. theophrasti*

Za proučavanje anatomske građe lista (debljina epidermisa lica lista, naličja lista, palisadnog tkiva, sunđerastog tkiva, mezofilnog tkiva i ukupna debljina lista) uzorkovani su listovi sa biljaka *C. album* u fazi 10, odnosno *A. theophrasti* u fazi 5 razvijenih listova. Na

osnovu starosti i veličine, listovi obe vrste su podeljeni u 5 poduzoraka (tretmana) po vrsti, koji odgovaraju spratovima (poziciji) listova na biljci i svaki tretman je sadržao po 5 listova. Listovi različite starosti, odnosno uzeti sa različitih pozicija na biljci simuliraju različite faze razvoja biljaka. Do izrade trajnih preparata za svetlosnu mikroskopiju uzorci su čuvani u 50% etanolu. Mikroskopski preparati su pripremljeni standardnom parafinskom metodom (Ruzin, 1999). Dehidracija uzoraka je urađena pomoću automatskog tkivnog procesora (Leica TP1020) kroz seriju rastvora etanola rastuće koncentracije. Nakon prosvetljavanja ksilolom tkivo je postepeno impregnirano parafinom. Uzorci ukalupljeni u Histowax (na 56-58°C) su ohlađeni na hladnoj ploči (Leica EG1130), a kalupi zatim sečeni na debljinu od 5-7 µm kliznim mikrotomom (Leica SM 2000 R) i ispravljeni na vodenom kupatilu. Deparafinizacija i rehidracija preseka je urađena uranjanjem predmetnih pločica sa zalepljenim presecima u ksilol, a zatim u seriju rastvora etanola različitih koncentracija. Anatomske presece su obojeni histološkim bojama safraninom i alcijan plavom (Ruzin, 1999). Proces deparafinizacije, rehidracije, bojenja, a zatim ponovne dehidracije preseka je urađen automatski pomoću aparata Leica ST4040. Na obojene preseke je pomoću Kanada balzama zalepljena pokrovna pločica, čime su dobijeni trajni mikroskopski preparati. Preparati su analizirani na mikroskopu Leica DCML opremljenom digitalnom kamerom LEICA DC 300 i softverom Leica IM1000. Sa trajnih preparata za analizu anatomske građe lista mereni su sledeći parametri: debljina epidermisa lica (ELL) i naličja (ENL) lista, debljina palisadnog (PT) i suđerastog (ST) tkiva, debljina mezofila (ML) i ukupna debljina lista (UDL). Svi parametri su mereni u 30 ponavljanja po tretmanu (5 preparata po tretmanu sa 6 merenja po preparatu). Analiza anatomske građe listova rađena je na netretiranim biljkama. Faze 10 listova *C. album* i 5 listova *A. theophrasti* su odabrane na osnovu prethodnih ispitivanja (Vranješ i sar., 2016), koja su pokazala da sa porastom faze razvoja, odnosno sa starenjem biljaka ove 2 korovske vrste dolazi do smanjenja osetljivosti na herbicid mezotrion. Iz tog razloga je urađena analiza anatomske građe lista kako bi se utvrdilo da li se anatomske karakteristike lista menjaju sa starenjem, tj. da li promene u anatomske građi lista mogu biti uzrok smanjenja osetljivosti biljaka sa porastom faze razvoja.

3.3.5 Površinske strukture lista *C. album* i *A. theophrasti*

Za proučavanje površinskih struktura listova (broja voštanih žlezda i stoma prisutnih na licu i naličju lista *C. album*, odnosno broja dlaka i stoma prisutnih na licu i naličju lista *A. theophrasti*) uzorkovani su listovi sa biljaka *C. album* u fazi 10, odnosno *A. theophrasti* u fazi

5 razvijenih listova. Analiza površinskih struktura listova rađena je na netretiranim biljkama. Na osnovu starosti i veličine, listovi obe vrste su podeljeni u 5 poduzoraka (tretmana), pri čemu je svaki tretman sadržao po 20 listova.

Za utvrđivanje broja voštanih žlezda i stoma na licu i naličju listova *C. album* epidermis lica/naličja je premazan bezbojnim lakom i nakon sušenja oljušten pomoću selotejpa, a zatim prenet na mikroskopsku pločicu. Pripremljeni preparati su fotografisani na svetlosnom mikroskopu LEICA DM 2000, digitalnom kamerom LEICA DFC 320, a voštane žlezde i stome izbrojane u softverskom paketu LEICA IM 1000.

Za utvrđivanje broja dlaka i stoma prisutnih na licu i naličju lista *A. theophrasti* listovi su pripremljeni postupkom za izbeljivanje listova. U rastvor glacijalne sirćetne kiseline i 95% alkohola (odnos 1:3) su potopljeni listovi i inkubirani na 55°C tokom 24 h. Nakon ispiranja 70% alkoholom listovi su potopljeni u 80% mlečnu kiselinu i ponovo inkubirani 2 h u termostatu na 55°C. Do momenta fotografisanja su čuvani u mlečnoj kiselini na sobnoj temperaturi. Neposredno pre fotografisanja listovi su preneti na mikroskopske pločice i fotografisani na binokularu NIKON SMZ18, digitalnom kamerom NIKON digital sight DS-Fi1c, a merenje je obavljeno u softverskom paketu NIS elements D 4.30.

3.3.6 Sadržaj voskova u listovima *C. album* i *A. theophrasti*

Promene hemijskog sastava epikutikularnih voskova sa starenjem listova *C. album* i *A. theophrasti* su analizirane na listovima različite starosti (*C. album* u fazi 10, odnosno *A. theophrasti* u fazi 5 razvijenih listova). Na osnovu starosti i veličine, listovi obe vrste su podeljeni u 5 poduzoraka (tretmana), pri čemu je iz svake faze uzeto po 3 uzorka mase oko 1 g. Uzorkovani listovi u svakoj fazi su bili međusobno slične veličine. Do analize uzorci su zapakovani u aluminijumsku foliju i čuvani na temperaturi -20°C. Epikutikularni voskovi su ekstrahovani sa površine listova sa 20 ml heksana. Ekstrakcija je izvršena blagim mućkanjem 1 minut. Ekstrakt je proceden kroz filter papir, a potom rastvoren u CH₂Cl₂ i analiziran GC/MS metodom.

GC-FID i GC/MS analize su urađene pomoću instrumenta Agilent 7890A opremljenog sa sistemom za automatsko injektovanje (Agilent GC Sampler 80), masenim detektorom sa kvadrupolnim analizatorom Agilent 5975C XL EI/CI (MSD), plameno-jonizacionim detektorom (FID) i kapilarnom kolonom HP-5 MS 5% Phenyl Methyl Silox (30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 μm debljina filma). Temperaturni program je podešen da raste linearno 3°C/min od 60 do 300°C. Temperatura injektora je bila 250°C; temperatura detektora 300°C;

temperatura izvora 230°C, temperatura kvadrupola 150°C. Noseći gas je bio helijum (16,255 ψ , u režimu konstantnog pritiska). Uzorci (1 μ l) su injektovani u režimu bez razdvajanja. Za dobijanje masenih spektara je korišćena elektronska jonizacija (EI-MS; 70eV), a detekcija jona je vršena u opsegu 30-550 m/z. Komponente su identifikovane poređenjem njihovih EI masenih spektara sa spektrima iz biblioteka Wiley i NIST korišćenjem softvera NIST MS Search 2.0 i AMDIS, kao i poređenjem izračunatih retencionih indeksa (RI) sa retencionim indeksima biblioteka. Na osnovu dobijenih rezultata određen je relativni udeo svake komponente u pojedinačnim uzorcima.

3.3.7 Statistička obrada podataka

Statistička obrada dobijenih podataka je urađena u statističkom softveru STATISTICA®7.0 (StatSoft, Inc., 2007, STATISTICA, data analysis software system, available <http://www.statsoft.com>) pomoću LSD testa ili t-testa za sva ispitivanja izuzev za utvrđivanje efektivnih doza herbicida.

Za izračunavanje efektivnih doza herbicida (ED_{50} , ED_{90} i ED_{95}) je korišćen statistički softver R (R Development Core Team, 2011: a Language and Environment for Statistical Computing [Online]. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria., available at <http://www.R-project.org>.) i drc paket (Ritz and Streibig, 2005). Efektivne doze su izračunate za sledeće parametare: suva masa, fluorescencija hlorofila (maksimalnog prinosa kvantuma $P_{SII-Fv/Fm}$ i efektivnog prinosa kvantuma $P_{SII}-\Phi_{PSII}$) i relativni sadržaj hlorofila. Na osnovu toga su procenjene količine mezotriona potrebne za 50, 90 i 95% redukcije merenih parametara (ED_{50} , ED_{90} i ED_{95}). Podaci (za obe vrste) su analizirani korišćenjem logaritamskog modela od 3 parametra, (Knezevic et al., 2007) prema jednačini:

$$y=d/(1+\exp(b(\log(x)-e)))$$

Gde x označava primenjenu količinu, y reakciju biljke na tu količinu, e logaritamsku vrednost ED_{50} , d gornju asimptotu, b relativni nagib.

Pored navedenog, u statističkom softveru STATISTICA 7.0 je urađena korelaciona analiza radi potvrđivanja/odbacivanja pretpostavke o zavisnosti reakcije biljaka na herbicid od faze razvoja, kao i radi potvrđivanja/odbacivanja pretpostavke o međuzavisnosti faze razvoja biljke i morfo-anatomske građe lista, kao i sastava voskova.

4 REZULTATI

4.1 Osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka

Simptomi delovanja herbicida mezotrion ($120 \text{ g a.s. ha}^{-1}$) na ciljane korovske vrste su bili vidljivi 3-4 DNP u odnosu na netretirane biljke, ali razlike u delovanju u zavisnosti od faze razvoja su se preciznije mogle utvrditi merenjem nadzemne suve mase korovskih biljaka 14 DNP (Tabele 1, Grafik 1). Početni vizuelni simptomi su se ispoljili u vidu izbeljivanja i depigmentacije vršnog dela najmlađih listova, a nakon nekoliko dana došlo je do potpune nekroze oštećenih listova (Slika 4).



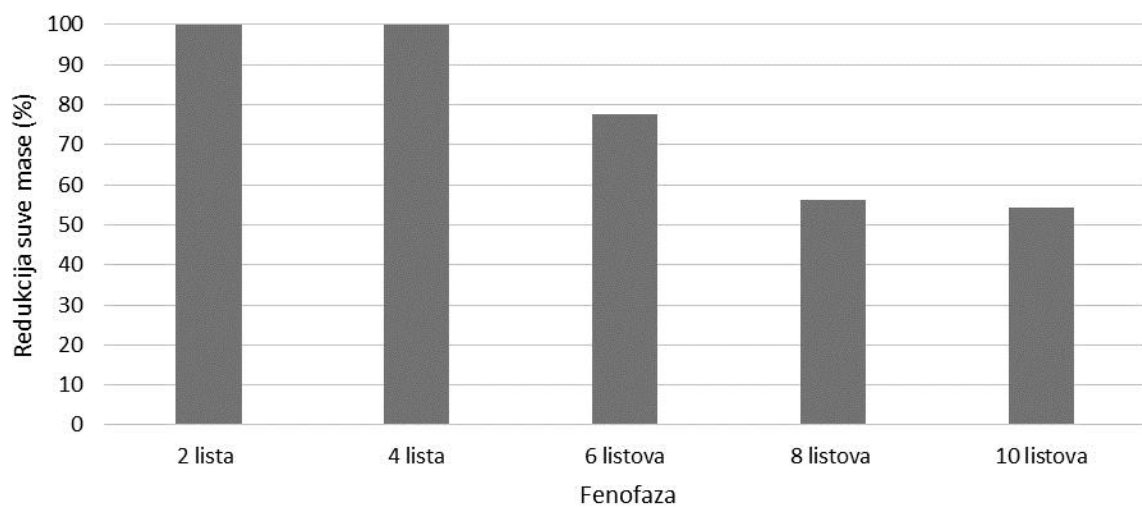
Slika 4. Simptomi delovanja mezotrion na *A. theophrasti*

Primena herbicida u najranijim fazama razvoja (2 i 4 lista) *C. album* je dovela do potpunog propadanja biljaka. Sa daljim starenjem biljaka osetljivost se smanjivala, tj. smanjivao se procenat redukcije suve mase: u fazi 6 listova 77%, u fazi 8 listova 56%, u fazi 10 listova 54% (Grafik 1). Pomoću t-testa je utvrđeno postojanje statistički značajne ili veoma značajne razlike između tretiranih i netretiranih biljaka (Tabela 1). Pored toga, uočena je statistički vrlo jaka (visoka) zavisnost (korelacija) između redukcije suve mase *C. album* nakon primene mezotriona i faze razvoja *C. album* ($R^2=0,911$) (Grafik 2).

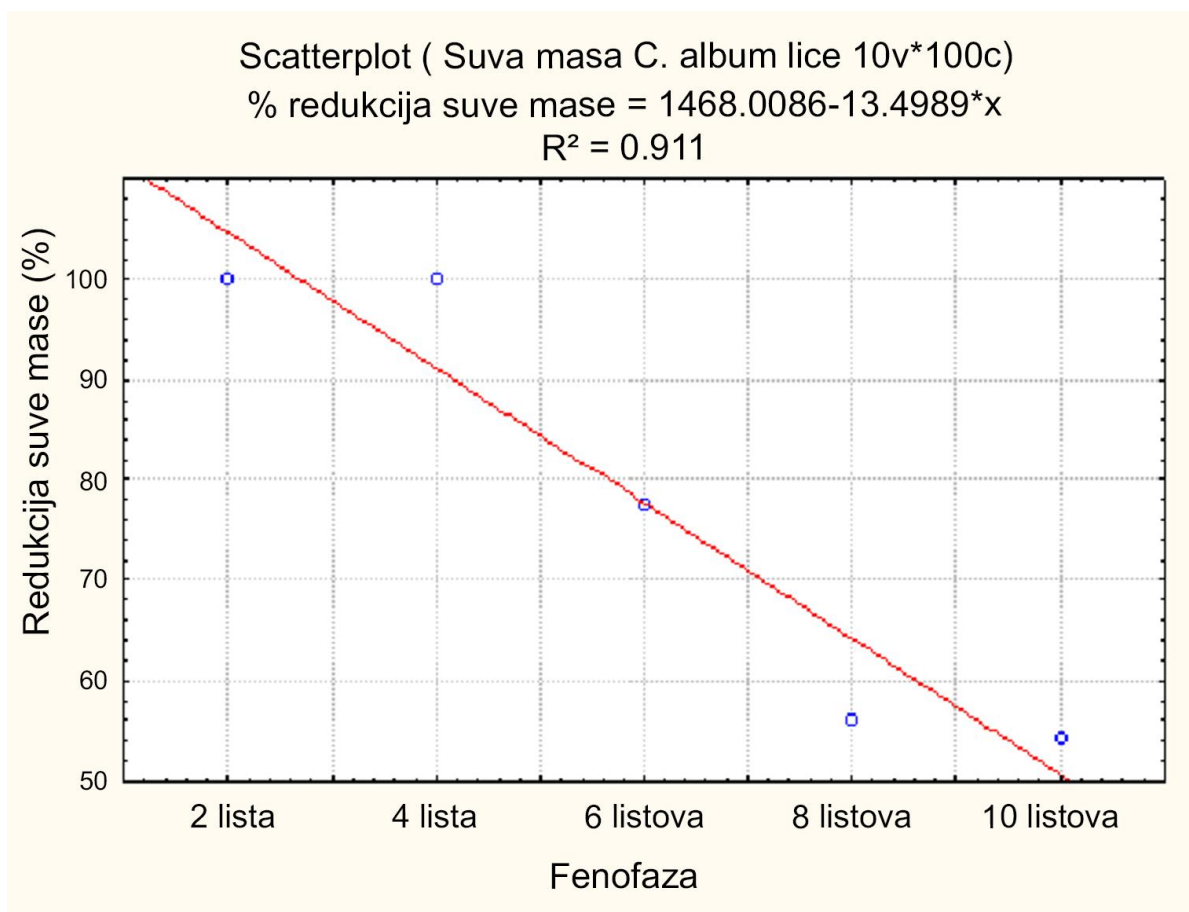
Tabela 1. Uticaj mezotriona na suhu masu *C. album* u zavisnosti od faze razvoja (prosek±SD)

	Suva masa (g)				
	2 lista	4 lista	6 listova	8 listova	10 listova
Kontrola	0,0025±0,004	0,0075±0,008	0,1380±0,037	0,1850±0,06	0,2462±0,088
Mezotrion (120 g a.s. ha ⁻¹)	0,000±0,000	0,000±0,000	0,0310±0,014	0,0810±0,016	0,1122±0,0272
t-test: p	0,000**	0,000**	0,002**	0,036*	0,007**

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)



Grafik 1. Redukcija suve mase *C. album* usled primene mezotriona u različitim fazama razvoja



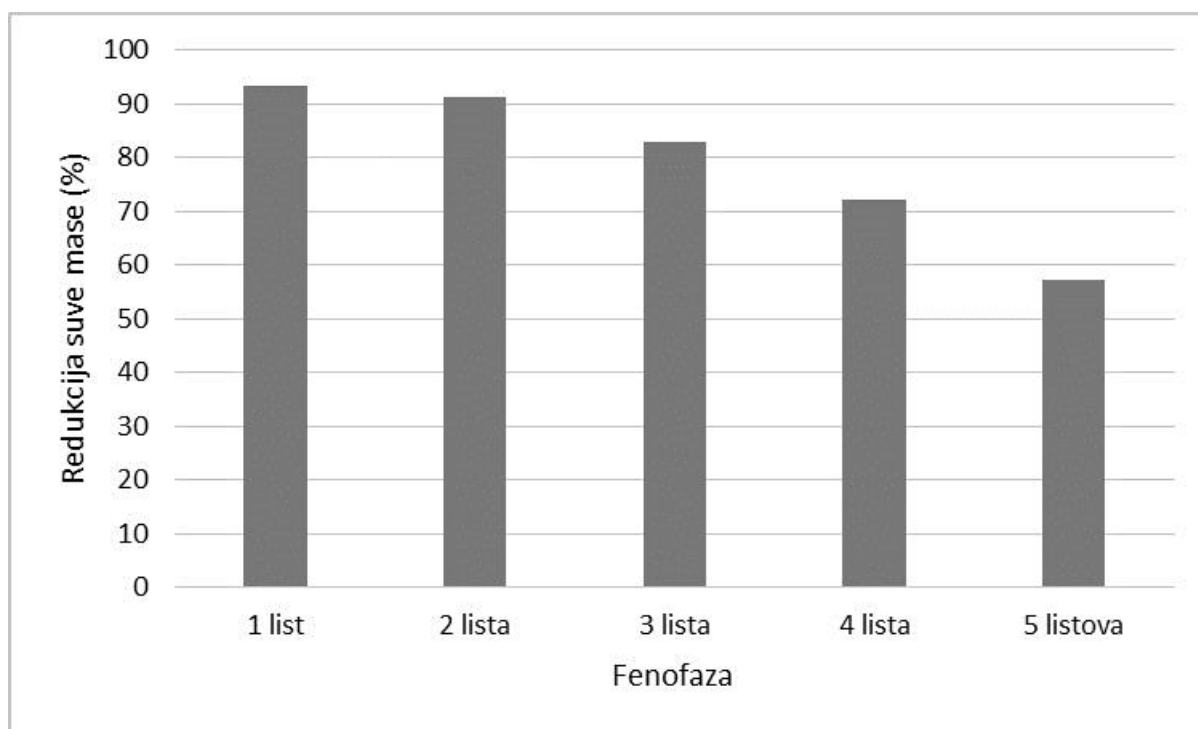
Grafik 2. Korelaciona zavisnost između redukcije suve mase *C. album* (14 DNP mezotriona) i faze razvoja biljaka

Primena herbicida mezotrion na rane faze razvoja *A. theophrasti* je dovela do sličnih rezultata kao kod *C. album* (Tabela 2, Grafik 3). Naime, u fazi 1. i 2. razvijenog lista primena preporučene količine mezotriona ($120 \text{ g a.s. ha}^{-1}$) je dovela do redukcije suve mase $> 90\%$. U fazi 1. lista je preporučena količina mezotriona izazvala veoma značajnu redukciju suve mase *A. theophrasti* u iznosu od 94%. U fazi 2 lista je redukcija suve mase bila na sličnom nivou, odnosno 91%. Daljim razvojem biljaka ove korovske vrste došlo je do smanjenja osetljivosti tako da je u fazi 3, 4 i 5 razvijenih listova nivo redukcije suve mase iznosio 83, 72 i 57%, redom, kako je i prikazano na Grafiku 3. Pomoću t-testa su potvrđene statistički veoma značajne razlike između tretiranih i netretiranih biljaka u svim fazama razvoja (Tabela 2). Pored toga, uočena je statistički slaba (niska) zavisnost (korelacija) između redukcije suve mase *A. theophrasti* 14 DNP mezotriona i faze razvoja *A. theophrasti* ($R^2=0,143$) (Grafik 4). Iako je korelacionom analizom utvrđena slaba korelacija, na osnovu rezultata t-testa može se zaključiti da faza razvoja *A. theophrasti* utiče na osetljivost ove vrste prema mezotrionu.

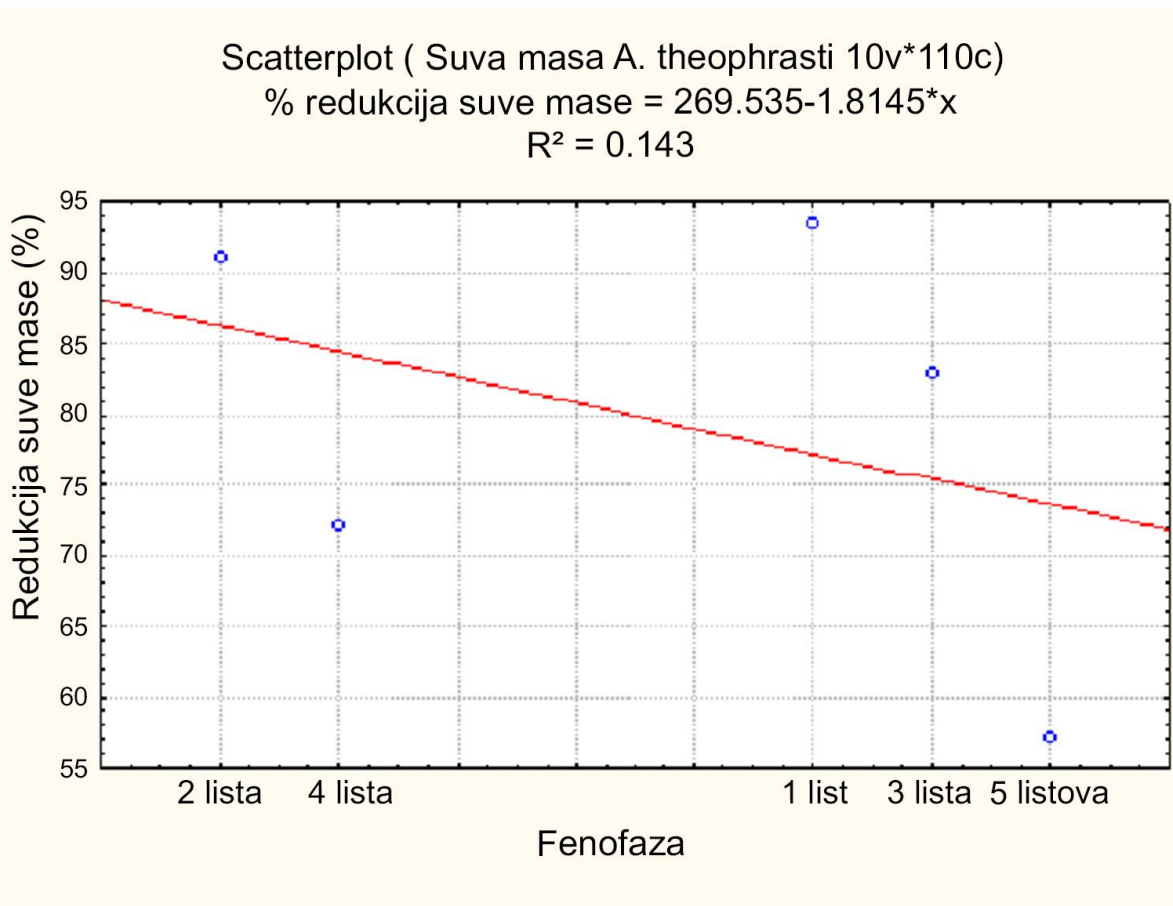
Tabela 2. Uticaj mezotriona na suhu masu *A. theophrasti* u zavisnosti od faze razvoja (prosek±SD)

	Suva masa (g)				
	2 lista	4 lista	6 listova	8 listova	10 listova
Kontrola	0,085±0,029	0,1275±0,030	0,3512±0,101	0,5090±0,162	0,6890±0,194
Mezotrion (120 g a.s. ha ⁻¹)	0,005±0,007	0,011±0,006	0,060±0,014	0,140±0,034	0,300±0,103
t-test: p	0,000**	0,001**	0,007**	0,000**	0,004**

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)



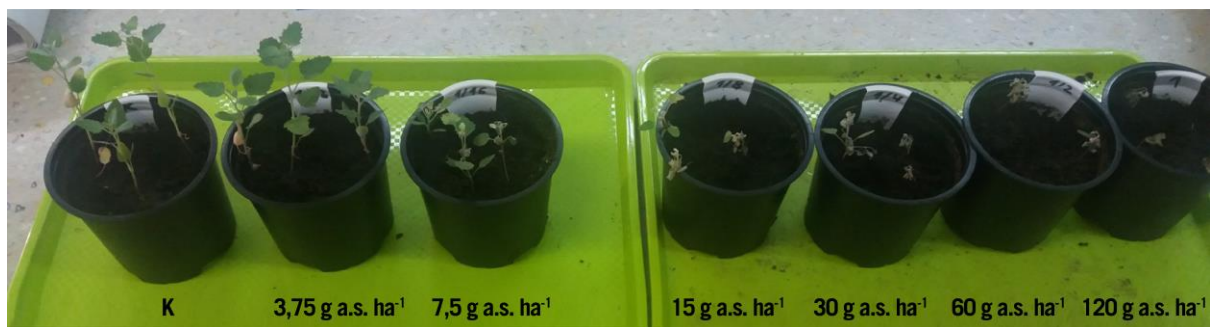
Grafik 3. Redukcija suve mase *A. theophrasti* usled primene mezotriona u različitim fazama razvoja



Grafik 4. Korelaciona zavisnost između redukcije suve mase *A. theophrasti* (14 DNP mezotriona) i faze razvoja biljaka

4.2 Reakcije biljaka *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Primena različitih količina mezotriona (3,75; 7,5; 15,00; 30,00; 60,00 i 120,00 g a.s. ha⁻¹) na *C. album* u fazi razvijena 4 lista i *A. theophrasti* u fazi ravijena 2 lista je dovela do značajnih oštećenja tretiranih biljaka u odnosu na netretirane biljke iste razvojne faze (Slike 5 i 6). Osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu zavisila je od primenjene količine herbicida, a u zavisnosti od toga, vidljivi simptomi izbeljivanja su postali uočljivi 3-4 DNP, dok su očigledni vizuelni efekti bili vidljivi oko 7 DNP. Iako vizuelna procena može pružiti korisne podatke o osetljivosti biljaka, neophodno je koristiti preciznije parametre kako bi se procenila reakcija biljaka na herbicide. U ovom ispitivanju su mereni: suva masa biljaka, fluorescencija, intezitet ozelenlelosti listova (SPAD vrednosti) i relativni sadržaj hlorofila (Grafici 5-8). Vrednosti ED₅₀, ED₉₀ i ED₉₅ za sve izmerene parametre su date u Tabeli 3.



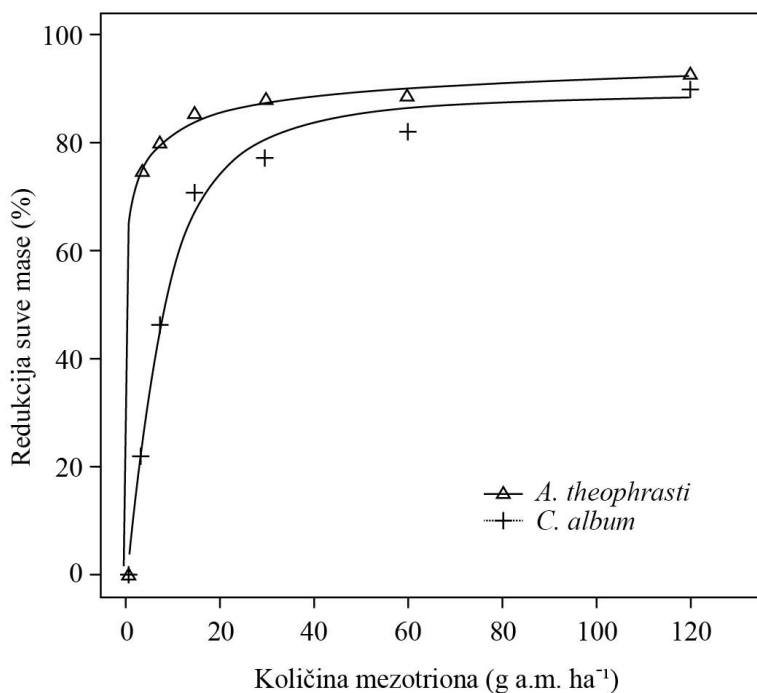
Slika 5. Reakcije *C. album* prema mezotrionu u zavisnosti od količine primene (14 DNP, K-kontrola)



Slika 6. Reakcije *A. theophrasti* prema mezotrionu u zavisnosti od količine primene (14 DNP, K-kontrola)

4.2.1 Suva masa

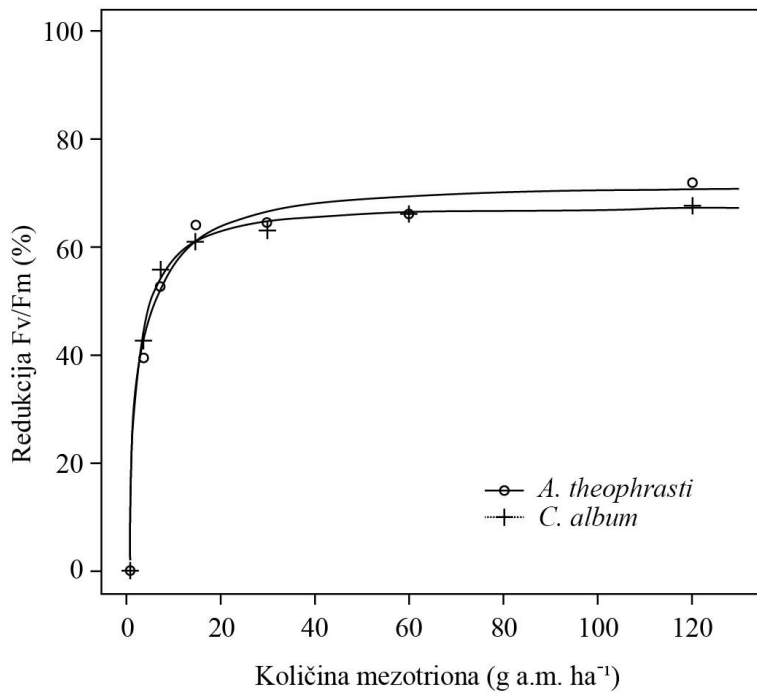
Rezultati koji se odnose na reakciju testiranih korovskih biljaka prema mezotrionu (utvrđeni na osnovu suve mase biljaka) pokazuju da su obe vrste osjetljive prema mezotrionu. Ukoliko je mezotrion primenjen u preporučenoj količini ($120 \text{ g a.s. ha}^{-1}$) u ranoj fazi razvoja ciljanih korovskih vrsta dovodi do redukcije mase tretiranih biljaka od preko 90%. Merenja suve mase su pokazala da su obe vrste veoma osjetljive na povećanje količine primene mezotriona, odnosno sa povećanjem količine mezotriona se značajno povećava redukcija suve mase tretiranih biljaka (Grafik 5). Količina od samo $0,56 \text{ g a.s. ha}^{-1}$ je dovoljna za smanjenje suve mase biljaka *A. theophrasti* za 50%, dok su količine od $11,43 \text{ g a.s. ha}^{-1}$ i $31,82 \text{ g a.s. ha}^{-1}$ potrebne za postizanje ED_{90} i ED_{95} (Tabela 3). Dobijene vrednosti za *C. album* su pokazale da su količine od $7,24 \text{ g a.s. ha}^{-1}$, $30,67 \text{ g a.s. ha}^{-1}$ i $50,10 \text{ g a.s. ha}^{-1}$ potrebne za smanjenje suve mase za 50, 90 i 95% (Tabela 3).



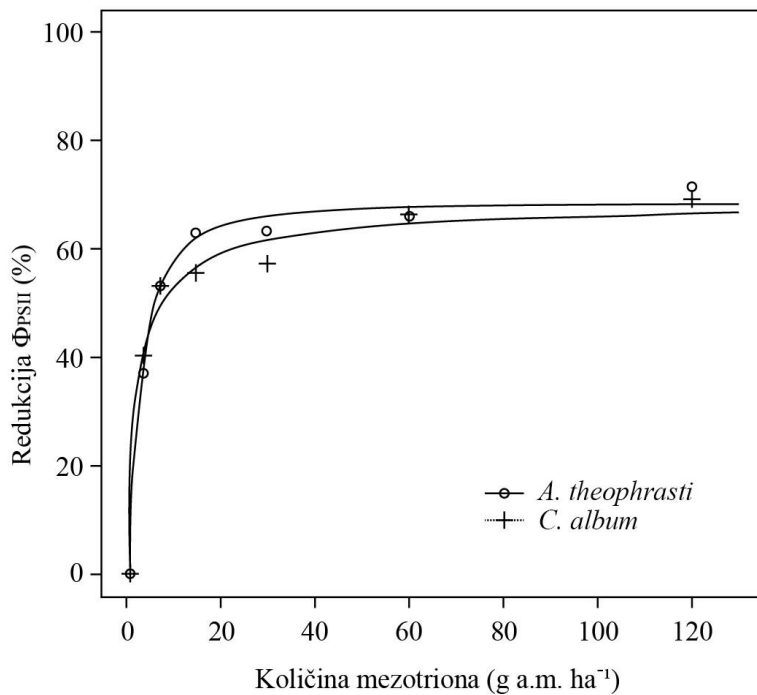
Grafik 5. Reakcije *A. theophrasti* i *C. album* na rastuće količine mezotriona u odnosu na suhu masu biljaka

4.2.2 Fluorescencija hlorofila

Dobijeni rezultati za fluorescenciju hlorofila (*A. theophrasti*: F_v/F_m od 0,223 do 0,481; Φ_{PSII} od 0,215 do 0,472; *C. album*: F_v/F_m od 0,259 do 0,460; Φ_{PSII} od 0,234 do 0,454) u ovim ispitivanjima (Grafici 6-7) su potvrdili da je mezotrion blokirao transport elektrona u tretiranim korovskim vrstama jer su vrednosti izmerenih parametara bile manje od 0,8. To ukazuje da su biljke bile pod stresnim uslovima, što je u ovom slučaju izazvano delovanjem herbicida. Postoji razlika u efektivnim količinama mezotriona za *C. album* i *A. theophrasti*, ali su dobijeni parametri fluorescencije hlorofila pokazali da mezotrion značajno utiče na fluorescenciju hlorofila ovih vrsta (Grafik 6, 7). Procenjene efektivne količine mezotriona potrebne za redukciju parametara F_v/F_m za 50%, 90% i 95% (ED_{50} , ED_{90} i ED_{95}) za *A. theophrasti* iznose 3,02 g a.s. ha⁻¹, 22,90 g a.s. ha⁻¹ i 45,61 g a.s. ha⁻¹, dok je *C. album* bio još osjetljiviji, tj. samo 2,35 g a.s. ha⁻¹ je potrebno za postizanje ED_{50} , 14,31 g a.s. ha⁻¹ za ED_{90} i 26,44 g a.s. ha⁻¹ za ED_{95} . Što se tiče Φ_{PSII} , takođe je potvrđeno da su male količine mezotriona potrebne za postizanje ED_{50} , ED_{90} i ED_{95} u količini primene od 3,26 g a.s. ha⁻¹, 21,76 g a.s. ha⁻¹ i 41,38 g a.s. ha⁻¹ redom za *A. theophrasti*. Odgovarajuće vrednosti potrebne za postizanje ED_{50} , ED_{90} i ED_{95} za *C. album* su bile 2,33 g a.s. ha⁻¹, 33,99 g a.s. ha⁻¹ i 84,62 g a.s. ha⁻¹.



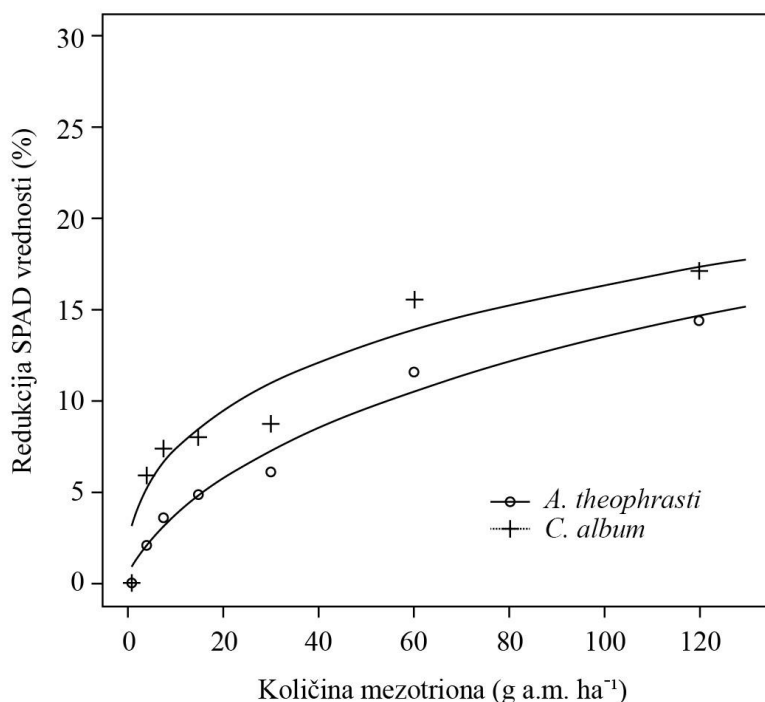
Grafik 6. Reakcije *A. theophrasti* i *C. album* na rastuće količine mezotriona u odnosu na Fv/Fm



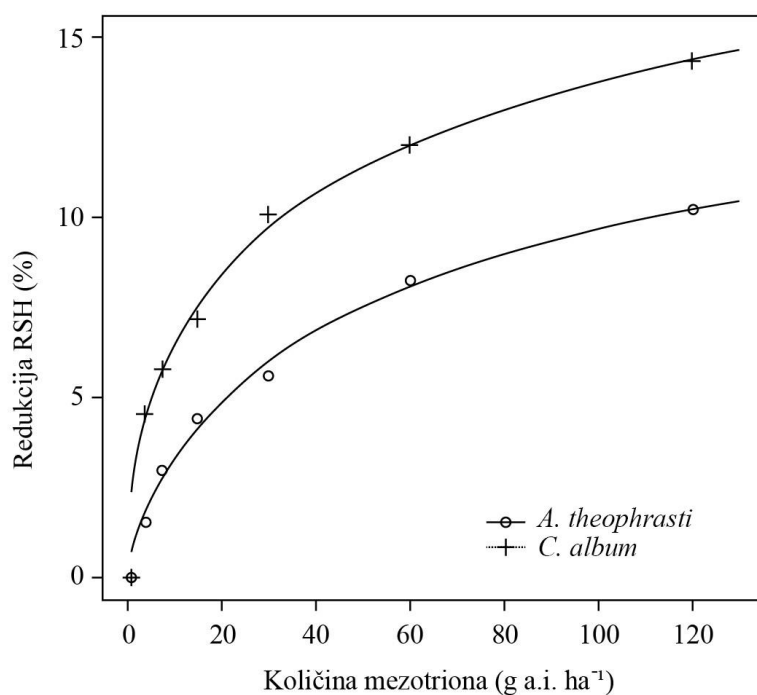
Grafik 7. Reakcije *A. theophrasti* i *C. album* na rastuće količine mezotriona u odnosu na ΦPSII

4.2.3 Sadržaj hlorofila

Rezultati intenziteta ozelenosti listova (SPAD vrednost), kao i relativnog sadržaja hlorofila (RSH) u listu, pokazuju da herbicid mezotrion, koji dovodi do inhibicije biosinteze karotenoida, ne izaziva brze promene u stepenu ozelenosti listova tretiranih korovskih biljaka (Grafik 8, 9). Naime, kako su promene u boji lista postale vidljive 3 DNP herbicida, očekivalo se da SPAD vrednosti kao indikator intenziteta zelene boje listova mogu biti pogodne za procenu odgovora biljke na mezotrion u kratkom vremenskom periodu nakon primene herbicida. Međutim, dobijene ED vrednosti ukazuju da je ovaj parametar manje osetljiv prema mezotrionu u poređenju sa parametrima fluorescencije hlorofila. Naime, na osnovu očitanih SPAD vrednosti u listovima biljaka *A. theophrasti* (Tabela 3) procenjeno je da je potrebno 23,99 g a.s. ha⁻¹ za postizanje ED₅₀, 108,86 g a.s. ha⁻¹ za ED₉₀ i 182,06 g a.s. ha⁻¹ za ED₉₅, što je veća količina od preporučene (120 g a.s. ha⁻¹). Takođe, ove vrednosti za *C. album* su bile 10,12 g a.s. ha⁻¹, 86,92 g a.s. ha⁻¹ i 180,61 g a.s. ha⁻¹ za ED₅₀, ED₉₀ i ED₉₅ (Tabela 3). ED vrednosti za RSH parametra u listovima *A. theophrasti* su pokazale da je potrebno 19,59 g a.s. ha⁻¹ za postizanje ED₅₀, 119,71 g a.s. ha⁻¹ za ED₉₀ i 221,53 g a.s. ha⁻¹ za ED₉₅, što je veća količina od preporučene (120 g a.s. ha⁻¹). Slične vrednosti su utvrđene i kod vrste *C. album*: 11,59 g a.s. ha⁻¹, 109,95 g a.s. ha⁻¹ i 234,92 g a.s. ha⁻¹ za ED₅₀, ED₉₀ i ED₉₅ (Tabela 3).



Grafik 8. Reakcije *A. theophrasti* i *C. album* na rastuće količine mezotriona u odnosu na SPAD vrednosti



Grafik 9. Reakcije *A. theophrasti* i *C. album* na rastuće količine mezotriona u odnosu na RSH

Tabela 3. Parametri regresije (b, ED₅₀, ED₉₀, ED₉₅) za sve merene parametre nakon primene mezotriona kod *A. theophrasti* i *C. album*

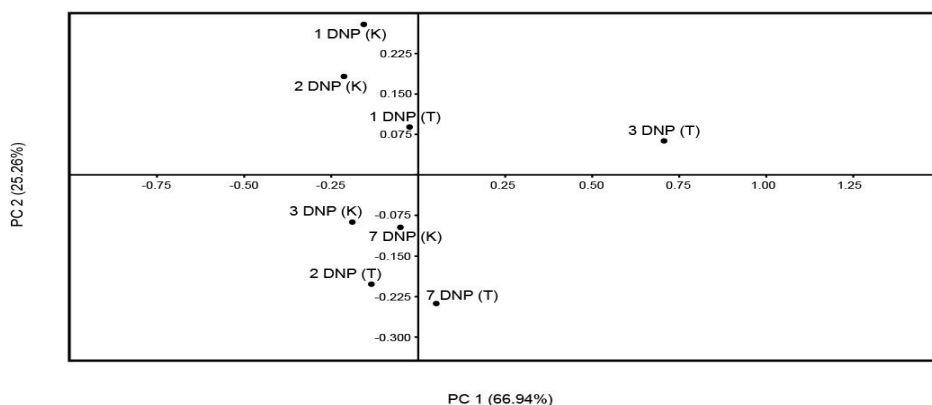
Vrsta	Parametar	Regresioni parametri±SD			
		b	ED ₅₀	ED ₉₀	ED ₉₅
<i>A. theophrasti</i>	redukcija suve mase	0,40±0,03	0,56±0,07	11,43±1,13	31,82 ±3,98
	Fv/Fm	1,25±0,33	3,02±0,44	22,90±4,72	45,61±13,53
	Φ _{PSII}	1,48±0,40	3,26±0,50	21,76±5,18	41,38±14,07
	SPAD vrednost	1,62±0,68	23,99±4,30	108,86±27,81	182,06±63,42
	RSH	0,73±0,10	19,59±4,09	119,71±34,68	221,53±85,35
<i>C. album</i>	redukcija suve mase	1,52±0,17	7,24±0,63	30,67±5,09	50,10±10,89
	Fv/Fm	1,31±0,23	2,35±0,23	14,31±1,59	26,44±4,41
	Φ _{PSII}	0,81±0,15	2,33±0,66	33,99±11,26	84,62±41,20
	SPAD vrednost	0,89±0,31	10,12±2,32	86,92±28,29	180,61±78,09
	RSH	0,53±0,07	11,79±2,72	109,95±36,74	234,92±104,44

SD-standardna devijacija; Fv/Fm–odnos varijabilne i maksimalne fluorescencije (maksimalni prinos fluorescencije PSII); Φ_{PSII}-efektivni prinos fluorescencije PSII; RSH- relativni sadržaj hlorofila; ED–efektivna doza

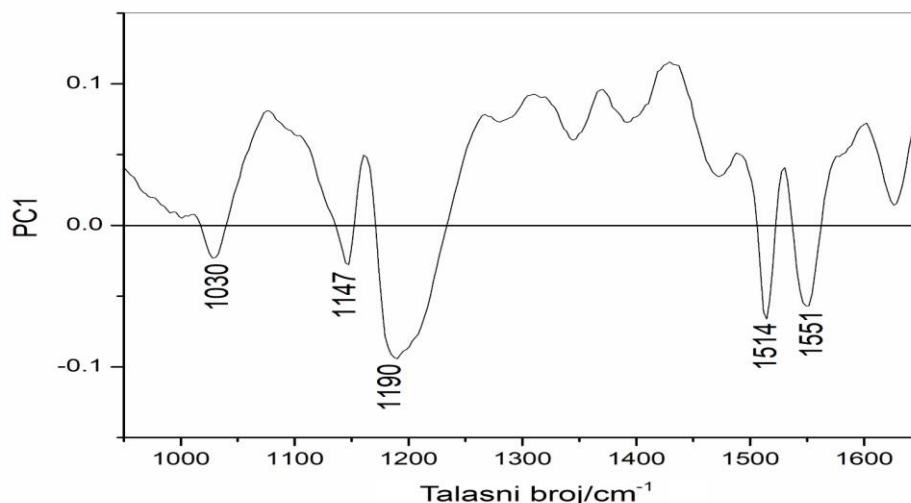
4.3 Uticaj mezotriona na sadržaj karotenoida u listu *C. album* i *A. theophrasti*

Informacije o Ramanovim spektrima se dobijaju na osnovu preklapajućih signala koji se pripisuju različitim komponentama biljke, naročito kod listova koji sadrže raznovrsne karotenoide. Dobijeni rezultati za *C. album* i *A. theophrasti* su pokazali da postoji razlika u sadržaju karotenoida između analiziranih uzoraka netretiranih i biljaka tretiranih mezotrionom, koja je utvrđena u svim opsezima talasnih dužina.

Grafik 10 prikazuje rezultate PCA analize posredstvom 2 glavne ose koje objašnjavaju 92,2% informacija od ukupne varijabilnosti podataka za *C. album*. Rezultati ukazuju na odvajanje grupe koja obuhvata tretirane biljke 3 i 7 DNP herbicida, koja se značajno razlikuje od ostalih uzoraka. Drugu grupu uzoraka čine sve netretirane biljke *C. album* i tretirane biljke 1. i 2. DNP mezotriona (Grafik 10). Iako se izvesne razlike između tretiranih i netretiranih listova mogu uočiti već 1. i 2. DNP, one su znatno izraženije 3. i 7. DNP herbicida. Prema tome, jasna procena efekata mezotriona na tretirane biljke pomoću Ramanove spektroskopije je moguća 3 DNP herbicida. Najznačajnije promjenjive koje doprinose razlici između netretiranih i tretiranih biljaka se uočavaju na osnovu projekcije varijabli na prvoj osi (PC1) (Grafik 11). Pikovi većih intenziteta na 1514 i 1551 cm^{-1} se pripisuju karotenoidima β -karoten i neoksantin, pri čemu je pik na 1190 cm^{-1} najvećeg intenziteta kod 1. ose, a ima karakteristike zeaksantina zbog 9-*cis* konformacija. Pik sa nižim intenzitetom na 1130 cm^{-1} je takođe odgovoran za razlike između tretiranih i netretiranih biljaka i verovatno potiče od neoksantina kao dominantnog karotenoida u listovima. Posmatrajući 1. osu, svi gore navedeni pikovi ukazuju da se netretirane i biljke tretirane mezotrionom razlikuju 3. i 7. DNP mezotriona (Grafik 11).

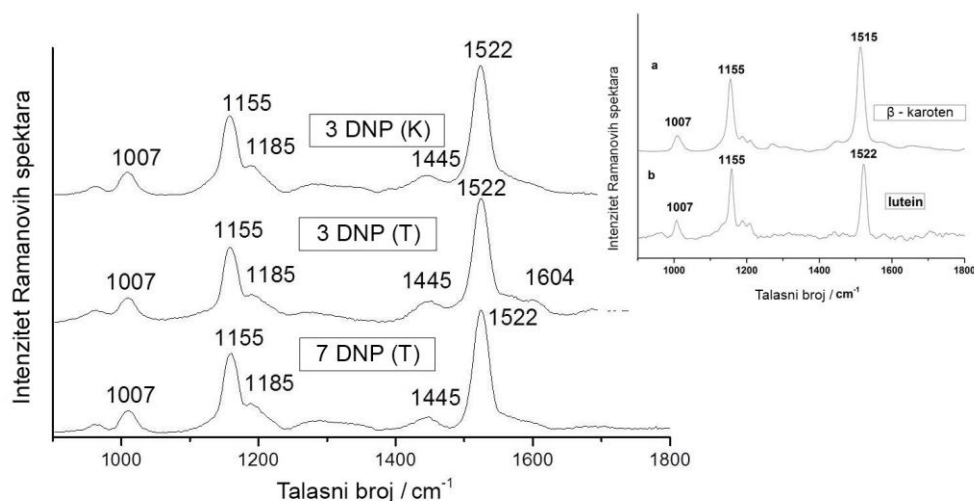


Grafik 10. PCA analiza sadržaja karotenoida u listovima *C. album* (netretirane i biljke tretirane mezotrionom)



Grafik 11. Projekcija varijabli PC1 komponente za listove *C. album* (netretirane i biljke tretirane mezotrionom)

Karakterizacija karotenoida u listovima *C. album*, dobijena Ramanovom spektroskopijom je prikazana na Grafiku 12. Intenzitet i specifičnost strukture karotenoida je jasno uočljiva na talasnoj dužini pobuđenosti od 532 nm. Grafik 12 predstavlja strukturu karotenoida posmatranih u snimljenim Ramanovim spektrima, usled snažnog povećanja rezonance na izabranoj talasnoj dužini pobuđenosti talasa (532 nm). Najintenzivniji pik na 1522 cm^{-1} predstavlja konjugovanu C=C vibraciju koja potiče od luteina. Drugi opseg ($1160\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$) obuhvata pikove srednjeg intenziteta, pri čemu pik na 1155 cm^{-1} predstavlja vibracione C-C veze uparene sa C-CH₃ ili C-H u ravni savijanja centralnog polienskog lanca. Treći pik niskog intenziteta na 1007 cm^{-1} potiče od CH₃ grupe vezane za polienski lanac spojen sa C-C vezom. Identifikovani pikovi u najvećoj meri odgovaraju standardima i potvrđuju prisustvo karotenoida (Grafik 12, desno). Razlike u poziciji pikova ukazuju da je reč o 2 tipa karotenoida. Karakteristični pikovi na 1007 , 1155 i 1515 cm^{-1} predstavljaju β -karoten, dok se pikovi na 1007 , 1155 i 1522 cm^{-1} pripisuju luteinu (Grafik 12).



Grafik 12. Struktura karotenoida u listovima *C. album* netretiranih i biljaka tretiranih mezotrionom

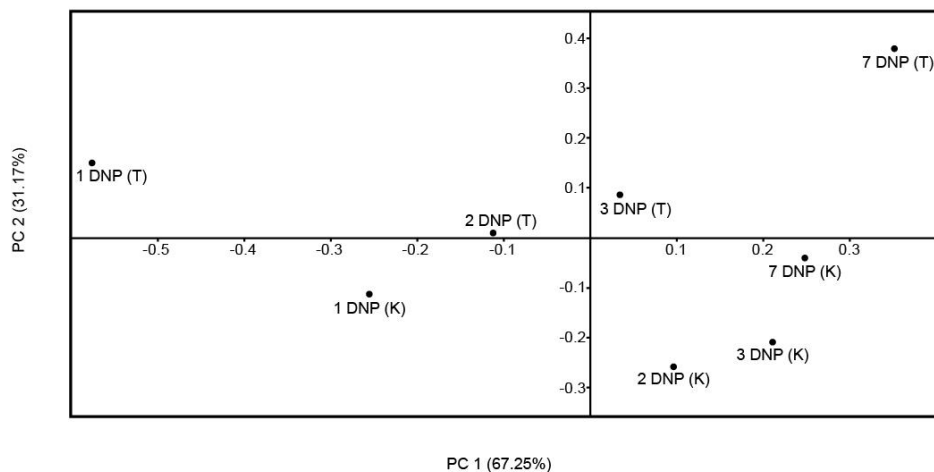
Ramanovom spektroskopijom potvrđeno je da mezotrion dovodi do smanjenja ukupnog sadržaja karotenoida u tretiranim biljkama u odnosu na netretirane. Naime, utvrđeno je da primena preporučene količine mezotriona na *C. album* redukuje ukupni sadržaj karotenoida za 32,69% u odnosu na netretirane biljke, što predstavlja statistički značajno smanjenje (t-test; $p=0,038$) sadržaja ovih pigmenata (Tabela 4).

Tabela 4. Uticaj mezotriona na ukupni sadržaj karotenoida u listovima *C. album*

	Ukupni sadržaj karotenoida (mg/g)
Kontrola	0,52±0,28
Mezotrion (120 g a.s. ha ⁻¹)	0,35±0,06
t-test: p	0,038*

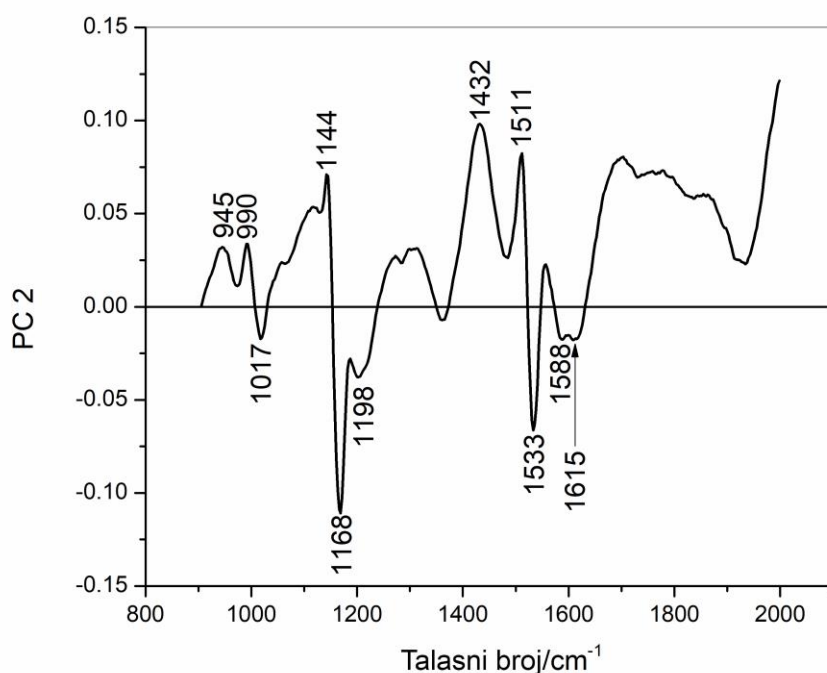
($p<0,01$)**; ($0,01<p<0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p>0,05$)

Rezultati koji se odnose na uticaj mezotriona na sadržaj karotenoida u tretiranim biljkama *A. theophrasti* su slični rezultatima dobijenim za vrstu *C. album*, što znači da su razlike u sadržaju ovih pigmenata između biljaka tretiranih mezotrionom veoma izražene u odnosu na netretirane biljke (Grafik 13). Grafik 13 prikazuje rezultate PCA analize, gde 2 glavne ose objašnjavaju 98,00% informacija od ukupne varijabilnosti uzoraka obuhvaćenih analizom za *A. theophrasti*. Posmatrajući 2. osu, analizirani uzorci se razdvajaju u 2 grupe. Biljke tretirane mezotrionom u sva 4 očitavanja (1, 2, 3. i 7. DNP herbicida) čine 1. grupu uzoraka, dok su u 2. grupu jasno izdvojene netretirane biljke. Ramanovi spektri ukazuju na postepene promene, odnosno smanjenje sadržaja karotenoida sa povećanjem vremena koje je proteklo od momenta primene herbicida.



Grafik 13. PCA analiza sadržaja karotenoida u listovima *A. theophrasti* (netretirane i biljke tretirane mezotrionom)

Najznačajnije promjenjive koje doprinose razlici između netretiranih i tretiranih biljaka se uočavaju na osnovu projekcije svake varijable na 2. osi (Grafik 14). Pikovi većih intenziteta su konstatovani na sledećim talasnim dužinama: 1144 cm^{-1} predstavlja vibracije C-C ili C-O kod celuloze, 1168 cm^{-1} predstavlja karotenoide, a 1432 cm^{-1} potiče od fenolnih jedinjenja sa vibracijom na vezi od O-CH₃ i CH₂, dok 1533 cm^{-1} potiče od neoksantina sa C=C vezama. Osim toga, uočeno je da 1017 cm^{-1} potiče od neoksantina sa CH₃ vezom, 1198 cm^{-1} potiče od celuloze, 1588 cm^{-1} i 1615 cm^{-1} potiču od fenolnih jedinjenja sa C=C vezama, a 990 cm^{-1} potiče od celuloze sa vibracionom vezom C-C ili C-O.



Grafik 14. Projekcija varijabli PC2 komponente za listove *A. theophrasti* (netretirane i biljke tretirane mezotrionom)

Analizom rezultata koji se odnose na uticaj mezotriona na ukupni sadržaj karotenoida u listovima *A. theophrasti* je utvrđeno da ovaj herbicid redukuje ukupni sadržaj ovih pigmenata za 19,36% u odnosu na netretirane biljke (Tabela 5). Međutim, rezultati t-testa su pokazali da navedena razlika nije statistički značajna (Tabela 5).

Tabela 5. Uticaj mezotriona na ukupni sadržaj karotenoida u listovima *A. theophrasti*

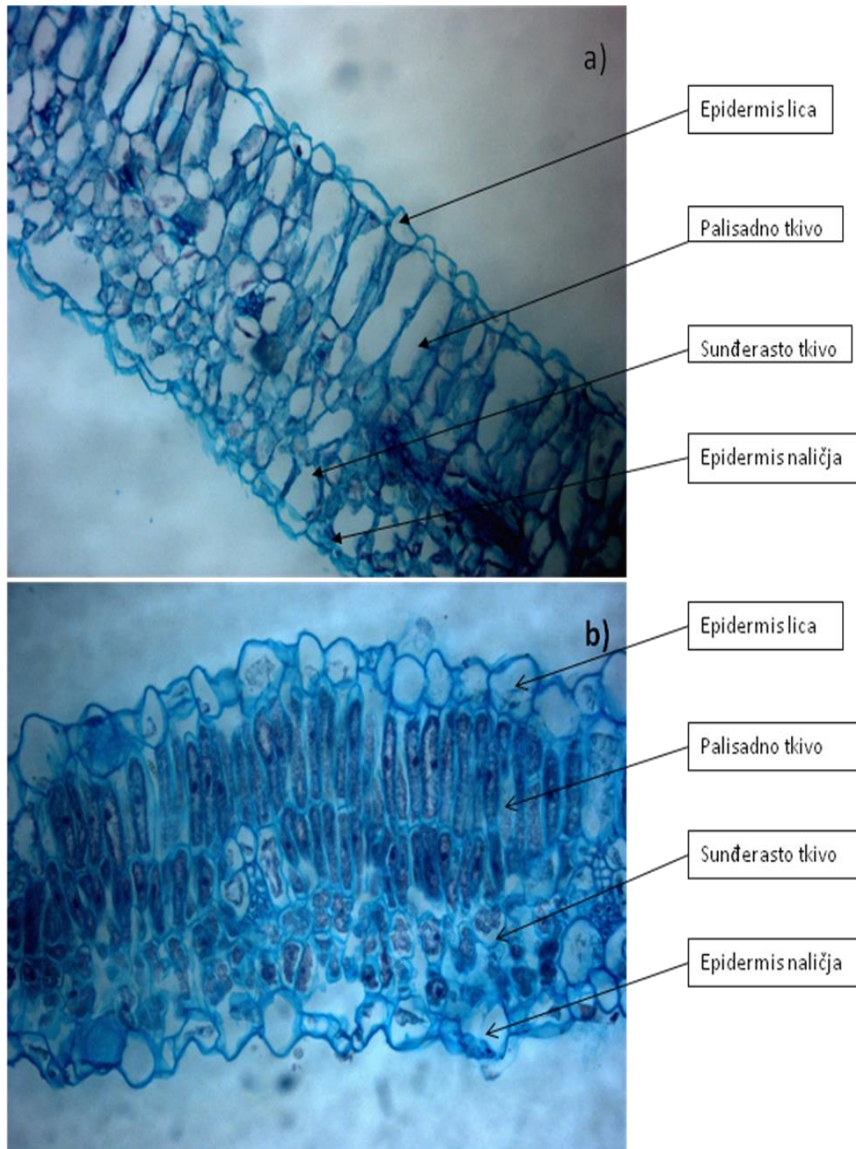
	Ukupni sadržaj karotenoida (mg/g)
Kontrola	0,31±0,117
Mezotrion (120 g a.s. ha ⁻¹)	0,25±0,046
t-test: p	0,176 ^{ns}

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

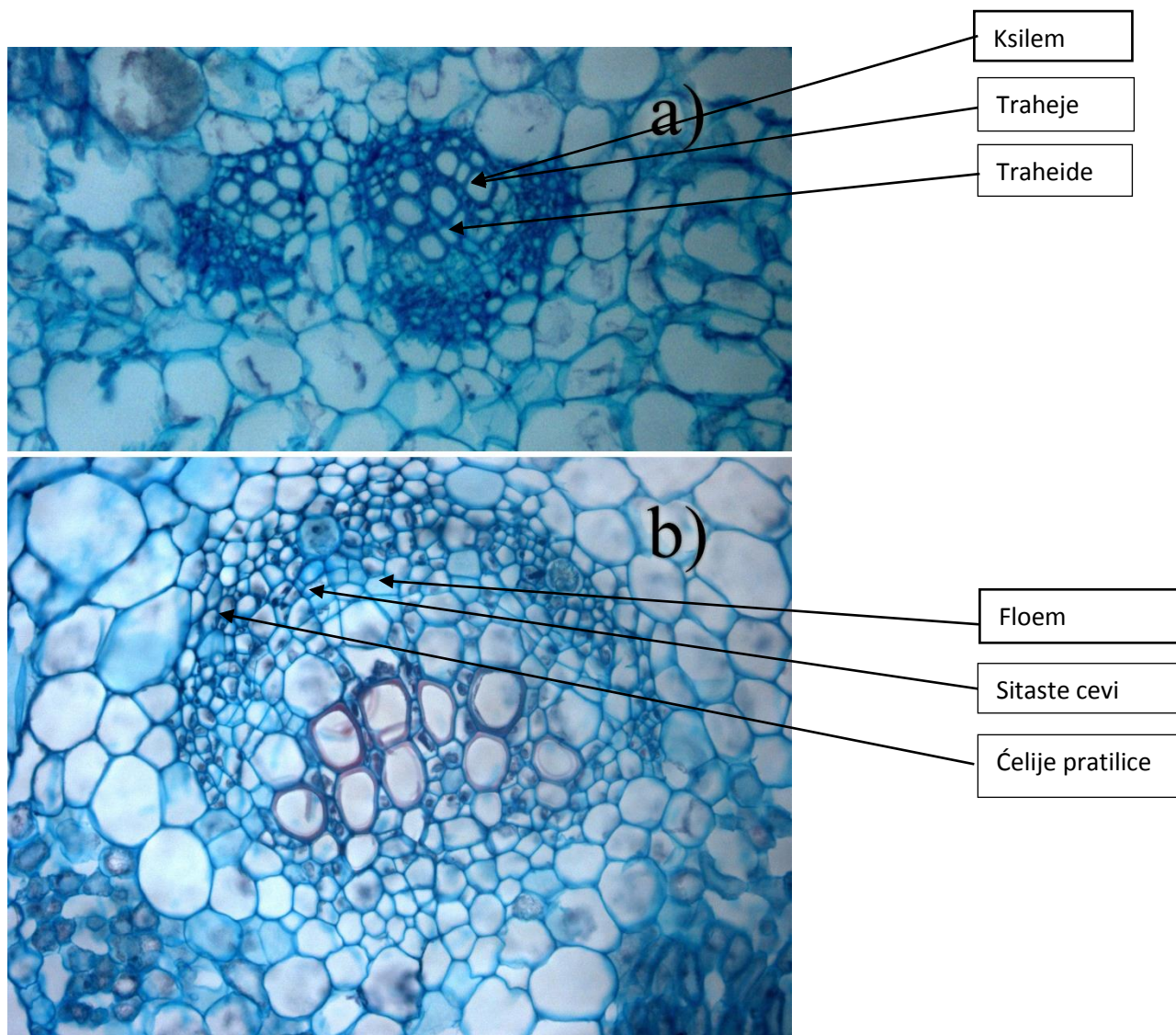
4.4 Anatomska građa lista *C. album* i *A. theophrasti*

Građa lista korovskih vrsta *C. album* i *A. theophrasti* je dorzoventralna, što podrazumeva da se lice i naličje jasno razlikuju. Na poprečnom preseku lista mogu se uočiti epidermis (lica i naličja) lista, mezofil i provodni snopići (Slika 7). Mezofil je diferenciran na palisadno tkivo (koje se nalazi neposredno ispod epidermisa lica) i sunderasto tkivo (uz epidermis naličja),

što je tipično za većinu dikotiledonih biljaka. Pored opisanih slojeva, na poprečnom preseku se mogu uočiti i provodni snopići (ksilem i floem), koji pripadaju tipu kolateralnih zatvorenih snopića (Slika 8).



Slika 7. Poprečni presek lista *C. album* (a) i *A. theophrasti* (b)



Slika 8. Kolateralni zatvoreni provodni snopići lista *C. album* (a) i *A. theophrasti* (b)

Generalno, vrednosti analiziranih parametara anatomske građe lista obe korovske vrste su zavisile od starosti listova, tj. njihove pozicije na biljci. Najveće vrednosti za sve merene parametre su zabeležene kod najstarijih listova, a najmanje kod najmlađih listova obe vrste (Tabela 6 i 7). U tabelama 8 i 9 (u prilogu) su predstavljeni podaci statističke analize parametara anatomske građe lista *C. album* i *A. theophrasti*.

4.4.1 Anatomska građa lista *C. album*

Na poprečnom preseku lista *C. album* najveće vrednosti parametara anatomske građe listova su izmerene na poziciji najstarijih listova, a najmanje na najmlađim listovima (Tabela 6). Idući od najmlađeg ka najstarijem listu izmerene vrednosti anatomskih parametara su bile

u opsegu: ELL 12-13 μm , ENL 10-11 μm , PT 82-90 μm , ST 56-60 μm , ML 138-151 μm , UDL 161-175 μm . Jednofaktorskom analizom varijanse je utvrđeno da debljina ELL, ENL, PT, ST, ML i UDL ne zavisi od faze razvoja, odnosno pozicije lista na biljci (Tabela 10). Na osnovu međusobnog poređenja analiziranih parametara između listova različite starosti pomoću LSD testa utvrđeno je da se debljina ELL, ENL, ST između listova različitih starosti nije statistički značajno razlikovala ($p>0,05$; Tabela 8 u prilogu), dok su statistički značajne razlike ($p<0,05$) u debljini PT, ML i UDL potvrđene između donjih najstarijih listova (na poziciji 1 i 2) i najmlađih listova (na poziciji 5) (Tabela 8 u prilogu).

Tabela 6. Anatomska građa listova *C. album* različite starosti (prosek \pm SD)

Pozicija (sprat) lista	ELL	ENL	PT	ST	ML	UDL
	μm					
1. par	13,00 \pm 2,10	11,10 \pm 1,25	90,81 \pm 14,83	60,61 \pm 12,72	151,43 \pm 22,59	175,54 \pm 24,27
2. par	12,35 \pm 1,88	10,92 \pm 2,02	89,34 \pm 10,10	59,86 \pm 7,91	149,21 \pm 11,69	172,48 \pm 13,49
3. par	12,35 \pm 1,96	10,88 \pm 2,40	86,90 \pm 7,40	58,93 \pm 7,52	145,84 \pm 11,30	169,07 \pm 11,74
4. par	12,25 \pm 1,90	10,70 \pm 1,77	85,32 \pm 7,10	57,19 \pm 7,11	142,52 \pm 10,85	165,48 \pm 11,41
5. par	12,02 \pm 2,12	10,61 \pm 0,97	82,36 \pm 14,75	56,36 \pm 12,28	138,71 \pm 24,38	161,36 \pm 25,07

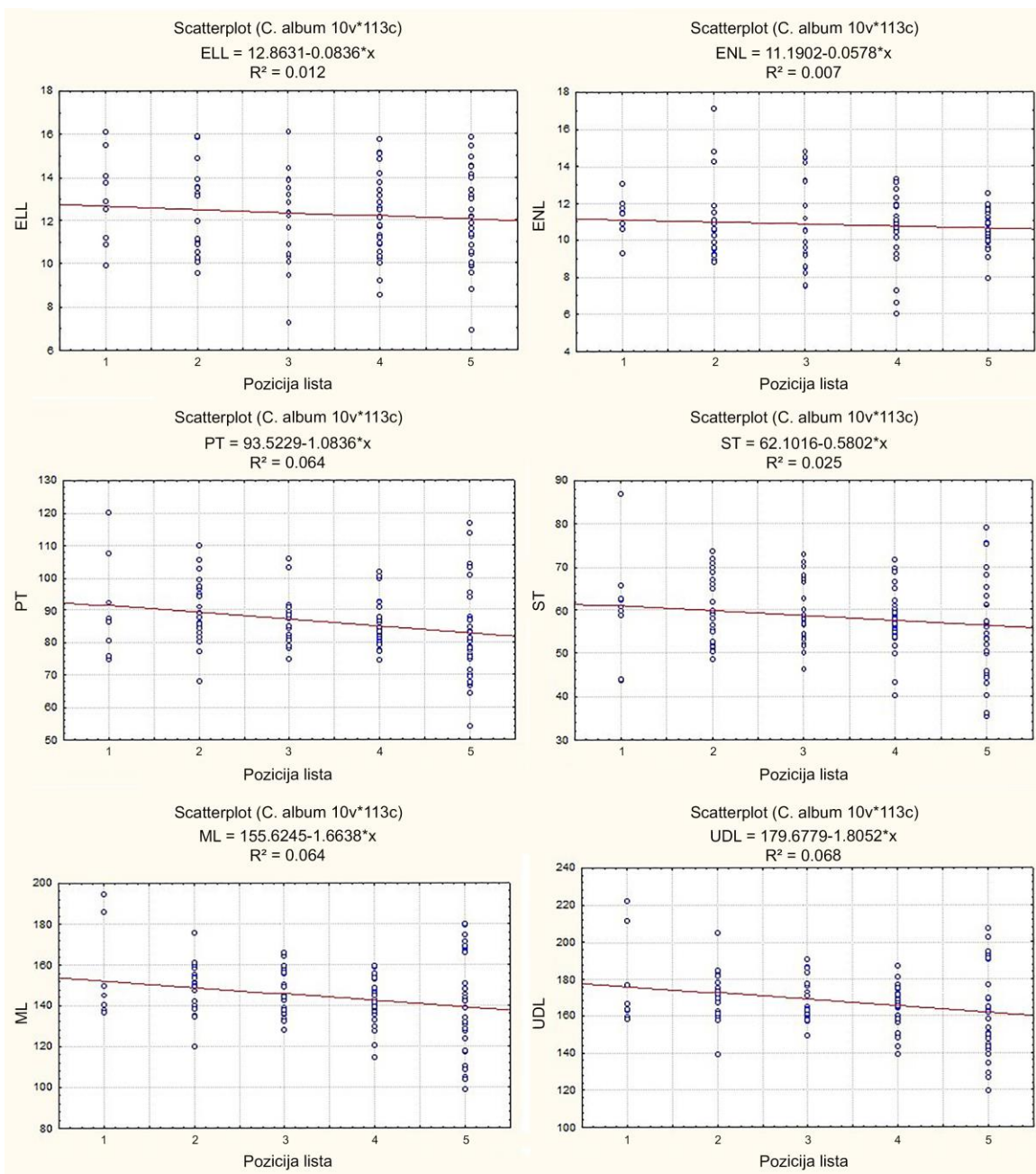
ELL (debljina epidermisa lica lista); ENL (debljina epidermisa naličja lista); PT (debljina palisadnog tkiva); ST (suderastog tkiva); ML (debljina mezofila); UDL (ukupna debljina lista)

Tabela 10. Jednofaktorska analiza varijanse za parametre anatomske građe lista *C. album*

Parametar	F	p
ELL (μm)	0,437	0,7817 ^{ns}
ENL (μm)	0,208	0,9335 ^{ns}
PT (μm)	1,875	0,120 ^{ns}
ST (μm)	0,723	0,578 ^{ns}
ML (μm)	1,861	0,123 ^{ns}
UDL (μm)	1,977	0,103 ^{ns}

($p<0,01$)**; ($0,01<p<0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p>0,05$)

Na osnovu korelacione analize izmerenih parametara anatomske građe lista uočena je statistički slaba (niska) zavisnost (korelacija) između debljine tkiva lista *C. album* i starosti lista (Grafik 15). Naime, vrednost koeficijenta korelacije za sva tkiva ukazuje da je korelaciona zavisnost između debljine parametara anatomske građe i starosti lista *C. album* ($R^2<0,07$) beznačajna.



Grafik 15. Korelaciona zavisnost između debljine parametara anatomske građe *C. album* i starosti lista

4.4.2 Anatomska građa lista *A. theophrasti*

Kao i kod *C. album*, najveća debljina parametara anatomske građe listova *A. theophrasti* je izmerena na poziciji najstarijih listova, a najmanja na najmlađim listovima (Tabela 7), s tim što su izmerene vrednosti uglavnom bile nešto niže u odnosu na *C. album* i od najmlađeg ka najstarijem listu kretale su se u opsegu: ELL 11-14 μm , ENL 8-12 μm , PT 52-81 μm , ST 30-48 μm , ML 83-129 μm , UDL 103-156 μm . Nasuprot *C. album*, jednofaktorskom analizom

varijanse kod *A. theophrasti* je utvrđeno da debljina ELL, ENL, PT, ST, ML i UDL zavisi od faze razvoja, odnosno pozicije lista na biljci (Tabela 11). Takođe, pomoću LSD testa su potvrđene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u debljini ELL, ENL, PT, ST, ML i UDL između listova različitih starosti, odnosno pozicije na biljci (Tabela 9 u prilogu).

Tabela 7. Anatomska građa lista *A. theophrasti* različite starosti (prosek±SD)

Pozicija (sprat) lista	ELL	ENL	PT	ST	ML	UDL
	μm					
1. list	14,82±4,02	12,12±2,64	81,05±10,61	48,44±10,86	129,49± 19,35	156,42±20,25
2. list	13,54±3,44	11,90±2,70	80,76±12,69	44,31±12,03	125,07±22,58	150,53±22,80
3. list	12,46±3,16	10,11±2,23	77,17±12,51	42,70±6,76	119,87±17,91	142,44±16,99
4. list	11,69±2,71	9,87±2,23	72,17± 12,21	37,32±9,10	109,49±20,39	131,06±18,29
5. list	11,30±1,92	8,93±2,56	52,68±11,08	30,97±9,74	83,62±19,64	103,86±20,13

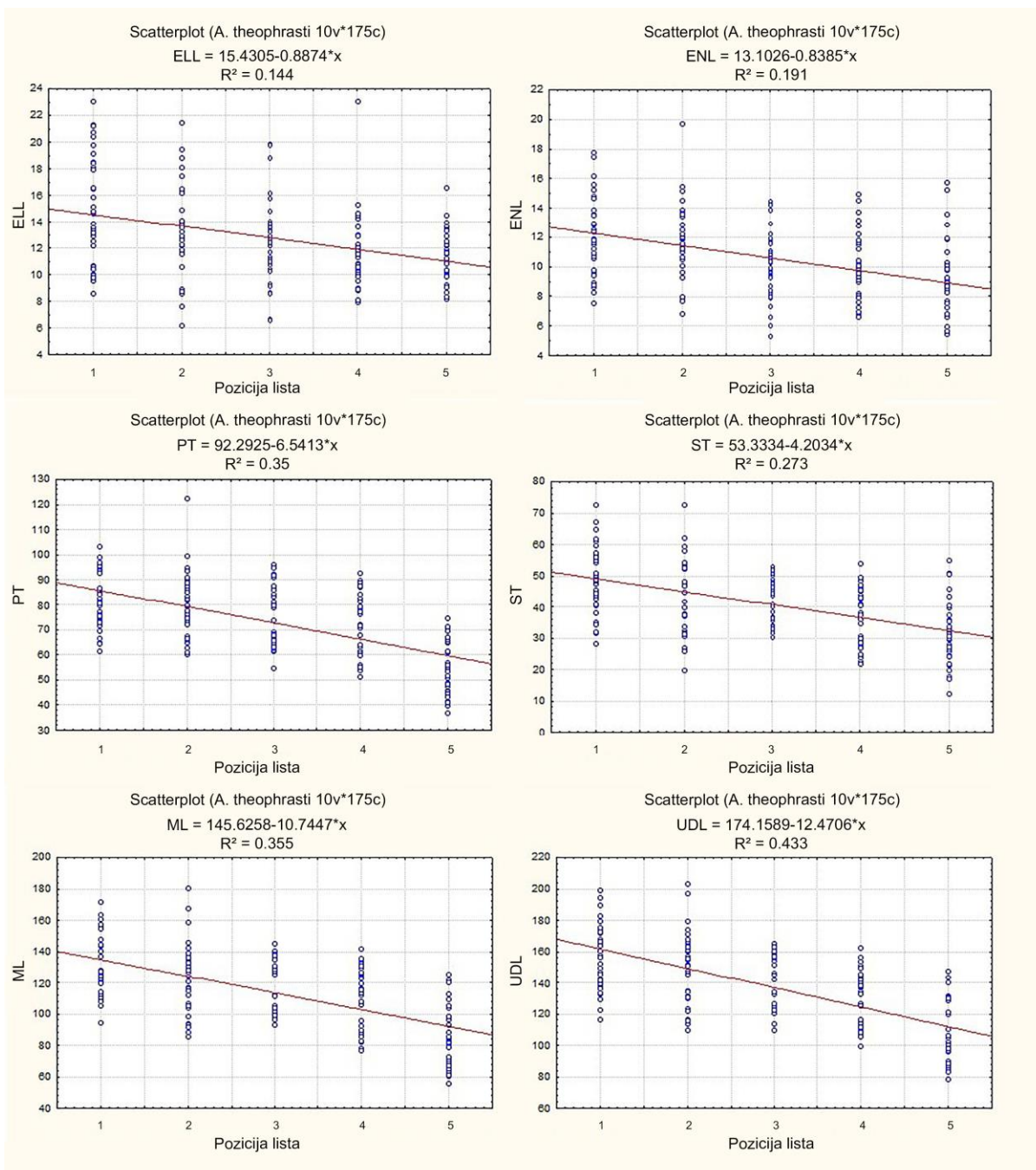
ELL (debljina epidermisa lica lista); ENL (debljina epidermisa naličja lista); PT (debljina palisadnog tkiva); ST (suderastog tkiva); ML (debljina mezofila); UDL (ukupna debljina lista)

Tabela 11. Jednofaktorska analiza varijanse za parametre anatomske građe lista *A. theophrasti*

Parametar	F	p
ELL (μm)	7,469	0,000**
ENL (μm)	10,853	0,000**
PT (μm)	35,455	0,000**
ST (μm)	16,848	0,000**
ML (μm)	29,817	0,000**
UDL (μm)	39,284	0,000**

($p < 0,01$)**; ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

Korelaciona zavisnost između debljine parametara anatomske građe i starosti lista kod vrste *A. theophrasti* je slaba (niska) (Grafik 16). U poređenju sa *C. album*, koeficijent korelacije kod *A. theophrasti* je veći, pri čemu je najveća vrednost zabeležena za UDL ($R^2=0,433$), potom za ML, PT, ST, ENL i ELL.



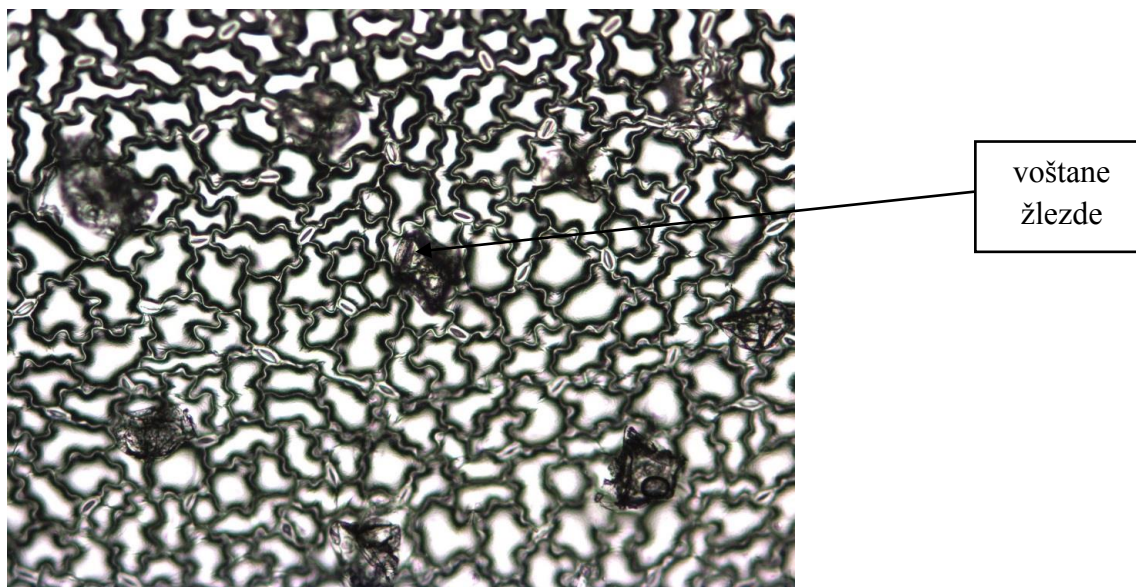
Grafik 16. Korelaciona zavisnost između parametara anatomske građe *A. theophrasti* i starosti lista

4.5 Površinske strukture lista *C. album* i *A. theophrasti*

Analiza površinskih struktura listova *C. album* različite starosti obuhvatila je proučavanje broja voštanih žlezda i stoma prisutnih na licu i naličju lista, dok je analiza površinskih struktura listova *A. theophrasti* različite starosti obuhvatila proučavanje broja dlaka i stoma prisutnih na licu i naličju lista. Pokazalo se da posmatrano od donjih najstarijih listova ka gornjim najmlađim dolazi do povećanja broja analiziranih parametara (po jedinici površine) i

na licu i na naličju obe korovske vrste. Svi mereni parametri kod obe korovske vrste u svim fazama su imali veće vrednosti (veći broj stoma i voštanih žlezda/dlaka) na naličju nego na licu lista.

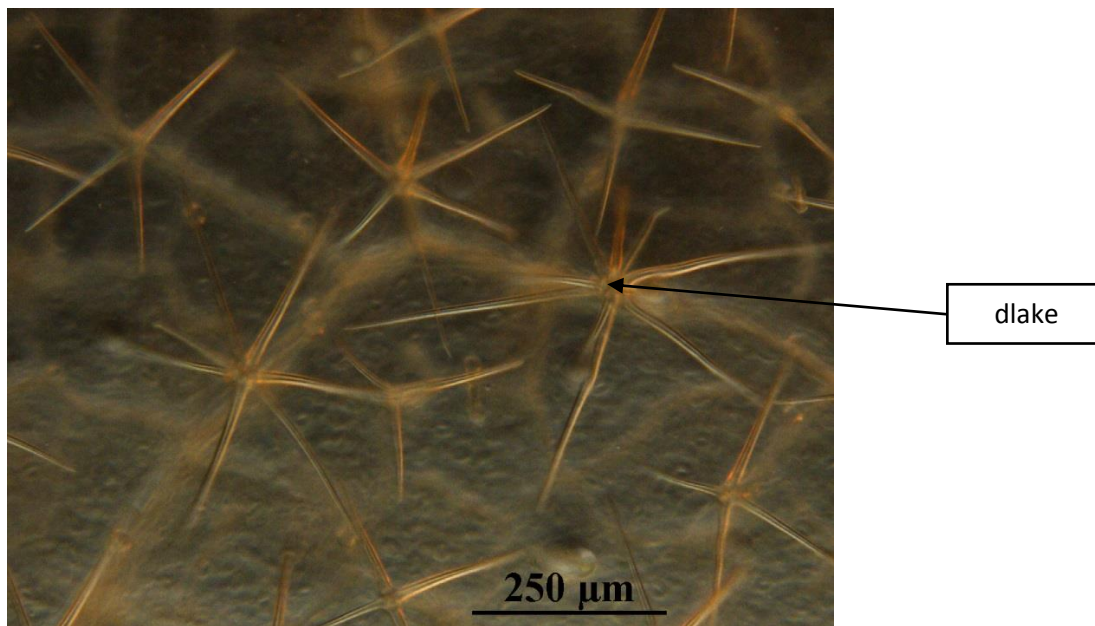
Za listove *C. album* je karakteristično prisustvo voštanih žlezda na površini lista koje stvaraju voštanu pepeljastu prevlaku (Slika 9). Broj voštanih žlezda na licu lista *C. album* se kretao u opsegu 1,48-5,87 mm⁻², dok je na naličju bio 2,16-12,58 mm⁻² (Tabela 12). Jednofaktorskom analizom varijanse je potvrđeno da broj voštanih žlezda zavisi od starosti lista ($p < 0,01$; Tabela 13). Osim toga, broj voštanih žlezda se statistički značajno razlikovao ($p < 0,05$) između listova različite starosti (Tabela 14 u prilogu). Razlike u broju voštanih žlezda između listova različite starosti su veoma značajne, a naročito između donjih najstarijih listova (1. i 2. par) i gornjih mlađih listova (4. i 5. par listova). Na osnovu korelacione analize utvrđen je srednji nivo zavisnosti (korelacija) između broja voštanih žlezda na listovima *C. album* i starosti lista (Grafik 17). Pokazalo se da koeficijent korelacije ima veću vrednost za broj voštanih žlezda na naličju listova ($R^2=0,635$) u odnosu na lice ($R^2=0,501$).



Slika 9. Voštane žlezde na listu *C. album*

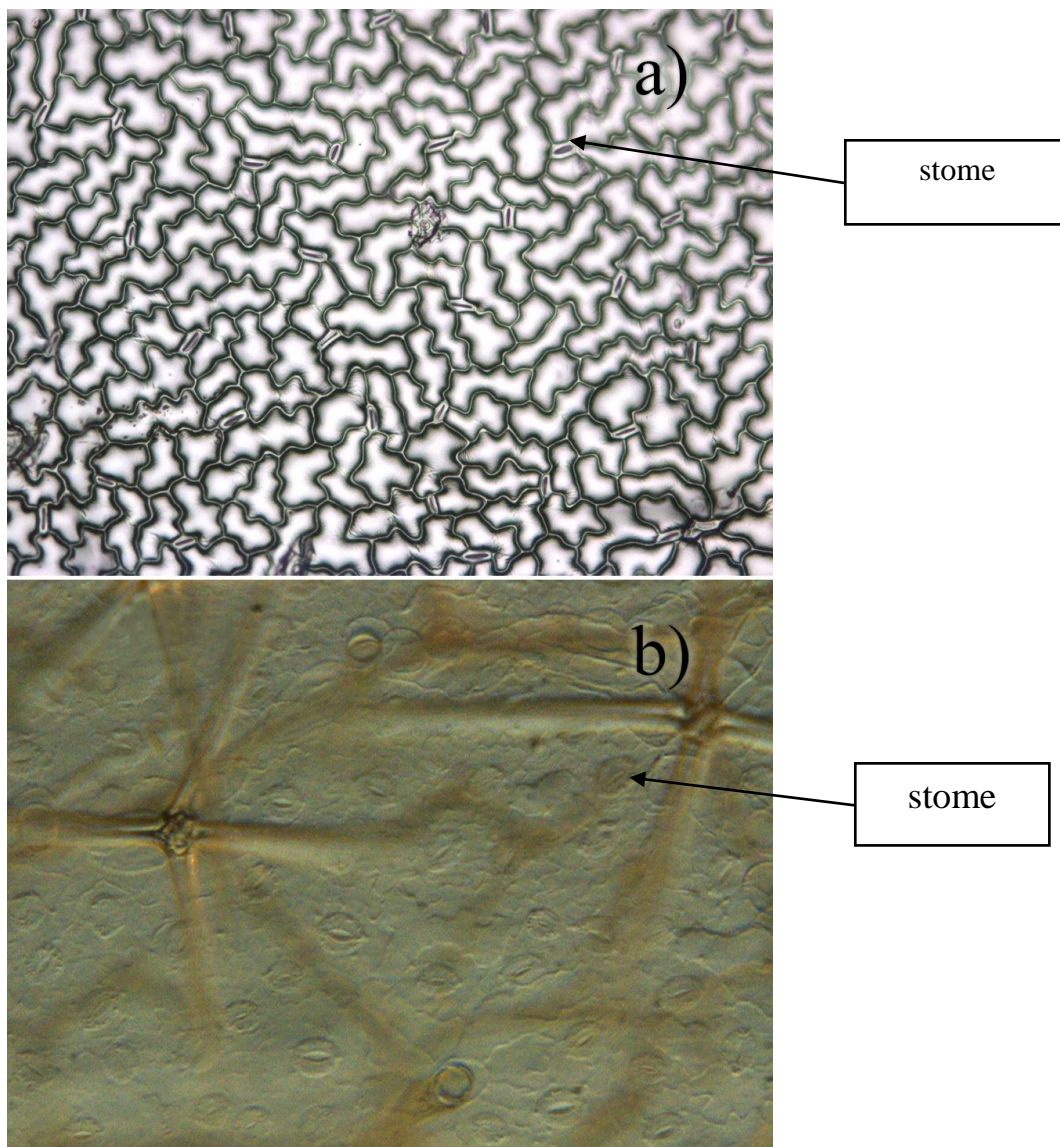
Površina listova (lice i naličje) biljaka *A. theophrasti* je pokrivena gustim dlakama (Slika 10). Broj dlaka na licu lista kretao se u opsegu 5,02-17,58 mm⁻², dok je na naličju bilo 2,16-12,58 dlaka mm⁻² (Tabela 12). Jednofaktorskom analizom varijanse je potvrđeno da broj dlaka zavisi od starosti, odnosno pozicije lista ($p < 0,01$) (Tabela 13). Osim toga, broj dlaka se statistički značajno razlikovao ($p < 0,05$) između listova različite starosti (Tabela 14 u

prilogu). Statistički veoma značajna razlika u broju dlaka na licu lista je konstantovana između svih faza od najstarijeg (1) do najmlađeg (5) lista, izuzev između 3. i 4. gde nije bilo statistički značajne razlike. Za naličje lista *A. theophrasti* su dobijeni slični rezultati u smislu da samo između 2. i 3, odnosno 3. i 4. lista nije bilo statistički značajne razlike, dok su između svih ostalih utvrđene postojanje statistički veoma značajne razlike u broju dlaka. Između broja dlaka na licu lista i starosti lista je potvrđena srednja zavisnost (korelacija) ($R^2=0,521$), dok je ista zavisnost na naličju lista slaba (niska) ($R^2=0,350$) (Grafik 17).



Slika 10. Dlake na listovima *A. theophrasti*

Brojnost stoma na licu lista *C. album* je bila u opsegu 43,09-185,01 mm^{-2} , dok je na naličju bila 50,48-262,88 po mm^{-2} (Tabela 12, Slika 11a). Jednofaktorskom analizom varijanse je potvrđeno da broj stoma zavisi od starosti lista ($p<0,01$) (Tabela 13). Osim toga, broj stoma između listova različitih starosti se statistički značajno razlikovao ($p<0,05$) (Tabela 14 u prilogu). Zabeležena je statistički veoma značajna razlika u broju stoma na licu i naličju lista između svih faza od 1. do 5. para listova izuzev, između 1. i 2. para listova gde nije bilo statistički značajne razlike u broju stoma ni na licu i ni na naličju lista. Na osnovu korelacione analize utvrđeno je da između broja stoma i starosti lista *C. album* (Grafik 17) postoji jaka zavisnost, pri čemu je koeficijent korelacije približno jednak za broj stoma na licu ($R^2=0,794$) i na naličju ($R^2=0,809$) lista.



Slika 11. Stome na listu *C. album* (a) i *A. theophrasti* (b)

Brojnost stoma na licu lista *A. theophrasti* je bila u opsegu 155,78-259,80 mm⁻², dok je na naličju bila 191,36-294,52 mm⁻² (Tabela 12, Slika 11b). Jednofaktorskom analizom varijanse je potvrđeno da broj stoma zavisi od starosti lista ($p < 0,01$) (Tabela 13), pri čemu između listova različitih starosti postoje statistički značajne razlike ($p < 0,05$) (Tabela 14 u prilogu). Utvrđena je statistički veoma značajna razlika u broju stoma na licu lista između svih faza od najstarijeg (donjeg) do najmlađeg (5) lista. Na naličju lista između 2. i 3. odnosno 3. i 4. lista nije bilo statistički značajne razlike, dok je između svih ostalih zabaleženo postojanje statistički veoma značajne razlike u broju stoma. Korelaciona analiza je pokazala da između broja stoma i starosti lista *A. theophrasti* postoji srednja zavisnost (korelacija) na licu listova ($R^2=0,536$) i slaba (niska) zavisnost (korelacija) na naličju ($R^2=0,350$) (Grafik 17).

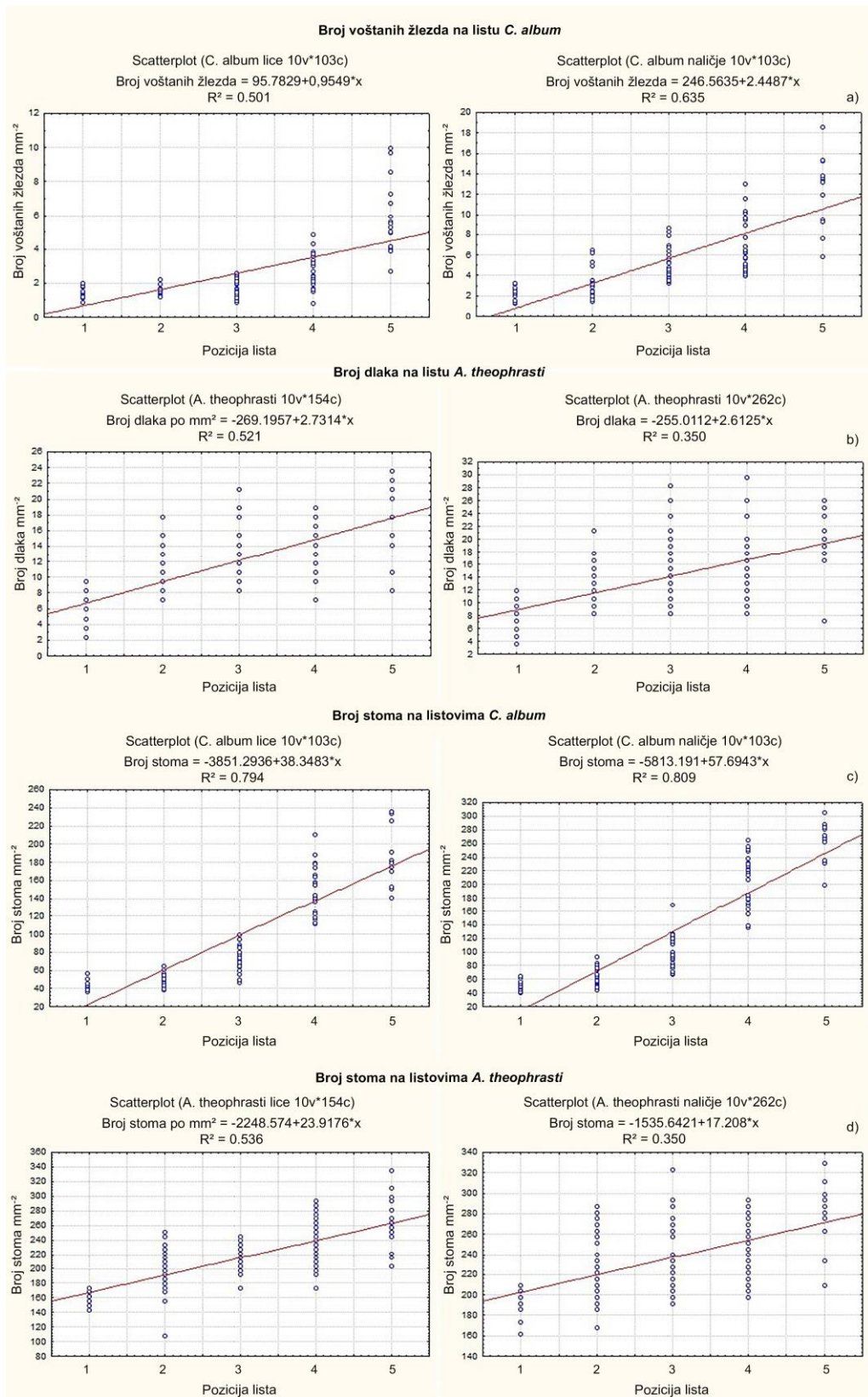
Tabela 12. Broj površinskih struktura mm⁻² na listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti (prosek±SD)

<i>C. album</i>	Broj voštanih žlezda mm ⁻²				
	1. par listova	2. par listova	3. par listova	4. par listova	5. par listova
Lice lista	1,48±0,34	1,55±0,23	1,75±0,46	2,76±0,97	5,87±2,08
Naličje lista	2,16±0,62	2,91±1,37	5,00±1,64	7,06±2,64	12,58±3,44
<i>A. theophrasti</i>	Broj dlaka mm ⁻²				
	1. list	2. list	3. list	4. list	5. list
Lice lista	5,02±2,05	10,36±2,33	12,83±3,67	14,17±2,60	17,58±5,00
Naličje lista	6,55±2,58	12,73±3,10	14,83±5,25	15,80±4,23	21,65±2,99
<i>C. album</i>	Broj stoma po mm ²				
	1. par listova	2. par listova	3. par listova	4. par listova	5. par listova
Lice lista	43,09±5,4	49,50±6,65	75,86±14,94	150,18±27,19	185,01±33,42
Naličje lista	50,48±7,54	60,68±12,94	98,70±23,44	201,88±39,84	262,88±30,20
<i>A. theophrasti</i>	Broj stoma mm ⁻²				
	1. list	2. list	3. list	4. list	5. list
Lice lista	155,78±8,77	196,90±30,77	215,29±14,15	237,89±31,83	259,80±41,99
Naličje lista	191,36±12,57	229,95±26,91	237,37±30,89	245,76±28,72	294,52±16,55

Tabela 13. Jednofaktorska analiza varijanse za površinske strukture na listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti

<i>C. album</i>	F	p
broj voštanih žlezda na licu lista	62,29	0,000**
broj voštanih žlezda na naličju lista	61,99	0,000**
<i>A. theophrasti</i>	F	p
broj dlaka na licu lista	47,67	0,000**
broj dlaka na naličju lista	32,26	0,000**
<i>C. album</i>	F	p
broj stoma na licu lista	183,82	0,000**
broj stoma na naličju lista	205,190	0,000**
<i>A. theophrasti</i>	F	p
broj stoma na licu lista	45,52	0,000**
broj stoma na naličju lista	30,90	0,000**

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)



Grafik 17. Korelaciona zavisnost između: (a) broja voštanih žlezda i starosti lista *C. album* (lice i naličje); (b) broja dlaka i starosti lista *A. theophrasti* (lice i naličje); (c) broja stoma i starosti lista *C. album* (lice i naličje); (d) broja stoma i starosti lista *A. theophrasti* (lice i naličje)

4.6 Epikutikularni voskovi lista *C. album* i *A. theophrasti*

Udeo epikutikularnih voskova u listovima *C. album* je bio najveći u najstarijim, a najmanji u najmlađim listovima (Tabela 15), dok je kod *A. theophrasti* najveći udeo voskova konstantovan kod mlađih gornjih listova u odnosu na starije, donje listove (Tabela 15). Jednofaktorskom analizom varijanse je utvrđeno da kod obe vrste udeo voskova u listovima ne zavisi od faze razvoja, odnosno pozicije lista na biljci (Tabela 16). Takođe, udeo voskova se nije statistički značajno razlikovao ($p>0,05$) između listova različite starosti (Tabela 17 u prilogu).

Tabela 15. Relativni udeo epikutikularnih voskova u listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti (prosek \pm SD)

Pozicija (sprat) lista	<i>C. album</i> %	<i>A. theophrasti</i> %
1.	0,40 \pm 0,07	0,13 \pm 0,05
2.	0,39 \pm 0,04	0,15 \pm 0,04
3.	0,34 \pm 0,11	0,18 \pm 0,01
4.	0,31 \pm 0,03	0,17 \pm 0,01
5.	0,31 \pm 0,03	0,18 \pm 0,01

Tabela 16. Jednofaktorska analiza varijanse za udeo epikutikularnih voskova u listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti

	F	p
<i>C. album</i>	0,720	0,598 ^{ns}
<i>A. theophrasti</i>	0,963	0,469 ^{ns}

($p<0,01$)**; ($0,01<p<0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p>0,05$)

Karakterizacija voskova u listu *C. album* i *A. theophrasti* je izvršena na nivou epikutikularnog voska. Analizom hemijskog sastava ovog voska, kod obe vrste je utvrđeno prisustvo sledećih klasa jedinjenja: aldehidi, alkani, alkoholi, estri, ketoni i triterpeni. Osim toga, kod *C. album* su detektovane klase estara i sterola, etara i sterola, a kod *A. theophrasti* masnih kiselina, laktona i vitamina E. Dominantni udeo u sastavu voskova kod obe vrste su imali: alkani i alkoholi, a kod *A. theophrasti* značajan udeo je imala i klasa triterpena.

Generalno, kvantitativni sadržaj epikutikularnih voskova lista kod obe korovske vrste je zavisio od faze starosti, kako u pogledu sadržaja klasa jedinjenja (Tabela 18) tako i u sadržaju samih jedinjenja (Tabela 19-20). Sadržaj komponenti epikutikularnog voska (estara, estara i sterola, etara, ketona) listova *C. album* je bio statistički značajno veći kod najstarijeg para listova (1. par) u odnosu na mlađe listove. Nasuprot tome, sadržaj sterola i triterpena u najmlađim (5. par) listovima je bio statistički značajno veći u odnosu na starije listove (od 1. do 4. para). Sadržaj aldehida, alkana, alkena i alkohola u sastavu epikutikularnih voskova se nije statistički značajno razlikovao između listova različite starosti (Tabela 21 u prilogu). U sadržaju epikutikularnih voskova listova *A. theophrasti* kod najstarijeg (1. lista) je bilo statistički značajno manje aldehida i estera u odnosu na mlađe listove, dok je sadržaj triterpena bio statistički značajno veći u najmlađim listovima (5. list) nego u starijim listovima (od 1. do 4. lista). Sadržaj jedinjenja iz klasa alkani, alkoholi, ketoni, masne kiseline, laktoni, steroli, vitamin E je bio sličan u epikutikularnim voskovima listova različite starosti, i nisu zabeležene statistički značajne razlike (Tabela 22 u prilogu).

U sastavu epikutikularnog voska listova *C. album* najzastupljeniji su bili alkani i alkoholi, a listova *A. theophrasti* alkani, alkoholi i triterpeni, pa su iz tog razloga ove klase jedinjenja detaljnije analizirane. Statistička analiza značajnosti razlika u sadržaju ovih jedinjenja između listova različite starosti kod ispitivanih vrsta (*C. album* i *A. theophrasti*) je prikazana u tabelama 23-27 (u prilogu).

Od hemijskih jedinjenja koja pripadaju klasi alkana, najveći udeo u ukupnom sadržaju voskova kod listova *C. album* i *A. theophrasti* imaju heptakosan, nonakosan i untrikontan (Tabela 18). Sadržaj ovih jedinjenja se statistički značajno ili veoma značajno razlikovao između listova različite starosti, odnosno pozicije na biljci (Tabela 23, 25 u prilogu). Sadržaj jedinjenja heptakosan kod *C. album* je statistički bio značajno veći kod najmlađeg para listova (5. par) u odnosu na starije listove, dok međusobnim poređenjem između ostalih listova nije bilo statistički značajne razlike. Nasuprot tome, sadržaj jedinjenja nonakosan je statistički bio značajno manji kod najstarijih (1. i 2. par listova) nego kod ostalih listova. Sadržaj untrikontana se nije statistički značajno razlikovao samo između 1. i 2. para listova, dok je kod mlađih listova utvrđen statistički veći sadržaj nego kod starijih listova (Tabela 23 u prilogu). Kod *A. theophrasti* nije bilo statistički značajnih razlika između listova različite starosti u sadržaju jedinjenja heptakosan i untriakontan, dok je sadržaj nonakosana statistički značajno bio manji u najmlađem listu (5. list) u odnosu na starije listove.

Od hemijskih jedinjenja koji pripadaju klasi alkohola, najveći udeo u ukupnom sadržaju voskova kod listova *C. album* i *A. theophrasti* su imala jedinjenja oktakosanol i triakontanol

(Tabela 19, 20), pri čemu se sadržaj ovih jedinjenja u listovima statistički značajno razlikovao između listova različite starosti (Tabela 24, 26 u prilogu). Kod *C. album* je sadržaj oktakosanola statistički bio značajno manji kod najstarijih (1. par) i najmlađih (5. par) u odnosu na ostale listove, a u sadržaju triakontanola je potvrđen statistički značajno manje kod najstarijih (1. par) u odnosu na ostale listove (Tabela 24 u prilogu). Kod *A. theophrasti*, sadržaj oktakosanola je bio statistički značajno manji kod najstarijeg lista u odnosu na mlađe (4. i 5. list), dok je statistički značajna razlika u sadržaju triakontanola potvrđena samo između najstarijeg i najmlađeg lista pri čemu je veći sadržaj bio kod najstarijeg lista (Tabela 26 u prilogu).

Kod *A. theophrasti* značajna je i klasa triterpena u voskovima lista, pri čemu su jedinjenja lup-20(29)-en-3-on, olean-12-en-3-on i skvalen imali najveći udeo (Tabela 20). Sadržaj jedinjenja lup-20(29)-en-3-on je bio statistički značajno različito manji u najmlađem listu (5. list) u odnosu na ostale listove, dok je sadržaj jedinjenja olean-12-en-3-on bio statistički značajno manji u 1. u odnosu na 2. list, a sadržaj jedinjenja skvalen je bilo statistički značajno veći u najstarijem listu (1. list) nego u mlađim listovima (Tabela 27 u prilogu).

Tabela 18. Sastav epikutikularnih voskova u listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti (prosek±SD)

Vrsta	Pozicija (sprat) lista	Aldehidi	Alkani	Alkeni	Alkoholi	Estri	Estri i Steroli	Etri	Ketoni	Steroli	Triterpeni	Masne kisljine	Laktoni	Vitamin E
%														
<i>C. album</i>	1. par	2,14±3,49	2,10±4,16	0,03±0,02	4,03±8,24	1,40±3,21	0,39±0,11	0,06±0,02	0,09±0,03	0,58±0,49	0,07±0,04			
	2. par	2,20±3,62	2,94±6,48	0,04±0,02	5,85±11,99	0,78±1,84	0,16±0,07	0,02±0,01	0,02±0,01	0,27±0,28	0,04±0,02			
	3. par	1,39±2,25	4,29±9,54	0,05±0,02	6,06±12,42	0,55±1,07	0,14±0,02	0,02±0,01	0,02±0,01	0,20±0,12	0,06±0,03			
	4. par	1,53±2,59	4,39±9,78	0,05±0,03	5,51±11,15	0,58±1,19	0,16±0,03	0,02±0,02	0,01±0,00	0,31±0,24	0,06±0,04			
	5. par	1,88±2,77	4,51±8,94	0,05±0,04	4,52±8,88	0,52±0,88	0,28±0,04	0,02±0,01	0,02±0,00	0,80±0,63	0,20±0,12			
<i>A. theophrasti</i>	1. list	0,09±0,09	2,91±5,63		2,71±2,22	0,39±0,46			0,18±0,07		4,35±4,79	0,27±0,01	0,07±0,05	0,77±0,23
	2. list	0,20±0,06	2,58±5,04		2,63±2,71	0,32±0,31			0,11±0,04		3,99±2,48	0,37±0,18	0,09±0,02	0,60±0,43
	3. list	0,31±0,19	2,54±4,54		2,70±3,04	0,57±0,74			0,06±0,02		4,07±2,70	0,52±0,57	0,07±0,01	1,01±1,05
	4. list	0,28±0,12	2,67±4,83		3,48±3,69	0,81±2,73			0,02±0,00		2,47±1,93	0,14±0,29	0,05±0,03	0,47±0,54
	5. list	0,19±0,08	1,95±3,24		3,33±3,41	1,23±2,42			0,04±0,01		1,53±1,10	0,14±0,18	0,03±0,01	0,39±0,47

Tabela 19. Sadržaj najzastupljenijih jedinjenja u voskovima listova *C. album* različite starosti (prosek±SD)

alkani									
Pozicija (sprat)	Heptakosan	Heksakosan	Nonakosan	Pentakosan	Skvalan	Tetrakosan	Triakontan	Trikosan	Untrikontan
lista									
%									
1. par	1,91±0,24	0,02±0,01	13,34±0,18	0,08±0,02	1,01±1,16	0,01±0,00	0,10±0,00	0,00±0,00	2,42±0,14
2. par	2,99±1,51	0,03±0,02	20,30±4,44	0,14±0,15	0,31±0,10	0,02±0,02	0,13±0,03	0,01±0,01	2,53±0,63
3. par	3,83±0,24	0,03±0,00	30,38±1,50	0,13±0,00	0,06±0,02	0,02±0,00	0,21±0,02	0,00±0,00	3,95±0,45
4. par	4,24±0,21	0,03±0,00	31,14±2,16	0,16±0,07	0,09±0,07	0,03±0,02	0,22±0,03	0,00±0,00	3,64±0,48
5. par	5,42±1,67	0,04±0,01	28,37±1,98	0,22±0,12	0,11±0,06	0,06±0,07	0,30±0,03	0,00±0,00	6,10±0,77
alkoholi									
Pozicija (sprat)	1-Heksadekanol	Triakontanol	Dotriakontanol	Oktakosanol	Oktadekanol				
lista									
%									
1. par	0,03±0,01	2,08±0,05	0,23±0,09	21,82±1,87	0,00±0,00				
2. par	0,00±0,00	3,39±0,05	0,14±0,03	31,58±4,34	0,01±0,01				
3. par	0,00±0,00	3,43±0,32	0,09±0,01	32,85±2,69	0,00±0,00				
4. par	0,00±0,00	3,41±0,60	0,09±0,02	29,57±1,53	0,00±0,00				
5. par	0,01±0,00	3,34±0,78	0,17±0,02	23,60±1,64	0,00±0,00				

Tabela 20. Sadržaj najzastupljenijih jedinjenja u voskovima listova *A. theophrasti* različite starosti (prosek±SD)

alkani													
Pozicija (sprat) lista	Dotriakontan	Heptakosan	Heksakosan	Nonakosan	Oktakosan	Pentakosan	Skvalan	Tetrakosan	Tetratriakontan	Triakontan	Trikosan	Tristriakontan	Untriakontan
%													
1. list	0,34±0,38	5,19±1,07	0,13±0,09	21,07±1,10	2,14±1,38	0,38±0,20	0,52±0,30	0,04±0,02	0,07±0,01	1,59±0,20	0,07±0,00	0,90±0,14	5,47±0,93
2. list	0,25±0,38	3,55±3,17	0,25±0,17	18,71±1,62	4,60±0,58	0,94±0,42	0,22±0,18	0,09±0,04	0,07±0,03	1,18±0,12	0,06±0,00	0,72±0,52	2,90±2,50
3. list	0,36±0,74	6,11±0,74	0,19±0,03	16,52±0,32	2,65±0,82	0,75±0,45	0,10±0,08	0,06±0,01	0,10±0,05	0,67±0,59	0,07±0,02	1,50±1,08	3,91±3,33
4. list	0,19±0,15	6,76±1,70	0,20±0,05	17,30±2,74	2,54±1,65	1,17±0,48	0,22±0,12	0,07±0,02	0,07±0,05	0,82±0,17	0,07±0,03	1,40±1,17	3,87±3,39
5. list	0,40±0,10	3,70±1,42	0,12±0,06	10,86±2,41	1,00±0,25	0,64±0,29	0,25±0,11	0,07±0,02	0,08±0,03	0,37±0,32	0,07±0,01	3,06±0,68	4,71±4,26
alkoholi													
Pozicija (sprat) lista	Nonakosanol			Oktakosanol			Triakontanol						
%													
1. list	0,30±0,10			5,29±0,84			2,55±0,53						
2. list	0,11±0,05			5,99±1,26			1,80±0,62						
3. list	0,33±0,19			6,58±1,46			1,17±0,54						
4. list	0,38±0,09			8,21±1,49			1,86±0,66						
5. list	1,11±0,09			7,84±0,91			1,04±0,24						
triterpeni													
Pozicija (sprat)	Lup-20(29)-en-3-on			Metil komat C			Olean-12-en-3-on			Skvalen			

lista				
		%		
1. list	5,90±1,41	0,13±0,03	1,67±2,36	9,69±5,93
2. list	4,84±0,49	0,18±0,03	4,75±0,57	6,19±1,60
3. list	4,74±2,14	0,23±0,05	5,17±0,97	6,14±1,88
4. list	2,49±0,97	0,15±0,00	3,52±0,34	3,72±2,69
5. list	1,19±0,26	0,14±0,15	2,61±0,20	2,15±1,07

5 DISKUSIJA

5.1 Osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu u zavisnosti od faze razvoja biljaka

Dobijeni rezultati o osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu su pokazali da faza razvoja u vreme primene mezotriona značajno utiče na osetljivost obe ispitivane vrste. Primena preporučene količine herbicida mezotrion u najranijim fazama razvoja (2 i 4 lista *C. album*, odnosno 1 i 2 lista *A. theophrasti*) dovela je do potpunog propadanja biljaka *C. album* i veoma visoke redukcije (>90%) mase biljaka *A. theophrasti*. Sa starenjem biljaka osetljivost se smanjivala, tako da kod biljaka *C. album* u fazi 10 listova, odnosno kod biljaka *A. theophrasti* u fazi 5 listova, redukcija mase nije bila veća od 60%, što je značajno niže u odnosu na redukciju mase biljaka tretiranih u ranim fazama razvoja. Kada se poredi osetljivost *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu, uočljivo je da je *C. album* ispoljio veću osetljivost u svim ispitanim fazama razvoja. To potvrđuje i izraženija korelaciona zavisnost između redukcije suve mase i faze razvoja biljaka u kojoj je herbicid primenjen kod *C. album* u poređenju sa *A. theophrasti* (Grafik 2, 4).

Smanjenje osetljivosti vrsta *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu sa starenjem biljaka u saglasnosti je sa prethodnim istraživanjima koja su potvrdila da osetljivost biljaka na herbicide zavisi od faze razvoja biljaka u vreme njihove primene. Kieloch i Domradzki (2011) su potvrdili da osetljivost korovskih vrsta *Anthemis arvensis* L., *C. album* i *Stellaria media* L. prema herbicidima (tribenuron-metil, jodosulfuron+amidosulfuron i metribuzin+amidosulfuron) primenjenim u različitim fazama razvoja (2-4, 6-8 i 10-12 listova), zavisi od korovske vrste, faze razvoja, herbicida i količine primene. Takođe, Faccini i Puricelli (2007) su utvrdili da efekat glifosata, 2,4-D i metsulfuron-metila na jednogodišnje i višegodišnje širokolisne korove zavisi od primenjenog herbicida, korovske vrste i faze razvoja u momentu primene. Efekat nikosulfurona i kletodima na *S. halepense* zavisi od faze razvoja korova u vreme primene ovih herbicida, pri čemu se efikasnost smanjuje kako se povećava faza razvoja tretirane biljke. Naime, kada su korovske biljke tretirane u fazi 6-8 listova efikasnost je bila na nivou 90% za kletodim i 83% za nikosulfuron, a kada je *S. halepense* imao 4-5 razvijenih listova kletodim je imao nivo efikasnosti u suzbijanju od 98%, a nikosulfuron 99% (Rosales-Robels et al., 2001). Ogleđima u laboratorijskim i poljskim uslovima dobijeni su identični rezultati promena u osetljivosti vrsta *A. theophrasti*, *A.*

artemisiifolia i *Solanum nigrum* L. prema bentazonu sa razvojem biljaka, pri čemu je utvrđeno da je efikasnost ovog herbicida više od 10% niža kada je primenjen na biljke u fazi 4-6 listova, nego na biljke u fazi 2 ili 2-4 lista (Bellinder et al., 2003).

Za razliku od prethodnih istraživanja, za neke korovske vrste nije tako izražena razlika u osetljivosti prema herbicidima između ranijih i kasnijih vegetativnih faza razvoja biljaka. Tako su Stougaard i sar. (1997) utvrdili da faza razvoja biljaka *Avena fatua* nema dominantan uticaj na osetljivost ove vrste prema herbicidima imazametabenz i diklofop, dok je efekat ovih herbicida više zavisio od drugih faktora poput brojnosti populacije i klimatskih uslova.

5.2 Reakcije biljaka *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Efikasno suzbijanje korova u današnjoj poljoprivrednoj praksi neophodno je za ostvarivanje kvalitetnog i stabilnog prinosa. Veoma je važno primeniti herbicide u adekvatnoj fazi, odnosno pre nego što korovi prerastu fazu rasta u kojoj su osetljivi na herbicide, što otežava mogućnost njihovog suzbijanja. Vranješ i sar. (2016) su utvrdili da su *C. album* i *A. theophrasti* veoma osetljivi prema mezotrionu primenjenom u preporučenoj količini od 120 g a.s. ha⁻¹ u ranim fazama razvoja ovih vrsta. Iz tog razloga se ukazala potreba da se ispita mogućnost eventualnog smanjenja količine primene ovog herbicida i utvrdi koja količina niža od preporučene može postići podjednako visok efekat u suzbijanju navedenih korovskih vrsta.

Obe ispitivane korovske vrste su ispoljile visoku osetljivost prema mezotrionu, što potvrđuje značajno smanjenje suve mase nakon primene ovog herbicida u odnosu na kontrolu. Naime, količina manja od 50 g a.s. ha⁻¹ je dovoljna za postizanje ED₉₅ kada je *C. album* u fazi 4 lista i *A. theophrasti* u fazi 2 lista. Ove faze razvoja korovskih vrsta su odabrane na osnovu rezultata prethodnih istraživanja (Vranješ i sar., 2016) i iskustva iz poljoprivredne prakse u Srbiji i svetu. Ukoliko se herbicid primeni kada su korovi u ranijoj fazi razvoja tada postoji opasnost da će na parceli doći do naknadnog nicanja korova koji nisu bili prisutni u momentu primene herbicida, a takođe ukoliko se zakasni sa primenom herbicida smanjuje se efekat njihovog delovanja, zbog čega je veoma važno suzbijanje korova obaviti u periodu koji predstavlja kritični period za suzbijanje korova.

U prethodnim istraživanjima je utvrđeno da pri folijarnoj primeni mezotriona, količina primene ovog herbicida za suzbijanje određenih korovskih vrsta može biti znatno smanjena ispod preporučene količine primene. Nurse i sar. (2010) su utvrdili da reakcija *C. album* prema mezotrionu zavisi od lokaliteta, odnosno meteoroloških uslova. Konstantovali su da

količine 15-38 g a.s. ha⁻¹ (niže od preporučene) su dovoljne za 90% redukcije biomase biljaka na različitim lokalitetima u Kanadi. Slično tome, Armel i sar. (2003) su utvrdili da količina od samo 35 g a.s. ha⁻¹ je dovoljna za suzbijanje *C. album*. Takođe, Pannacci i Covarelli (2009) su istraživali efekte minimalnih efektivnih količina za postizanje zadovoljavajuće efikasnosti mezotriona u suzbijanju vrsta *C. album* i *A. theophrasti* u kukuruzu u Italiji. Konstantovali su da se mezotrion može koristiti u količini manjoj od 30 g a.s. ha⁻¹, kako bi se postigla ED₉₅. Ova istraživanja su pokazala da ako se primenjuje u ranim fazama rasta *C. album* i *A. theophrasti*, mezotrion može efikasno suzbiti ove 2 vrste korova i u nižim količinama od preporučenih. Međutim, uočljivo je da se osetljivost korova (naročito *A. theophrasti*) prema mezotrionu u različitim delovima sveta (Italija, Kanada i Srbija) razlikuje. Kako je u navedenim ispitivanjima mezotrion primenjen u približno istoj fazi razvoja (2-6 listova) *C. album* i *A. theophrasti* na svim lokalitetima, uzrok različite osetljivosti ovih vrsta se može dovesti u vezu sa agroekološkim uslovima sredine. Naime, potvrđeno je da meteorološki uslovi ispoljavaju značajan uticaj na aktivnost folijarno primenjenih herbicida (Kudsk and Kristensen, 1992; Bozic et al., 2012, 2015a), zbog čega je veoma značajno da se utvrde minimalne efektivne količine za svako podneblje. Osim toga, razlike u osetljivosti mogu se pripisati činjenici da populacije različitog geografskog porekla usled razlika u istoriji primene herbicida ili genetičke varijabilnosti ispoljavaju različitu osetljivost prema herbicidima (Escorial et al., 2011).

Reakcije biljaka prema herbicidima se najčešće određuju na osnovu redukcije suve mase biljaka, koja se u brojnim istraživanjima pokazala kao najpouzdaniji parametar (Vrbničanin et al., 2008; Bozic et al., 2013, 2015b). Nedostaci ove metode su to što je ovo destruktivna metoda koja zahteva „žrtvovanje“ biljaka kako bi se izmerila masa, pri čemu je obično potrebno da prođe određeni period (2-3 nedelje) nakon primene herbicida da bi došlo do ispljavanja simptoma i mogućnosti da se utvrdi efekat herbicida. U cilju brže i efikasnije procene reakcija biljaka na herbicide poželjno je koristiti brze i nedestruktivne metode koje omogućavaju procenu osetljivosti biljaka na herbicid u kratkom roku (nekoliko dana) nakon njegove primene i ne zahtevaju žrtvovanje biljaka tako da se na istim biljkama mogu pratiti i drugi parametri.

Merenje fluorescencije hlorofila je 1 od nedestruktivnih metoda koja predstavlja značajan alat za proučavanje fizioloških procesa u biljkama, a može se iskoristiti i za utvrđivanje reakcija biljaka na pojedine herbicide. Maksimalna fluorescencija (F_v/F_m) i efektivni prinos fluorescencije PSII (Φ_{PSII}) predstavljaju važne indikatore stresa biljaka, pri čemu smanjenje vrednosti ovih parametara ukazuje na mogućnost inhibitornog efekta

herbicida ili drugih agenasa, koji utiče na transport elektrona u fotosistemu II (Kummerova et al., 2006). Merenjem fluorescencije hlorofila se mogu dobiti važne informacije o efektima herbicida koji direktno ometaju proces fotosinteze. Merenja parametara fluorescencije hlorofila kod biljaka *C. album* i *A. theophrasti* tretiranih mezotrionom su potvrdila (Tabela 7) da se efekat mezotriona jasno može detektovati 3 DNP. Da bi se postigla vrednost ED₉₅ u smanjenju fluorescencije hlorofila kod biljaka ovih vrsta mogu se primeniti niže količine mezotriona od preporučenih 120 g a.s.ha⁻¹. Dakle, za postizanje ED₉₅ za parametar Fv/Fm kod *A. theophrasti* potrebno je 45 g a.s. ha⁻¹, dok je za isti efekat kod *C. album* dovoljno 26 g a.s. ha⁻¹. Količina primene mezotriona koja obezbeđuje ED₉₅ za parametar Φ_{PSII} je duplo niža za vrstu *A. theophrasti* (41 g a.s. ha⁻¹), nego za vrstu *C. album* (85 g a.s.ha⁻¹). Kaiser i sar. (2013) su potvrdili da fluorescencija hlorofila pruža pouzdane podatke o efektima herbicida čiji mehanizam delovanja je inhibiciju sinteze amino i masnih kiselina. Osim toga, različiti parametri fluorescencije hlorofila su se pokazali pogodnim za brzo utvrđivanje reakcija biljka na herbicide i eventualno otkrivanje rezistentnosti biljaka na ova jedinjenja (Zhang et al., 2016). McCurdy i sar. (2009) su proučavali uticaj mezotriona na fotohemijisku efikasnost *Digitaria sanguinalis* L. na osnovu vrednosti Fv/Fm tretiranih (0.235) i kontrolnih biljaka (0.671). Takođe, Goddard i sar. (2010) su utvrdili da mezotrion utiče na vrednosti Fv/Fm tretiranih biljaka *Digitaria ischaemum* Schreb. i *Schedonorus phoenik* Scop., pri čemu taj uticaj zavisi od relativne vlažnosti. Kummerova i sar. (2006) su pokazali da fluoranten (policiklični aromatični ugljovodonik) značajno smanjuje Fv/Fm i Φ_{PSII}, tako što narušava transport elektrona u fotosistemu II u biljkama graška. Velika prednost metode za analizu fluorescencije hlorofila je nedestruktivnost i mogućnost da se brzo uoče promene u fiziološkim procesima lista. Ovo je moguće čak i pre nego što se vizuelno uoči bilo kakav efekat na rast i razvoj, u čemu se upravo ogleda efikasnost ove metode (Barbagallo et al., 2003). Uprkos prednostima, nedostatak ove metode se sastoji u tome što je očitavanje parametara fluorescencije moguće samo ako biljke pre toga nisu bile izložene svetlosti, što je čini teško izvodljivom u poljskim uslovima.

Očitavanje relativnog sadržaja hlorofila/ozelenelosti listova pomoću SPAD metra je još 1 nedestruktivna metoda koja se može koristiti za istraživanje reakcija biljaka na herbicide, a zasnovana je na očitavanju intenziteta ozelenelosti listova (SPAD vrednost), kao i relativnog sadržaja hlorofila (RSH) u listu. Mezotrion, kao inhibitor biosinteze karotenoida, prouzrokuje destrukciju hlorofila u odsustvu karotenoida, što rezultira izbeljivanjem zelenih tkiva. Visoke vrednosti ED₉₅ za SPAD očitavanja (*A. theophrasti*: 182 g a.s. ha⁻¹; *C. album*: 180 g a.s.ha⁻¹) i RSH (*A. theophrasti*: 221 g a.s. ha⁻¹; *C. album*: 234 g a.s. ha⁻¹) dobijene u ovom istraživanju

moгу se objasniti time što su navedeni parametri očitavani u kratkom roku (3 dana) nakon primene herbicida. Pri analizi efekata ekstrakata 6 biljnih vrsta (*Crocus sativus* L., *Ricinus communis* L., *Nicotiana tabacum* L., *Datura inoxia* Mill., *Nerium oleander* L. i *Sorghum vulgare* L.) koji su ispitivani kao potencijalni bioherbicidi za suzbijanje *Amaranthus retroflexus* utvrđeno je da očitavanje SPAD vrednosti može poslužiti za uočavanje promena u sadržaju hlorofila tek mesec dana nakon primene ovih ekstrakata (Nekonom et al., 2014). Takođe, Fanaei i sar. (2013) su merenjem sadržaja hlorofila pomoću SPAD-metra pratili efekat ekstrakta *Ocimum basillicum* L. u suzbijanju *A. theophrasti*, *C. album* i *Centaurea depressa* M. Bieb. Konstantovali su 20 dana nakon tretiranja da je došlo do smanjenja sadržaja hlorofila kod *A. theophrasti* i *C. depressa*, dok kod *C. album* nije bilo statistički značajnih efekata. Ipak, efekat pojedinih herbicida (zavisno od mehanizma delovanja) na ozelenelost listova i relativni sadržaj hlorofila se može detektovati u znatno kraćem roku. Na primer, Pavlović i sar. (2006) su zabeležili razlike u intenzitetu ozelenelosti listova između rezistentnih i osetljivih populacija biljaka *C. album* 5 DNP atrazina. Takođe, Pavlović i sar. (2010) su utvrdili da se na osnovu sadržaja hlorofila može pratiti stresni efekat herbicida glifosat trimezijum (sulfosat) na biljke kukuruza, kao i definisati nivo razlika između tretiranih i netretiranih biljaka. Nasuprot gore navedenim rezultatima, Ferrell i sar. (2003) su zaključili da su očitavanja sadržaja i fluorescencije hlorofila loši pokazatelji efekata herbicida na biljake. Naime, dobijene SPAD i Fv/Fm vrednosti kod biljaka *S. halepense* tretiranih herbicidima glifosat, kletodim, nikosulfuron i imazapir se nisu značajno razlikovale u odnosu na netretirane biljke dok su drugi mereni pokazatelji poput provodljivosti stoma i asimilacije CO₂ bili značajno različiti. Nasuprot tome, parametri fluorescencije hlorofila su se pokazali kao podesni za brzu procenu osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu, iako su nešto manje indikativni nego suva masa biljaka, dok su se očitavanje SPAD vrednosti i izračunavanje RSH na osnovu ovih vrednosti pokazali kao manje podesna metoda za utvrđivanje ostljivosti ispitivanih korovskih vrsta prema mezotrionu u kratkom roku nakon primene herbicida.

5.3 Uticaj mezotriona na sadržaj karotenoida u listu *C. album* i *A. theophrasti*

Vidljivi simptomi delovanja mezotriona na *C. album* i *A. theophrasti* primećeni su u vidu blagog izbeljivanja listova 3 do 4 DNP herbicida, dok su jasni efekti izbeljivanja listova postali vidljivi oko 7 DNP. Kako su vizuelni simptomi delovanja mezotriona na tretirane

biljke postali uočljivi tek 3-4 DNP, sadržaj karotenoida u listovima biljaka *C. album* i *A. theophrasti* tretiranih preporučenom količinom mezotriona ($120 \text{ g a.s. ha}^{-1}$) je očitavan pomoću Ramanove spektroskopije 1, 2, 3 i 7 DNP herbicida, kako bi se procenile mogućnosti primene ove metode za praćanje promena u sadržaju ovih pigmenata pre nego što promene postanu i vizuelno jasno uočljive. Koliko je poznato, do sada su jedino Vitek i sar. (2017) primenjivali Ramanovu spektroskopiju za ispitivanje sadržaja karotenoida i hlorofila u listovima biljaka radi procene uticaja mezotriona, kao i drugih inhibitora biosinteze karotenoida (diflufenikan, klomazon) i amidosulfurona na suncokret. Saglasno ovim istraživanjima, podaci dobijeni u našem ispitivanju su potvrdili da je Ramanova spektroskopija pogodna metoda za procenu prisustva karotenoida u listovima *C. album* i *A. theophrasti* nakon primene mezotriona. Rezultati pokazuju da se pomoću Ramanove spektroskopije mogu detektovati određene hemijske promene u sastavu biljaka nastale kao posledica primene mezotriona, što ukazuje da se ova metoda u kombinaciji sa PCA analizom može smatrati potencijalnom tehnikom za diferencijaciju biljaka tretiranih mezotrionom u odnosu na netretirane biljke. Osim toga što se na osnovu Ramanovog spektra mogu uočiti promene u sastavu karotenoida, intenzitet najdužih i najspecifičnijih pikova se može koristiti za izračunavanje njihove relativne koncentracije (Hassing et al., 2012). Primenom ove metode je utvrđeno da se pod uticajem mezotriona menja sadržaj karotenoida u biljkama *C. album*, što je jasno uočljivo 3 DNP mezotriona, iako se izvesne promene mogu detektovati i 1. i 2. DNP. Nasuprot tome, kod *A. theophrasti* razlike u sadržaju karotenoida između tretiranih i netretiranih biljaka su detektovane prilikom svih očitavanja (1, 2, 3. i 7. DNP herbicida), što ukazuje da je u slučaju ove vrste već 1. DNP herbicida moguće detektovati promene u sadržaju karotenoida. Položaj svih karotenoidnih pikova je specifičan, pri čemu zavisi od položaja karotenoidnih bočnih grupa i broja kovalentnih veza, kao i od interakcije sa drugim biljnim sastojcima (Schulz et al., 2005; Baranska et al., 2006; Gierlinger and Schvanninger, 2007; de Oliveira et al., 2010). Prema Withnall i sar. (2003), Baranski i i sar. (2005) i Rys i sar. (2014) intenzitet pika na poziciji 1522 cm^{-1} je u korelaciji sa dužinom polienskog lanca i može se pripisati karotenoidima sa 9 konjugovanih dvostrukih veza. Ramanovi spektri se mogu razlikovati u intenzitetu pikova na položaju 1522 cm^{-1} u zavisnosti od položaja mesta očitavanja na listu i područja različite obojenosti lista usled stresa (Baranski i sar., 2005). Na delovima lisne ploče sastavljenim uglavnom od mrtvih ćelija karotenoidi ne mogu biti detektovani. Iako se na osnovu vizuelnih simptoma u vidu blede zelenih površina koje predstavljaju hlorotično tkivo (usled degradacije hlorofila) očekuje nizak nivo karotenoida, moguće je detektovati akumulaciju karotenoida (Baranski et al.,

2005). Pikovi identifikovani u ovim istraživanju su u saglasnosti sa standardima, prema kojima je potvrđeno prisustvo karotenoida β -karoten (karakteristični pikovi na 1007, 1155 i 1515 cm^{-1}) i lutein (pikovi većih intenziteta na 1007, 1155 i 1522 cm^{-1}). Prema Schulz i sar. (2005) i Hassing i sar. (2012) za identifikaciju čistog β -karotena se koristi pik koji je centriran na 1515 cm^{-1} , dok pik centriran na 1522 cm^{-1} predstavlja lutein. Ova 2 karotenoida uslovljavaju visok intenzitet pikova na poziciji 1155 cm^{-1} i srednji intenzitet pikova na poziciji 1007 cm^{-1} (Parker et al., 1999, Huang et al., 2010). U Ramanovim spektrima analiziranih listova su primećene i pikovi (pozicije 1604, 1287 i 1346 cm^{-1}) nižih intenziteta od onih koje predstavljaju karotenoide, koje su indikatori prisustva fenola i hlorofila (Schrader et al., 1998; Schulz et al., 2005; Vitek et al., 2017).

Analizom ukupnog sadržaja karotenoida u listovima *C. album* i *A. theophrasti* 7 DNP mezotriona pokazalo se da mezotrion utiče na smanjenje koncentracije karotenoida, pri čemu je to smanjenje izraženije (statistički značajno) kod *C. album* nego kod *A. theophrasti* (nije statistički značajno). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Kopsell i sar. (2010), koji su uočili da mezotrion dovodi do smanjenja sadržaja karotenoida kod biljaka *Cynodon dactylon* (L.) Pers. Naime, količina luteina i β -karotena, koji su činili 70% sadržaja karotenoida pre primene mezotriona, nakon njegove primene se smanjila i ostala na nižem nivou nego u kontroli sve do 21 DNP, kada se vratila na prvobitni nivo. Takođe, potvrđeno je smanjenje sadržaja karotenoida β -karoten, lutein i violaksantin kod biljaka *Lolium perenne* tretiranih mezotrionom, dok se sadržaj nekih karotenoida (fitoen i zeaksantin) pod uticajem ovog herbicida povećao (McCurdy et al., 2009). Do sličnih rezultata došli su i Brosnan i sar. (2011) koji su utvrdili da mezotrion, topramezon i tembotrion utiču na sadržaj karotenoida u listovima tretiranih biljaka *C. dactylon* (sadržaj nekih karotenoida smanjuje, a nekih povećava).

Imajući u vidu da su rezultati Ramanove spektrometrije potvrdili promene u sadržaju karotenoida u listovima biljaka tretiranih mezotrionom, može se zaključiti da Ramanova spektroskopija ima potencijal kao metoda za grube (preliminarne) procene osetljivosti biljaka prema herbicidima inhibitorima biosinteze karotenoida.

5.4 Uloga anatomske građe lista u osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Analiza rezultata koji se odnose na parametre anatomske građe lista *C. album* i *A. theophrasti* je pokazala da se sa povećanjem starosti lista povećava debljina merenih

anatomskih parametra. Idući od najmlađeg ka najstarijem listu kod *C. album* debljina merenih parametara je bila: ELL 12-13 μm , ENL 10-11 μm , PT 82-90 μm , ST 56-60 μm , ML 138-151 μm , UDL 161-175 μm . Debljina ovih parametara značajno se razlikovala u odnosu na debljinu istih parametara kod listova *C. album* u fazi BBCH 89 (puna zrelost semena) koje su analizirali Moris i sar. (1996). Mereni parametri anatomske građe lista u njihovom istraživanju su imali sledeće debljine: 20 μm , 21 μm , 122 μm , 143 μm , 265 μm , 307 μm (za ELL, ENL, PT, ST, ML, UDL što je značajno veće u odnosu na vrednosti dobijene u našim ispitivanjima. Kod *A. theophrasti* anatomske parametri koji se odnose na debljinu listova su bili nešto nižih vrednosti nego kod *C. album* i posmatrano od najmlađeg ka najstarijem listu i kretali su se u opsegu: ELL 11-14 μm , ENL 8-12 μm , PT 52-81 μm , ST 30-48 μm , ML 83-129 μm , UDL 103-156 μm . Uprkos povećanju vrednosti ovih parametara sa starenjem listova korelacionom analizom je utvrđena slaba (niska) korelacija između debljine anatomskih parametara i starosti lista kod obe ispitivane vrste.

Veoma je malo podataka o promenama vrednosti parametara anatomske građe listova u vezi sa promenom faze razvoja biljke. Moreno-Sotomayor i sar. (2002) su utvrdili da u poljskim uslovima sa starenjem kukuruza dolazi do povećanja debljine lista, pri čemu je njihova debljina veća u fazi 7 razvijenih listova (137 μm) u odnosu na fazu 3 razvijena lista (130 μm). Wise i sar. (2000) su pokazali da se debljina listova, naročito palisadnog tkiva, značajno uvećala kod vrste *Gossypium hirsutum* L. u periodu od 7. do 57. dana nakon nicanja, pri čemu je njihova debljina bila skoro duplo veća nego debljina listova *G. barbadense* L. iste starosti. Ova razlika u debljini listova se pripisuje izduživanju ćelija palisadnog tkiva kod *G. hirsutum*, čiji listovi su bili manje površine u odnosu na *G. barbadense*. Pored toga, Vranješ i sar. (2017) su utvrdili da se debljina anatomskih parametara lista *C. album* (ELL, ENL, PT, ST, ML, UDL) menja sa promenom starosti biljaka, odnosno najmanje vrednosti za sve parametre su izmerene kod najmlađih, a najveće kod najstarijih biljaka.

Reakcije biljaka prema herbicidima mogu zavisiti od različitih faktora, uključujući i anatomsku građu listova. Iako nije utvrđena jasna veza između osetljivosti biljaka prema herbicidima i anatomske građe listova, potvrđene su razlike u anatomske građi između biljaka različite osetljivosti prema herbicidima (Ferreira et al., 2007; Božić, 2010). Božić (2010) je konstantovala da se hibridi sunckreta različite osetljivosti prema imazamoksu (Rimi i Kazanova) i tribenuron-metilu (Sumo 1 PR i Kazanova), kao i populacije samoniklog suncokreta različite osetljivosti prema nikosulfuronu međusobno razlikuju u anatomske građi listova. Slično ovome, razlike u parametrima anatomske građe su potvrđene za

populacije *Amaranthus powellii* S.Wats. različite osetljivosti prema herbicidima ALS inhibitorima (Tardif et al., 2006), i sorte šećerne trske (Ferreira et al., 2007) različite osetljivosti prema ovim herbicidima. S obzirom da je u ovom istraživanju potvrđena različita osetljivost prema mezotrionu biljaka *C. album* i *A. theophrasti* u različitim fazama razvoja, te razlike u osetljivosti se mogu dovesti u vezu sa razlikama u debljini nekih parametara anatomske građe (PT, ST, ML, UDL) koje su utvrđene između najstarijih i najmlađih ispitivanih listova. Nasuprot tome, rezultati nekih istraživanja ukazuju da između biljaka iste vrste, koje se razlikuju u osetljivosti prema herbicidima nema razlike u anatomske građi listova. Tako je Vaughn (1986) utvrdio da se linije *Brassica napus* L. različite osetljivosti prema triazinima ne razlikuju u anatomske građi lista, a McWhorter (1971) da nema korelacije između anatomske građe lista populacija *S. halepense* i njihove osetljivosti prema dalaponu.

5.5 Uloga površinskih struktura lista u osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Razlike u osetljivosti populacija prema herbicidima mogu da budu posledica razlika u usvajanju i translokaciji herbicida, kao i razlika u površinskim strukturama lista (Lisek et al., 2002; Ferreira et al., 2007). Osetljivost korova prema herbicidima se smanjuje sa njihovim ulaskom u kasnije razvojne stadijume, odnosno sa fenološkim razvojem. To je naročito značajno kod vrsta koje poput *C. album* na listovima razvijaju morfološke barijere (vosak) koje sprečavaju usvajanje herbicida. Idući od najstarijeg ka najmlađem listu *C. album* brojnost voštanih žlezda se kretala u opsegu 1-5 mm⁻² na licu, odnosno 2-12 mm⁻² na naličju lista, pri čemu je utvrđen srednji nivo zavisnosti (korelacije) između broja voštanih žlezda i starosti lista. Pokazalo se da je korelacija broja voštanih žlezda i starosti lista izraženija za naličje nego za lice lista. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa utvrđenim brojem voštanih žlezda kod drugih korovskih vrsta *Ipomea hederacea* Jacq., *I. lacunose* L., *I. wrightii* A. Gray i *Jacquemontia tamnifolia* L. Griseb, koji je bio u opsegu 2-6 mm⁻² na licu i 3-9 stoma mm⁻² na naličju lista zavisno od vrste (izuzetak je *I. wrightii* sa 26 voštanih žlezda mm⁻² na licu lista) (Chachalis et al., 2001b). Osim toga, Sanyal i sar. (2006a) su utvrdili da je broj žlezda na listovima *C. album* bio veći kod mlađih listova u odnosu na starije, što je potvrđeno i u našem ispitivanju.

Prisustvo dlaka, zatim njihova građa i brojnost, imaju značajnu ulogu u ispoljavanju osetljivosti biljaka na herbicide. Dlake povećavaju površinu koja dolazi u dodir sa

herbicidom, ali smanjuju količinu herbicida koja dolazi u dodir sa kutikulom, a time i usvojenu količinu. Kod *A. theophrasti* broj dlaka se (posmatrano od najstarijeg ka najmlađem listu) kretao u opsegu 5-17 mm⁻² na licu lista i 6-21 mm⁻² na naličju lista. Korelaciona analiza je pokazala srednji nivo zavisnosti broja dlaka na licu i nizak nivo zavisnosti broja dlaka na naličju lista od njegove starosti. Utvrđena brojnost dlaka na listovima *A. theophrasti* u saglasnosti je sa rezultatima Shaheen i sar. (2009) koji su utvrdili da broj dlaka na licu lista ove vrste iznosio oko 10, a na naličju oko 20 dlaka mm⁻², ali nije poznato u kojoj fazi razvoja su biljke analizirane. U našim ispitivanjima je utvrđena veća brojnost dlaka na mlađim nego na starijim listovima, a do sličnih zaključaka su došli i Sanyal i sar. (2006a, 2006b). Oni su utvrdili veću brojnost dlaka na licu i naličju mlađih listova u odnosu na starije listove kod vrsta *A. theophrasti*, *E. crus-galli* i *S. viridis*. Analiza broja dlaka na listu *A. theophrasti* je pokazala da su listovi ove vrste veoma maljavu u odnosu na neke druge korovske vrste, poput *I. hederacea*, *I. lacunose*, *I. wrightii* i *J. tamnifolia* kod kojih je broj dlaka na licu lista 1-4 mm⁻², a na naličju u opsegu 1-10 mm⁻², u zavisnosti od vrste (Chachalis et al., 2001b). Pored toga, i druge pripadnike familije Malvaceae karakteriše velika maljavost listova pri čemu se posebno izdvaja *Malva alcea* L. koja ima dlake na 90% površine lista (Shaheen et al., 2009). Božić (2010) je na osnovu ispitivanja broja dlaka na licu i naličju *X. strumarium* i samoniklog suncokreta (*Helianthus annuus* L.) i osetljivosti ovih vrsta na nikosulfuron došla do zaključka da su listovi *X. strumarium* znatno dlakaviji od listova samoniklog suncokreta. Dodatno, dobijene ED₅₀ vrednosti u poljskom ogledu su znatno veće kod osetljive populacije *X. strumarium* nego kod osetljive populacije samoniklog suncokreta, što dovodi do zaključka da dlake u ovom slučaju verovatno predstavljaju barijeru za usvajanje herbicida. Nasuprot tome, Lisek i sar. (2002) nisu utvrdili međuzavisnost između broja dlaka i osetljivosti kultivara jagode prema herbicidima fenmedifam, desmedifam i etofumesat. Sa druge strane, Grangeot i sar. (2006) su utvrdili da 1 od 3 tipa dlaka koje su prisutne kod *A. artemisiifolia* (zahvaljujući hidrofilnom omotaču) pomaže zadržavanje herbicida na površini listova, što se pozitivno odražava na usvajanje herbicidnog rastvora i obezbeđuje bolju efikasnost herbicida, što ukazuje da dlake u nekim slučajevima mogu uticati na povećanje usvajanja herbicida od strane biljke.

Iako je prvenstvena uloga stoma regulacija razmene gasova između biljaka i spoljne sredine, one mogu predstavljati put za prodiranje herbicida u biljku (Liu, 2004). Taylor i sar. (1980) su utvrdili da stome predstavljaju glavni put za prodiranje bentazona u *C. album*. Broj i raspored stoma varira od vrste do vrste, ali generalno kod većine vrsta broj stoma po jedinici površine je veći na epidermisu naličja. Utvrđeni broj stoma u našim ispitivanjima na

listovima *C. album* (43-185 stoma mm^{-2} na licu i 50-262 stoma mm^{-2} na naličju) i *A. theophrasti* (155-259 stoma mm^{-2} na licu i 191-294 stoma mm^{-2} na naličju) je pokazao da su stome brojnije na naličju lista i da je veći broj stoma prisutan kod mlađih listova u odnosu na starije. U skladu sa našim rezultatima, kod vrsta *I. hederacea*, *I. lacunose*, *I. wrightii* i *J. tamnifolia* je takođe utvrđen veći broj stoma na naličju nego na licu lista (Chachalis et al., 2001b). Korelacionom analizom je potvrđena jaka korelacija između broja stoma na listovima *C. album* i starosti lista, dok je kod *A. theophrasti* zavisnost između broja stoma na licu i starosti lista srednja, a između broja stoma na naličju lista i njegove starosti slaba (niska). Utvrđena brojnost stoma na listovima *C. album* i *A. theophrasti* je slična kao u prethodnim ispitivanjima pri čemu je *C. album* na površini lica lista imao 93, a na naličju 123 stome mm^{-2} (Zarinkamar, 2007), dok su Moris i sar. (1996) utvrdili 184 stome na licu i 274 stome mm^{-2} na naličju lista iste vrste. Nasuprot ovim istraživanjima, Shaheen i sar. (2009) su utvrdili značajno manji broj stoma, pri čemu je na licu lista zabeleženo 20 stoma mm^{-2} , a na naličju 25, mada nije poznato u kojoj fazi razvoja su biljke analizirane. Sanyal i sar. (2006a) su utvrdili veći broj stoma na naličju listova *C. album* i *A. theophrasti* u odnosu na lice, dok je kod *Portulaca oleracea* L. veći broj stoma zabeležen na licu lista u odnosu na naličje. Kod sve 3 navedene vrste je broj stoma po jedinici površine je bio veći kod mlađih u odnosu na starije listove. Vrste roda *Gossypium* su imale veću brojnost stoma na naličju nego na licu lista, pri čemu je kod vrste *G. hirsutum* utvrđeno 219 stoma mm^{-2} na naličju i 80 na licu lista, a kod *G. barbadense* 391 stoma mm^{-2} na naličju i 136 na licu lista (Wise et al., 2000). Pri tome, treba imati u vidu da su stome kod *G. barbadense* brojnije ali je dvostruko manje veličine u odnosu na stome kod *G. hirsutum* (Wise et al., 2000).

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da se sa starenjem listova smanjuje broj voštanih žlezda (kod *C. album*), odnosno dlaka (kod *A. theophrasti*) na listu, na osnovu čega bi se moglo očekivati da se barijere za usvajanje herbicida sa starenjem listova smanjuju. Međutim, uprkos tome, u našim kao i u drugim istraživanjima se pokazalo da se sa starenjem biljaka osetljivost prema herbicidima smanjuje, što je verovatno posledica smanjenja broja stoma po jedinici površine. Naime, usled toga što se sa starenjem listova broj stoma po jedinici površine smanjuje, dolazi do smanjenja usvajanja herbicida, a time i do dospevanja manje količine ovih jedinjenja do primarnog mesta delovanja.

5.6 Uloga epikutikularnih voskova lista u osetljivosti *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu

Morfologija lisne površine biljaka ima značajnu ulogu u depoziciji i usvajanju kapljica herbicida, pri čemu su epikutikularni vosak, kutin, pektin, niska brojnost stoma i visoka brojnost dlaka najvažnije morfološke barijere za ulazak herbicida u list biljke. Obzirom na specifičnost voskova u listovima različitih vrsta biljaka, određivanje njihovog hemijskog sastava i distribucije u i na listu smatra se veoma značajnim za hemotaksonomiju (Trudić i sar., 2013; Jovanović, 2015, 2016). Osim taksonomskog značaja, poznavanje karakteristika i hemijskog sastava epikutikularnih voskova lista je značajno i zbog njihovog uticaja na usvajanje herbicida. Napolarni herbicidi prolaze kroz sloj epikutikularnih voskova putem sorpcije, a potom apoplastom do ćelijskog zida, dok polarni molekuli mogu biti usvojeni kroz kutikulu samo ukoliko je hidratizirana (Oyarzabal, 1991).

Brojna istraživanja su pokazala da se sa starenjem listova menja sadržaj i debljina njihovih epikutikularnih voskova. McWhorter (1993) je analizom sadržaja voskova kod *S. halepense* ustanovio da je količina voska po jedinici površine veća kod mlađih biljaka u fazi 3 lista ($123 \mu\text{g cm}^{-2}$) u odnosu na starije u fazi 6-7 listova ($38 \mu\text{g cm}^{-2}$). Moguće objašnjenje za ovu pojavu je to što su mlade ćelije efikasnije u proizvodnji voska od starijih ili se proizvodnja održava na istom nivou bez obzira na starost biljke, ali usled povećanja površine lista dolazi do smanjenja količine voska po jedinici površine. Rezultati dobijeni za vrste uključene u naša ispitivanja su kontradiktorni. Ovakav zaključak je bio očekivan s obzirom na razlike u morfološkoj građi njihovih listova. Najveći sadržaj voskova u listovima *C. album* je utvrđen u starijim listovima, dok je kod *A. theophrasti* veći sadržaj detektovan u mlađim listovima. Prema tome, rezultati dobijeni za *C. album* su u saglasnosti sa gledištem da se sadržaj voska povećava sa starenjem listova. Zbog toga stariji listovi obično imaju veći sadržaj epikutikularnih voskova koji otežavaju apsorpciju herbicida, a posledično i translokaciju do mesta delovanja u biljci (Chachalis et al., 2001a). To ukazuje na verovatnoću da povećanje udela epikutikularnih voskova u listu sa starenjem *C. album* uslovljava smanjenje osetljivosti biljaka prema mezotrionu, dok je uzrok smanjenja osetljivosti *A. theophrasti* prema istom herbicidu povezan sa nekim drugim parametrima koji se menjaju tokom starenja biljaka. Osim toga, udeo voskova u listu *C. album* (0,40-0,31%) je veći u odnosu na njihov udeo u listu *A. theophrasti* (0,13-0,18%), što je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Sanyal i sar. (2006a). Oni su ustanovili da je sadržaj epikutikularnog voska

u listu biljaka *C. album* (275 $\mu\text{g cm}^{-2}$) znatno veći od sadržaja u listu *A. theophrasti* (7 $\mu\text{g cm}^{-2}$).

Analiza hemijskog sastava epikutikularnih voskova ekstrahovanih iz listova *C. album* i *A. theophrasti* je pokazala da se hemijski sastav voskova ovih vrsta razlikuje, s tim što su jedinjenja iz klase alkana i alkohola bila najzastupljenija kod obe vrste, dok su kod *A. theophrasti* značajan udeo imala i jedinjenja iz klase triterpena. Razlike u sastavu voskova između ispitivanih vrsta su u skladu sa rezultatima istraživanja koja su pokazala da se različite biljne vrste razlikuju u pogledu hemijskog sastava voskova. Tako je utvrđeno da u listovima *Brunnichia ovata* Walt. i *Campis radicans* L. najveći udeo imaju alkani (24-49%), alkoholi (9-61%), kiseline (0-11%) i triterpeni (4-62%) (Chachalis et al., 2001a). Do sličnih rezultata o sadržaju voskova su došli Hatterman-Valenti i sar. (2011) ispitujući uticaj spoljne sredine na sadržaj voskova u listu *A. theophrasti*, pri čemu su najveći udeo imali primarni alkoholi (29-31%), alkani (17-20%), masne kiseline (10-13%) i estri (8-11%). Takođe i kod vrsta *I. hederacea*, *I. lacunose*, *I. wrightii* i *J. tamnifolia* su najveći udeo u sadržaju voskova činili alkani (29-58%), alkoholi (19-46%), kiseline (5-24%) i triterpeni (0-25%) zavisno od vrste (Chachalis et al., 2001b). Do sličnih zaključaka su došli Trudić i sar. (2013) u ispitivanju sadržaja voska u listovima 3 klona topole, pri čemu je najveći sadržaj u vosku listova topole utvrđen za jedinjenja nonakosan (72-78%), heksakosan (6-10%) i untriakontan (5%).

Udeo najzastupljenijih jedinjenja iz klase alkana (heptakosan, nonakosan i untriakontan) u listovima *C. album* i *A. theophrasti* se povećavao idući od najstarijeg ka najmlađem listu. Kod *C. album* je sadržaj navedenih alkana bio u opsegu: heptakosan 1,91-5,42%, nonakosan 13,34-28,37% i untriakontan 2,42-6,10%. Nasuprot tome, kod *A. theophrasti* izmerene vrednosti su se smanjivale od najstarijeg ka najmlađem listu (heptakosan 5,19-3,70%, nonakosan 21,07-10,86% i untriakontan 5,47-4,71%), što je u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli Chachalis i sar. (2001a). Oni su konstantovali da je procentualni sadržaj voskova, izuzev alkohola kod *B. ovata* i triterpena kod *C. radicans*, uvek bio veći kod starijih listova (5-7) u odnosu na apikalne najmlađe (1-2) listove. U skladu sa ovim rezultatima su i promene u sadržaju alkohola koje su utvrđene sa starenjem listova *C. album*, za razliku od promena u sadržaju alkohola koje su utvrđene kod *A. theophrasti*. Od hemijskih jedinjenja koji pripadaju klasi alkohola, najveći udeo u ukupnom sadržaju voskova lista obe vrste su imala jedinjenja oktakosanol i triakontanol. Idući od najstarijeg ka najmlađem listu kod *C. album* sadržaj navedenih alkohola se povećavao (oktakosanol 21,82-23,60% i triakontanol 2,08-3,34%), dok se kod *A. theophrasti* sadržaj jedinjenja oktakosanol povećavao (5,29-7,84%), a triakontanol smanjivao (2,55-1,04%). U voskovima lista *A. theophrasti* značajna je

i klasa triterpena, pri čemu su jedinjenja lup-20(29)-en-3-on, olean-12-en-3-on i skvalen imala najveći udeo. Udeo ovih jedinjenja sa starenjem listova se menjao, pri čemu se sadržaj jedinjenja lup-20(29)-en-3-on (5,90-1,19%) i skvalen (9,69-2,15%) smanjivao, a olean-12-en-3-on (1,67-2,61%) povećavao.

Poznavanje sadržaja voskova u listovima biljaka može imati veliki značaj za efikasnije suzbijanje korovskih vrsta. U tom smislu, poznavanje građe listova i sastava njihovih voskova može biti iskorišćeno za pravilan odabir ađuvanta, zahvaljujući čemu se može smanjiti količina primene herbicida ili povećati njegova efikasnost usled pospešivanja usvajanja herbicida u biljku (Idziak et al., 2013). Iz tog razloga se uz mezotrion (proizvod Skaut) preporučuje upotreba ađuvanta poput Alteox wet 40 koji u sebi sadrži mineralno ulje (lipofilno) i alkohol sa emulgatorima što omogućava bolju rastvorljivost u ulju i vodi, čime se obezbeđuje bolje usvajanje kroz voštani sloj na površini lista.

6 ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata koji su prikazani u ovoj disertaciji mogu se izvesti sledeći zaključci:

Najbolji efekat u suzbijanju korova primenom herbicida na bazi a.s. mezotrion se može postići neposredno nakon nicanja korovskih vrsta *C. album* i *A. theophrasti*, odnosno u mlađim razvojnim stadijumima (faze 2-4 lista *C. album*, 1-2 lista *A. theophrasti*). U slučaju da se herbicid mezotrion primenjuje u kasnijim fazama razvoja *C. album* i *A. theophrasti* dolazi do značajnog smanjenja osetljivosti korovskih vrsta.

Ukoliko se mezotrion primenjuje u ranim fazama razvoja *C. album* i *A. theophrasti*, ove 2 vrste korova su veoma osetljive i na primenu manje količine od preporučene. Naime, količina manja od 50 g a.s. ha⁻¹ je dovoljna za postizanje ED₉₅ kada je *C. album* u fazi 4 lista i *A. theophrasti* u fazi 2 lista, što predstavlja značajno smanjenje u odnosu na preporučenu količinu primene od 120 g a.s. ha⁻¹.

Od svih parametara uključenih u istraživanje, suva masa se pokazala kao najosetljiviji parametar za utvrđivanje reakcije biljaka prema herbicidu mezotrion (inhibitor biosinteze karotenoida, 4-HPPD). Za istu namenu podesno je očitavanje fluorescencije hlorofila pomoću fluorometra PAM 2100 i sadržaja karotenoida pomoću Ramanove spektroskopije, jer se ovim nedestruktivnim metodama mogu pratiti promene u biljkama nakon primene herbicida, a pre nego što postanu vizuelno uočljive, bez potrebe da se biljke žrtvuju.

Herbicid mezotrion utiče na fluorescenciju hlorofila (Fv/Fm i Φ_{PSII}). Njegova primena u ranijim fazama razvoja *C. album* i *A. theophrasti* dovodi do smanjenja vrednosti parametara Fv/Fm i Φ_{PSII} . Merenja parametara fluorescencije hlorofila su potvrdila da se efekat nakon primene mezotriona može pratiti u kraćem roku nakon primene nego parametar suva masa. Količine mezotriona znatno niže od preporučene su dovoljne za postizanje redukcije parametara fluorescencije za 95% (*A. theophrasti*: Fv/Fm-45,61 g a.s. ha⁻¹, Φ_{PSII} -41,38 g a.s. ha⁻¹; *C. album*: Fv/Fm-26,44 g a.s. ha⁻¹, Φ_{PSII} - 84,62 g a.s. ha⁻¹).

Očitavanja SPAD vrednosti su pokazala da ovo nije podesna metoda za ocenu reakcija biljaka prema mezotrionu, usled znatno manje osetljivosti u poređenju sa drugim

nedestruktivnim metodama. Ovo potvrđuju visoke vrednosti ED₉₅ (*A. theophrasti*: 182 g a.s. ha⁻¹; *C. album*: 180 g a.s. ha⁻¹) utvrđene za ovaj parametar.

Usled toga što je mehanizam delovanja mezotriona usmeren na smanjenje sadržaja karotenoida u listovima biljaka, određivanje sadržaja karotenoida pomoću Ramanove spektroskopije, može da se koristi kao metoda za ocenu osetljivosti biljaka prema mezotrionu.

Sa starenjem listova *C. album* i *A. theophrasti* menja se njihova anatomska građa, tj. povećavaju se parametri anatomske građe. Međutim, zavisnost (korelacija) između tih promena i starosti lista ovih vrsta je niska.

Brojnost površinskih struktura lista poput voštanih žlezda na listovima *C. album*, dlaka na listovima *A. theophrasti* i stoma na listovima obe vrste zavisi od starosti listova. Broj svih navedenih parametara po jedinici površine je veći na naličju nego na licu lista i smanjuje se sa starenjem listova, što se odražava na promene u osetljivost biljaka prema herbicidima.

Sadržaj epikutikularnih voskova lista menja se sa njegovim starenjem, pri čemu se udeo ovih voskova u listu sa starenjem lista *C. album* povećava, a sa starenjem *A. theophrasti* smanjuje. Takođe, sa starenjem listova menja se i odnos hemijskih jedinjenja koja ulaze u sastav epikutikularnih voskova. Promene u količini i hemijskom sastavu voskova mogu biti razlog za promene osetljivosti korovskih biljaka prema herbicidima (mezotrionu) sa njihovim starenjem.

Na osnovu svih analiziranih parametara, može se zaključiti da osetljivost korovskih vrsta *C. album* i *A. theophrasti* prema mezotrionu zavisi od faze razvoja biljaka u momentu primene herbicida, s tim što se njihova osetljivost sa starenjem smanjuje. To se objašnjava promenama u morfo-anatomskoj građi listova, tj. promenama u debljini parametara anatomske građe lista, broju stoma i dlaka na listovima, količini i sastavu epikutikularnih voskova do kojih dolazi tokom razvoja biljaka. Zahvaljujući većoj osetljivosti biljaka u ranijim fazama razvoja za visok nivo redukcije analiziranih parametara (suve mase, fluorescencije hlorofila i sadržaja karotenoida) kod *C. album* i *A. theophrasti* dovoljne su znatno manje količine mezotriona od preporučenih.

7 LITERATURA

- Agarwal U. (2014): 1064 nm FT- Raman spectroscopy for investigations of plant cell walls and other biomass materials. *Front Plant Science*, 5: 1-12.
- Ahrens W. (1989): Uptake and Action of Metribuzin in Soybeans (*Glycine max*) and Two Weed Species as Monitored by Chlorophyll Fluorescence. *Weed Science*, 37: 631-638.
- Anastasov H. (2010): Influence of imazamox on some anatomic indices in the leaves of sunflower plant (*Helianthus annuus* L.). *General and applied plant physiology*, 36: 64-68.
- Armel G., Wilson H., Richardson R. and Hines T. (2003): Mesotrione alone and in mixtures with glyphosate in glyphosate-resistant corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 17: 680–685.
- Armel G., Hall G., Wilson H. and Cullen N. (2005): Mesotrione plus atrazine mixtures for control of Canada thistle (*Cirsium arvense*). *Weed Science*, 53: 202-211.
- Atalla R. and Agarwal U. (1986): Recording Raman spectra from plant cell walls. *Journal Raman Spectroscopy*, 17: 229–231.
- Bainard L., Isman M. and Upadhyaya M. (2006): Phytotoxicity of clove oil and its primary constituent eugenol and the role of leaf epicuticular wax in the susceptibility to these essential oils. *Weed Science*, 54: 833-837.
- Baker E., Hayes A. and Butler R. (1992): Physicochemical properties of agrochemicals: their effects on foliar penetration. *Pesticide Science*, 34: 167-182.
- Baranska M., Schulz H., Rosch P., Strehle M. and Popp J. (2004): Identification of secondary metabolites in medicinal and spice plants by NIR-FT-Raman microspectroscopic mapping, *Analyst*, 129: 926–930.

- Baranski R., Baranska M. and Schulz H. (2005): Changes in carotenoid content and distribution in living plant tissue can be observed and mapped in situ using NIR-FT-Raman spectroscopy. *Planta*, 222: 448–457.
- Baranska M., Schultze W. and Schulz H. (2006): Determination of Lycopene and α -Carotene Content in Tomato Fruits and Related Products: Comparison of FT-Raman, ATR-IR, and NIR Spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 78: 8456-8461.
- Baranska M., Baranski R., Grzebelus E. and Roman M. (2011): *In situ* detection of a single carotenoids crystal in a plant cell using Raman microspectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 56: 166–169.
- Barbagallo R., Oxborough K., Pallett K. and Baker N. (2003): Rapid, noninvasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology*, 132: 485–493.
- Bassett I. and Crompton C. (1978): The biology of Canadian weeds. 32 *Chenopodium album*. *Canadian Journal of Plant Science*, 58: 1061-1072.
- Beckie H. (2006): Herbicide-Resistant Weeds: Management tactics and practices. *Weed Technology*, 20: 793-814.
- Bellinder R., Arsenovic M., Shan D. and Rauch B. (2003): Effect of weed growth stage and adjuvant on the efficacy of fomesafen and bentazon. *Weed Science*, 51: 1016-1021.
- Bhargava A., Shukla S. and Ohri D. (2006): Karyotypic studies on some cultivated and wild species of *Chenopodium* (*Chenopodiaceae*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 1309-1320.
- Bhargava A., Shukla S., Srivastava J., Singh N. and Ohri D. (2008): Genetic diversity for mineral accumulation in the foliage of *Chenopodium* spp. *Science Horticulture*, 118: 338-346.

- Björkman O. and Demming-Adams B. (1994): Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In: Schulze E. D., M. M. Caldwell (eds) Ecophysiology of photosynthesis. (Ecological Studies, vol 100) Springer, Berlin Heidelberg, New York, 17-47.
- Boonlertnirun S., Suvannasara R. and Boonlertnirun K. (2013): Effects of Hypoxic Duration at Different Growth Stages on Yield Potential of Waxy Corn (*Zea mays* L.). International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 7: 1128-1130.
- Bouwmeester H. and Karssen C. (1993): Seasonal periodicity in germination of seeds of *Chenopodium album* L. Annals of Botany, 72: 463-473.
- Bozic D., Saric M., Malidza G., Ritz C. and Vrbnicanin S. (2012): Resistane of sunflower hybrids to imazamox and tribenuron-methyl. Crop Protection, 39: 1-10.
- Božić, D. (2010): Reakcije korovskih populacija i hibrida suncokreta prema herbicidima inhibitorima acetolaktat sintetaze. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Zemun – Beograd.
- Bozic D., Saric-Krsmanovic M., Pavlovic D. and Vrbnicanin S. (2013): Effect of nicosulfuron on plant traits of *Xanthium strumarium*. Journal of Plant Diseases and Protection, 120: 233–237.
- Božić D., Nikolić N., Obradović N., Loddo D., Stojićević D., Saulić M., Savić A. i Vrbničanin S. (2015a): Biološka produkcija korovske vrste *Abutilon theophrasti* Medik. Različitog geografskog porekla. Acta herbologica, 24: 13-24.
- Bozic D., Barac M., Saric-Krsmanovic M., Pavlovic D., Ritz C. and Vrbnicanin S. (2015b). Common Cocklebur (*Xanthium strumarium*) Response to Nicosulfuron. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43: 186-191.

- Brewer C. and Nunez C. (2007): Patterns of leaf wettability along an extreme moisture gradient in western Patagonia, Argentina. *International Journal of Plant Sciences*, 168: 555-562.
- Brosnan J., Kopsell D., Elmore M., Breeden G. and Armel G. (2011): Changes in 'Rivera' Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) Carotenoids Pigments after Treatment with Three p-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase-inhibiting Herbicides. *HortScience*, 46: 493-498.
- Bryson C. and DeFelice M. (ed.) (2010): *Weeds of the Midwestern United States and Central Canada*. University of Georgia Press, pp 440.
- Bukovac M., Petracek O., Fader R. and Morse R. (1990): Sorption of organic compounds by plant cuticles. *Weed Science*, 38: 289-298.
- Burghardt M., Friedmann A., Schreiber L. and Riederer M. (2006): Modelling the effects of alcohol ethoxylates on diffusion of pesticides in the cuticular wax of *Chenopodium album* leaves. *Pest Management Science*, 62: 137-147.
- Burkhardt J., Basi S., Pariyar S. and Hunsche M. (2012): Stomatal penetration by aqueous solutions-an update involving leaf surface particles. *New Phytologist*, 196: 774-787.
- Bussan A., Boerboom C. and Stoltenberg D. (2000): Response of *Setaria faberi* demographic processes to herbicide rates. *Weed Science*, 48: 445-453.
- Carvalho L., Alves P. and Duke S. (2013): Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 85: 813-822.
- Chachalis D., Reddy K. and Dennis Elmore C. (2001a): Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. *Weed Science*, 49: 156-163.

- Chachalis D., Reddy K., Dennis Elmore C. and Steele M. (2001b): Herbicide efficacy, leaf structure, and spray droplet contact angle among *Ipomoea* species and smallflower morningglory. *Weed Science*, 49: 628-634.
- Chauhan B. and Abugho S. (2012): Effect of growth stage on the efficacy of postemergence herbicides on four weed species of direct-seeded rice. *The Scientific World Journal*, 123071: 1-7.
- Creech J., Monaco T. and Evans J. (2004): Photosynthetic and growth responses of *Zea mays* L and four weed species following post-emergence treatments with mesotrione and atrazine. *Pest Management Science*, 60: 1079–1084.
- Cserhati T. and Forgacs E. (2001): Liquid chromatographic separation of terpenoid pigments in foods and food products. *Journal of Chromatography A*, 936:119–137.
- de Oliveira V., Castro H., Edvards H. and de Oliveira F. (2010): Carotens and carotenoids in natural biological samples: a Raman spectroscopic analysis. *Journal of Raman Spectroscopy*, 41: 642-650.
- DiTomaso J. (1999): Barriers to Foliar Penetration and Uptake of Herbicides. *Proceedings of the California Weed Science Society*, 51: 150-155.
- DiTomaso J. and Healy E. (ed.) (2007): *Weeds of California and other Western States*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Oakland, California.
- Elezović I., Stević M. i Jovanović-Radovanov K. (2003): Mezo-trion-novi herbicid za suzbijanje korova u kukuruzu. *Pesticidi*, 18: 245-256.
- Escorial C., Loureiro I., Rodríguez-García E. and Chueca C. (2011): Population variability in the response of ripgut brome (*Bromus diandrus*) to sulfosulfuron and glyphosate herbicides. *Weed Science*, 59: 107-112.
- Evans J., Tranel P., Hager A., Schutte B., Wu C., Chatham L. and Davis A. (2016): Managing the evolution of herbicide resistance, *Pest management science*, 72: 74-80.

- Faccini D. and Puricelli E. (2007): Efficacy of herbicide dose and plant growth stage on weeds present in fallow ground. *Agriscientia*, 24: 29-35.
- Fanaei M., Aboutalebi A. and Hasanzadeh H. (2013): Allelopathic effects of Sweet basil (*Ocimum basilicum*) extract and essence on chlorophyll content of three weed species. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 4: 1511-1513.
- Ferrell J., Earl H. and Vencill W. (2003): The effect of selected herbicides on CO₂ assimilation, chlorophyll fluorescence, and stomatal conductance in johnsongrass (*Sorghum halepense* L.). *Weed Science*, 51: 28-31.
- Fernandez V. and Brown P. (2013): From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Frontiers in Plant Science*, 4, 289.
- Ferreira J. and Reddy K. (2000): Absorption and translocation of glyphosate in *Erythroxylum coca* and *E. novogranatense*. *Weed Science*, 48: 193-199.
- Ferreira E., Procopio S., Silva E., Silva A. and Rufino R. (2002): Estudos anatomicos de folhas de plantas daninhas. I- *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. *Planta Daninha*, 2: 159-167.
- Ferreira E., Ventrella M., Santos J., Barbosa M., Silva A., Procopio S. and Silva E. (2007): Leaf blade quantitative anatomy of sugarcane cultivars and clones. *Planta Daninha*, 25: 25-34.
- Follak S., Aldrian U. and Schwarz M. (2014): Spread dynamics of *Abutilon theophrasti* in Central Europe. *Plant Protection Science*, 50: 157–163.
- Gavrilović M., Rančić D., Škundrić T., Dajić-Stevanović Z., Marin P., Garcia-Jacas N., Susanna A. and Janačković P. (2019): Anatomical characteristics of *Xeranthemum* L. (Compositae) species: Taxonomical insights and evolution of life form. *Pakistan Journal of Botany*, 51: 1007-1019.

- Geier P., Stahlman P. and Charvat L. (2009): Dose response of five broadleaf weeds to saflufenacil. *Weed Technology*, 23: 313-316.
- Gianessi L. (2013): The increasing importance of herbicides in worldwide crop production. *Pesticide Management Science*, 69: 1099-1105.
- Gierlinger N. and Schwanninger M. (2007): The potential of Raman microscopy and Raman imaging in plant research *Review. Spectroscopy*, 21: 69–89.
- Gierlinger N., Luss S., König C., Konnerth J., Eder M. and Fratzl P. (2010): Cellulose microfibril orientation of *Picea abies* and its variability at the micron-level determined by Raman imaging. *Journal Experimental Botany*, 61: 587–595.
- Goddard M., Willis J. and Askew S. (2010): Application Placement and Relative Humidity Affects Smooth Crabgrass and Tall Fescue Response to Mesotrione. *Weed Science*, 58: 67-72.
- Gratani L. (1992): A non-destructive method to determine chlorophyll content of leaves. *Photosynthetica* 26: 469-473.
- Grangeot M., Chauvel B. and Gauvrit C. (2006): Spray retention, foliar uptake and translocation of glufosinate and glyphosate in *Ambrosia artemisiifolia*. *Weed Research*, 46: 152-162.
- Hassing S., Jernshoj K. and Christensen L. (2012): Raman Spectroscopy: A Non-Destructive and On-Site Tool for Control of Food Quality?, *Food Quality*, Dr. Kostas Kapisris (Ed.), ISBN: 978-953-51-0560-2, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/food-quality/raman-spectroscopy-a-non-destructive-and-onsite-tool-for-control-of-food-quality>.
- Hatterman-Valenti H., Pitty A. and Owen M. (2011): Environmental effects on velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) epicuticular wax deposition and herbicide absorption. *Weed Science*, 59: 14-21.

- Haworth M. and McElwain J. (2008): Hot, dry, wet, cold or toxic? Revisiting the ecological significance of leaf and cuticular micromorphology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 262: 79-90.
- Heap I. (2019): The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available <http://www.weedscience.org>.
- Huang Y., Beal C., Cai W., Ruoff R. and Terentjev E. (2010): Micro-Raman spectroscopy of algae: composition analysis and fluorescence background behavior. *Biotechnology and Bioengineering*, 105: 889-98.
- Huangfu C., Song X. and Qiang S. (2009): Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations. *Weed Biology and Management*, 9: 234-242.
- Ibrahim M. and Jaafar H. (2013): Relationship between extractable chlorophyll and SPAD values in three varieties of Kacip Fatimah under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 36: 1366-1372
- Idziak R., Woznica Z. and Sobiech L. (2013): Effect of oil and mineral adjuvants on efficacy and physico-chemical properties of foramsulfuron and iodosulfuron spray mixture. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 50: 671-676.
- Jafari L., Kholdebarin B. and Jafari E. (2007): Phytotoxic effects of a *Chenopodium album* L. water extract on higher plants. *American Journal of Plant Physiology*, 2: 221-226.
- Janjić V., Stanković-Kalezić R., Radivojević Lj., Marisavljević D., Jovanović Lj. i Ajder S. (1994): Rezistentost *Amaranthus retroflexus* L. i *Chenopodium album* L. prema atrazinu, *Acta biologica Iugoslavica, series G: Acta herbologica*, 3: 63-73.
- Janjić V., Stanković-Kalezić R., Radivojević Lj., Marisavljević D., Ajder S. and Jovanović Lj. (1995): Detection some triazine resistant weeds using chlorophyll fluorescence. *International symposium on weed and crop resistance to herbicides, Cordoba (Spain)* 134.

- Jenks M. and Hasegawa P. (ed) (2005): Plant abiotic stress. Blackwell Publishing Ltd. pp. 270.
- Jhala A., Knezevic S., Ganie Z. and Singh M. (2014): Integrated weed management in corn (*Zea mays* L.). Pages 177-196 in Chauhan B. and Mahajan G. (eds.) Recent Advances in weed management. New York: Sprin.
- Johnson B. and Young B. (2002): Influence of Temperature and Relative Humidity on the Foliar Activity of Mesotrione. *Weed Science*, 50: 157-161.
- Jovanović S., Zlatković B. and Stojanović G. (2015): Distribution and variability of *n*-alkanes in epicuticular waxes of *Sedum* species from central Balkan Peninsula: the chemotaxonomic importance. *Chemistry and Biodiversity*, 12: 767-780.
- Jovanović S., Zlatković B. and Stojanović G. (2016): Chemotaxonomic Approach to the Central Balkan *Sedum* Species Based on Distribution of Triterpenoids in Their Epicuticular Waxes. *Chemistry and Biodiversity*, 13: 459-465.
- Joy M., Abit M. and Al-Khatib K. (2009): Absorption, Translocation, and Metabolism of Mesotrione in Grain Sorghum. *Weed Science*, 57: 563-566.
- Jursik M., Kocarek M., Hamouzova K., Soukup J. and Venclova V. (2013): Effect of precipitation on the dissipation, efficacy and selectivity of three chloroacetamide herbicides in sunflower. *Plant, Soil and Environment*, 54: 175-182.
- Jursik M., Soukup J., Holec J., Andr J. and Hamouzova K. (2015): Efficacy and selectivity of pre-emergent sunflower herbicides under different soil moisture conditions, *Plant Protection Science*, 51: 214-222.
- Kaiser Y., Menegat A. and Gerhards R. (2013): Chlorophyll fluorescence imaging: a new method for rapid detection of herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research*, 53: 399-406.

- Kapusta G., Krausz R.F., Khan M. and Matthews J. (1994): Effect of Nicosulfuron Rate, Adjuvant, and Weed Size on Annual Weed Control in Corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 8: 696-702.
- Kazinczi G., Beres I. and Narwal S. (2001): Allelopathic Plants. Velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medic.). *Allelopathy Journal*, 8: 179-188.
- Kerstiens G. (ed) (1996): PLANT CUTICLES an integrated functional approach. Bios Scientific Publishers, Lancaster, UK. pp. 261.
- Khaliq A., Matloob A., Tanveer A., Areeb A., Aslam F. and Abbas N. (2011): Reduced doses of sulfonylurea herbicide for weed management in wheat fields of Punjab, Pakistan. *Chielan Journal of Agricultural Research*, 71: 424-429.
- Kieloch R. and Domaradzki K. (2011): The role of the growth stage of weeds in their response to reduced herbicide doses. *Acta Agrobotanica*, 64: 259–266.
- Kleinman Z. and Rubin B. (2017): Non-target-site glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* is based on modified subcellular distribution of the herbicide. *Pest management Science*, 73: 246-253.
- Knezevic S., Streibig J. and Ritz C. (2007): Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. *Weed Technoogy*, 21: 840-848.
- Knežević S. (2016): Weed resistance and new herbicide tolerant crops in USA. *Acta herbologica*, 25: 35-42.
- Kopsell D., Brosnan J. and Armel G. (2010): Increases in Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) Tissue Pigments during Post-application Recovery from Mesotrione. *HortScience* 45, 1559-1562.
- Korres N., Froud-Williams R. and Moss S. (2003): Chlorophyll fluorescence technique as a rapid diagnostic test of the effect of the photosynthetic inhibitor chlortoluron on two winter wheat cultivars. *Annals of Applied Biology*, 143: 53-56.

- Kovacs I., Beres I., Kazinczr G. and Torma M. (2006): Competition between maize and *Abutilon theophrasti* (Medik.) in additive experiments. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 20: 767-771.
- Kraehmer H. and Drexler D. (2009): Global Herbicide Development – Opportunities and constraints. *Prairie soils and crops*, 2: 12-16.
- Kruger G., Johnson W., Weller S., Owen M., Shaw D., Wilcut J., Jordan D., Wilson R., Bernards M. and Young B. (2009): U.S. grower views on problematic weeds and changes in weed pressure in glyphosate-resistant maize, cotton, and soybean cropping systems. *Weed Technology*, 23: 162–166.
- Kudsk P. and Kristensen J. (1992): Effect of environmental factors on herbicide performance. *Proc 1st International Weed Control Congress, Melbourne*, 173-186.
- Kummerova M., Krulova J., Zezulka S. and Triska J. (2006): Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill raction and chlorophyll fluorescence. *Chemosphere*, 65: 489-496.
- Lang P., Katon J. and O’Keefe J. (1986): The identification of fibers by infrared and Raman microspectroscopy. *Microchemical Journal*, 34: 319–331.
- Lisek J., Habdas H. and Gawronski W. (2002): Relationship between selected morphological, anatomical and cytological characteristics of leaves and the level of tolerance to herbicides in strawberry cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 24: 371-378.
- Liu Z. (2004): Effects of surfactants on foliar uptake of herbicides- a complex scenario. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 35: 149-153.
- Malidža G. and Vrbničanin S. (2015): Integrated Weed Management in Field Crops: Sustainability and Practical Implementation. *Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection, Belgrade, Serbia*, 33-41.

- Manfait M., Piot O. and Autran J. (2004): Raman Mapping of Wheat Grain Kernels. <http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/Raman/Bio04.pdf>
- Marenco R., Antezana-Vera S. and Nascimento H. (2009): Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica*, 47: 184- 190.
- Marquardt B. and Wold J. (2004): Raman Analysis of Fish: A Potential Method for Rapid Quality Screening. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37: 1–8.
- Marques R., Rodella R. and Martins D. (2012): Características da anatomia foliar de espécies de braquiária e sua relação com a sensibilidade a herbicidas. *Planta Daninha*, 30: 809-816.
- Mastebroek H., van Soest L. and Siemonsma J. (1996): *Chenopodium* L. (grain chenopod). In: Grubben, G.J.H. & Partohardjono, S. (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia*, 10: 79–83.
- Maxwell K. and Johnson G. (2000): Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51: 659-668.
- McCurdy J., McElroy S., Kopsell D., Kopsell D. and Sams C. (2009): Mesotrione control and pigment concentration of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) under varying environmental conditions. *Pest Management Science*, 65: 640-644.
- McWhorter C. (1971): Control of Johnsongrass ecotypes. *Weed Science*, 19: 229-233.
- McWhorter C. (1993): Epicuticular wax on johnsongrass (*Sorghum halepense*) leaves. *Weed Science*, 41: 475-482.
- Michitte P., de Prado R., Espinoza N., Ruiz-Santaella J. and Gauvrit C. (2007): Mechanisms of resistance to glyphosate in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. *Weed Science*, 55: 435-440.

- Milo R. (2009): What governs the reaction center excitation wavelength of photosystems I and II? *Photosynthesis Research*, 101: 59-67.
- Mitchell G., Bartlett D., Fraser T., Hawkes T., Holt D., Towson J. and Wichert R. (2001): Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science*, 57: 120-128.
- Moldes C., Medici L., Abrahão O., Tsai S. and Azevedo R. (2008): Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. *Acta Physiology Plant*, 30: 469-479.
- Monteiro A., Teixeira G. and Moreira F. (2015): Relationships between leaf anatomical features of *Arundo donax* and glyphosate efficacy. *Revista de Ciências Agrárias*, 38: 131-138.
- Moreno-Sotomayor A., Weiss A., Papparozzi E. and Arkebauer T. (2002): Stability of leaf anatomy and light response curves of field grown maize as a function of age and nitrogen status. *Journal of Plant Physiology*, 159: 819-826.
- Moris M., Gonyales J., Gallardo M. and Prado F. (1996): Anatomical and functional differences and nyctinastic leaf movements in *Chenopodium album* L. and *Chenopodium hircinurn* Schrad. (Chenopodiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 121: 133-141.
- Naderi R. and Ghadiri H. (2013): Nitrogen, Manure and Municipal Waste Compost Effects on Yield and Photosynthetic Characteristics of Corn (*Zea mays* L.) Under Weedy Conditions. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 7: 141-151.
- Nekonam M., Razmjoo J. and Kraimmojeni H. (2014): Assessment of some medicinal plants for their allelopathic potential against redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). *Journal of plant protection research*, 54: 90-95.

- Nikolić B., Tešević V., Đorđević I., Jadranin M., Todosijević M., Bojović S. and Marin P. (2010): n-Alkanes in the needle waxes of *Pinus heldreichii* var. *pančići*. Journal of the Serbia Chemical Society.
- Norsworthy J., Talbert R. and Hoagland R. (1998): Chlorophyll fluorescence for rapid detection of propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). Weed Science, 46: 163-169.
- Norsworthy J., Ward S., Shaw D., Llewellyn R., Nichols R., Webster T., Bradley K., Frisvold G., Powles S., Burgos N., Witt W. and Barret M. (2012): Reducing the risks of herbicide resistance: Best management practices and recommendations. Weed Science, 60 (special issue: herbicide resistant weeds): 31-62.
- Nurse R., Hamill A., Swanton C., Tardif F. and Sikkema P. (2010): Weed control and yield response to mesotrione in maize (*Zea mays*). Crop Protection, 29: 652–657.
- Oyarzabal E. (1991): Effect of weed water stress on postemergence herbicide activity. Doktorska disertacija, Ajoval univerzitet, SAD.
- Pannacci E. and Covarelli G. (2009): Efficacy of mesotrione used at reduced doses for post-emergence weed control in maize (*Zea mays* L.). Crop Protection, 28: 57-61.
- Pannacci E. (2016): Optimization of foramsulfuron doses for post-emergence weed control in maize (*Zea mays* L.). Spanish Journal of Agricultural Research, 14: e1005-1014.
- Parker S., Tavender S., Dixon N., Herman H., Williams K. and Maddams W. (1999): Raman spectrum of beta-carotene using laser lines from green (514.5 nm) to near-infrared (1064 nm): Implications for the characterization of conjugated polyenes. Applied Spectroscopy, 53: 86–91.
- Pavlovic D., Vrbnicanin S., Elezovic I., Jovanovic L. and Marisavljevic D. (2006): Alterations in amount of chlorophyll as indicator of resistance for *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L. to atrazine. Journal of Plant Diseases and Protection, 20: 131-138.

- Pavlović D., Vrbničanin S., Božić D. and Simončić A. (2007): *Abutilon theophrasti* Medic. Population Responses to Atrazine. *Journal Central European Agriculture*, 8: 435-442.
- Pavlovic D., Vrbnicanin S., Bozic D. and Fischer A. (2008): Morpho-physiological traits and triazine resistance levels in *Chenopodium album* L. *Pest Management Science*, 64: 101-107.
- Pavlović D., Vrbničanin S. and Reinhardt C. (2013a): Crop Response to Glyphosate Trimesium Sulphosate. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41: 582-589.
- Pavlovic D., Reinhardt C., Bozic D. and Vrbnicanin S. (2013b): Determination of *Conyza canadensis* Levels of Sensitivity to Glyphosate Trimesium Sulphosate. *International Journal of Agriculture & Biology*, 15: 1091-1097.
- Piot O., Autran C. and Manfait M. (2000): Spatial Distribution of Protein and Phenolic Constituents in Wheat Grain as Probed by Confocal Raman Microspectroscopy. *Journal of Cereal Science*, 32: 57-71.
- Qin J., Chao K. and Kim M. (2012): Nondestructive evaluation of internal maturity of tomatoes using spatially offset Raman spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 71: 21–31.
- Radivojević Lj., Gajić Umiljendić J., Šantrić Lj. i Matić L. (2012): Efikasnost novog herbicida na bazi nikosulfurona, rimsulfurona i meotriona u suzbijanju korova u kukuruzu. *Acta herbologica*, 21: 79-86.
- Radivojević Lj., Gajić Umiljendić J., Marisavljević D., Anđelković A. i Pavlović D. (2014): Primena meotriona u kombinaciji sa terbutilazinom, nikosulfuronom i S-metolahlorom u kukuruzu. *Zaštita bilja*, 65: 155-162.
- Rana T., Narzary D. and Ohri D. (2010): Genetic diversity and relationships among some wild and cultivated species of *Chenopodium* L. (*Amaranthaceae*) using RAPD and DAMD methods. *Current Science*, 98: 840-846.

- Rascher U., Liebig M. and Lüttge U. (2000): Evaluation of instant light–response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant Cell and Environment*, 23: 1397-1405.
- Rieder M. and Müller C. (2006): Biology of the plant cuticle. *Annual Plant Reviews*, 23. Blackwell Publishing Ltd.
- Ritz C. and Streibig J. (2005): Bioassay analysis using “R”. *Journal of Statistical Software*, 12: 1e22.
- Rosales-Robels E., Chandler J., Senseman S. and Prostko E. (1999): Influence of Growth Stage and Herbicide Rate on Postemergence Johnsongrass (*Sorghum halepense*) Control. *Weed Technology*, 13: 525-529.
- Rosales-Robels E., Chandler J., Senseman S. and Salinas Garcia J. (2001): Growth Stage affects Johnsongrass (*Sorghum halepense*) response to herbicides nicosulfuron and clethodim. *Agrociencia*, 35: 525-533.
- Ruiz-Espinoza F., Murillo-Amador B., García-Hernández J., Fenech-Larios L., Rueda-Puente E., Troyo-Diéguez E., Kaya C. and Beltrán-Morales A. (2010): Field evaluation of the relationship between chlorophyll content in Basil leaves and a portable chlorophyll meter (SPAD-502) readings. *Journal of Plant Nutrition*, 33: 423-438.
- Ruzin S. (1999): Plant microtechnique and microscopy. Oxford, Oxford University Press, 332.
- Ryan G. (1970): Resistance of Common Groundsel to Simazine and Atrazine. *Weed Science* 18: 614-616.
- Ryerse J., Downer R., Samsons R. and Feng P. (2004): Effect of glyphosate spray droplets on leaf cytology in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Science*, 52: 302-309.

- Rys M., Juhasz, C., Surowka E., Janeczko A., Saja D., Tobias I., Skoczowski A., Barna B. and Gullner G. (2014): Comparison of a compatible and an incompatible pepper-tobamovirus interaction by biochemical and non-invasive techniques: chlorophyll a fluorescence, isothermal calorimetry and FT-Raman spectroscopy, *Plant Physiology and Biochemistry*, 83: 267-278.
- Rys M., Szaleniec M., Skoczowski A., Stawoska I. and Janeczko A. (2015): FT-Raman spectroscopy as a tool in evaluation the response of plants to drought stress. *Open Chemistry formerly Central European Journal of Chemistry*, 13: 1091-1100.
- Sanyal D., Bhowmik P. and Reddy K. (2006a): Leaf characteristics and surfactants affect primisulfuron droplet spread in three broadleaf weeds. *Weed Science*, 54: 16-22.
- Sanyal D., Bhowmik P. and Reddy K. (2006b): Influence of leaf surface micromorphology, wax content, and surfactant on pirimisulfuron droplet spread on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Science*, 54: 627-633.
- Sarabi V., Mahallati M., Nezami A. and Mohassel M. (2012): Competitive interaction of common lambsquarters (*Chenopodium album* L.) at different time of emergence and density. International conference on applied life sciences, Turkey, September 10-12, ISALS, 351-356.
- Schoefs B. (2002): Chlorophyll and carotenoids analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. *Trends Food Science Technology*, 13: 361–371.
- Schonherr J. and Baur P. (1994): Modelling penetration of plant cuticles by crop protection agents and effects of adjuvants on their rates and penetration. *Pesticide Science*, 42: 185-208.
- Schrader B., Dippel B., Erb I., Keller S., Löchte T., Schulz H., Tatsch E. and Wessel S. (1999): NIR Raman spectroscopy in medicine and biology: results and aspect, *Journal of Molecular Structure*, 480–481: 21–32.

- Schreiber L. (2005): Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. *Annals of Botany*, 95: 1069-1073.
- Schulz H., Baranska M. and Baranski R. (2005): Potential of NIR-FT-Raman Spectroscopy in natural carotenoid analysis. *Biopolymers*, 77: 212-221.
- Shafagh-Kolvanagh J., Zehtab-Salmasi S., Javanshir A. Moghaddam M. and Nasab A. (2008): Effects of nitrogen and duration of weed interference on grain yield and SPAD (chlorophyll) value of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6: 368-373.
- Shaheen N., Ajab Khan M., Yasmin G., Qasim Hayat M., Ahmad M., Zafar M and Jabeen A. (2009): Implication of foliar epidermal features in the taxonomy of *Abutilon* Mill. (Malvaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 3: 1002-1008.
- Skelton R., Midgley J., Nyaga J., Johnson S. and Cramer M. (2012): Is leaf pubescence of Cape Proteaceae a xeromorphic or radiation-protective trait? *Australian Journal of Botany*, 60: 104-113.
- Steckel G., Hart S. and Wax L. (1997): Absorption and Translocation of Glufosinate on Four Weed Species. *Weed Science*, 45: 378-381.
- Stewart C., Nurse R. and Sikkema P. (2009): Time of day impacts on postemergence weed control in corn. *Weed Technology*, 23: 346-355.
- Stougaard R., Maxwell B. and Harris J. (1997): Influence of application timing on the efficacy of reduced rate postemergence herbicides for wild oat (*Avena fatua*) control in spring barley (*Hordeum vulgare*). *Weed Technology*, 11: 283-289.
- Sutton P., Richards C., Buren L. and Glasgow L. (2002): Activity of mesotrione on resistant weeds in maize. *Pest Management Science*, 58: 981-984.

- Šćepanović M., Novak N., Barić K., Ostojić Z., Galzina N. i Goršić M. (2007): Alelopatski utjecaj korovnih vrsta *Abutilon theophrasti* Med. i *Datura stramonium* L. na početni razvoj kukuruza. *Agronomski glasnik*, 6: 459-472.
- Tardif F., Rajcan I. and Costea M. (2006): A mutation in the herbicide target site acetohydroxyacid synthase produces morphological and structural alterations and reduces fitness in *Amaranthus powellii*. *New Phytologist*, 169: 251-264.
- Taylor F., Cobb A. and Davies L. (1980): The effects of bentazon on stomatal behavior in *Chenopodium album* L. *New Phytologist*, 63: 369-376.
- Telfer A., Bollman K. and Poething S. (1997): Phase change and the regulation of trichome distribution in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 124: 645-654.
- Todoš T., Rajčević N., Tešević V., Matevski V., Janačković P. and Marin P. (2015): Composition of Leaf n-Alkanes in Three *Satureja montana* L. Subspecies from the Balkan Peninsula: Ecological and Taxonomic Aspects. *Chemistry and Biodeversity*, 12: 157-169.
- Trudić B., Anđelković B., Tešević V., Orlović S., Jadranin M., Krstić G. and Galović V. (2013): Chemical analysis of leaf cuticular wax of poplar clones in Serbia. *Topola/Poplar*, 191: 63-72.
- Tuffi Santos L., Sant'Anna-Santos B., Meira R., Ferreira F., Tiburcio R. and Machado A. (2009): Leaf anatomy and morphometry in three eucalypt clones treated with glyphosate. *Brazilian Journal of Biology*, 69: 129-136.
- Uddling J., Gelang-Alfredsson J., Piikki K. and Pleijel H. (2007): Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynth Research*, 91: 37-46.
- Valverde B., Riches C. and Caseley J. (2000): Prevention and Management of Herbicide – Resistant Weeds in Rice: Experiences from Central America with *Echinochloa colona*. *Camara de Insumos Agropecuarios: San Jose, Costa Rica*, pp.123.

- Vaughn K. (1986): Characterization of Triazine-Resistant and –Susceptible Isolines of Canola (*Brassica napus* L.). *Plant Physiology* 82: 859-863.
- Vink J., Soltani N., Robinson D., Tardif F., Lawton M. and Sikkema P. (2012): Glzphosate-Resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in Ontario: Dose response and control with postemergence herbicides. *American Journal of Plant Sciences*, 3: 608-617.
- Vitek P., Novotna K., Hodanova P., Rapantova B. and Klem K. (2017): Detection of herbicide effects on pigment composition and PSII photochemistry in *Helianthus annuus* by Raman spectroscopy and chlorophyll *a* fluorescence. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 170: 234-241.
- Vranješ F., Arsenijević N. i Božić D. (2016): Osetljivost *Chenopodium album* i *Abutilon theophrasti* na mezotrion u zavisnosti od fenofaze razvoja. *Acta herbologica*, 25: 27-34.
- Vranješ F., Božić, D., Rančić, D., Anđelković, A. i Vrbničanin, S. (2017): Proučavanje anatomske građe lista *Chenopodium album* u funkciji osetljivosti na herbicide. *Acta herbologica*, 26: 31-40.
- Vrbničanin S., Božić D., Rančić D., Pavlović D. i Prodanović S. (2006): Populaciona varijabilnost vrste *Polygonum aviculare* L. *Pesticidi i fitomedicina*, 21: 281-287.
- Vrbničanin S., Božić D., Malidža G., Dušanić N., Pavlović D. and Barać M. (2008): Tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to imazethapyr. *Helia*, 31: 85-94.
- Vrbničanin S. i Božić D. (2017): *Abutilon theophrasti* Medik. – lipica Teofrastova. *Acta herbologica*, 26: 5-21.
- Wang C. and Liu, Z. (2007): Foliar uptake of pesticides - Present status and future challenges. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 1-8.
- Wang P., Li H., Jia W., Chen Y. and Gerhards R. (2018): A fluorescence sensor capable of real-time herbicide effect monitoring in greenhouses and the field. *Sensors*, 18: 3771.

- Warwick S. and Black L. (1988): The biology of Canadian weeds. 90. *Abutilon theophrasti*. Canadian Journal of Plant Science, 68: 1069-1085.
- Wellburn A. (1994): The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307–313.
- Westerman P., Diesterheft J. and Gerowitt B. (2012): Phenology of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medic.) populations grown in northern Germany. 25th German Conference on Weed Biology and Weed Control, Braunschweig, Germany.
- Westwood J., Charudattan R., Duke S., Fennimore S., Marrone P., Slaughter D., Swanton C. and Zollinger R. (2018): Weed management in 20520: Perspectives on the future of weed science. Weed Science, 66: 275-285.
- Wise R., Sassenrath-Cole G. and Percy R. (2000): A comparison of leaf anatomy in field-grown *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*. Annals of Botany, 86: 731-738.
- Withnall R., Chowdhry B., Silver J., Edwards H. and de Oliveira, L. (2003). Raman spectra of carotenoids in natural products. Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 59: 2207–2212.
- Young A. and Frank H. (1996): Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 36: 3-15.
- Zarinkamar F. (2007): Stomatal Observation in Dicotyledons. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 199-219.
- Zhang C., Lim S., Kim J., Nah G., Fisher A. and Kim D. (2016): Leaf chlorophyll fluorescence discriminates herbicide resistance in *Echinochloa* species. Weed Research, 56: 424-433.

PRILOZI

Tabela 8. Značajnost razlika između parametara anatomske građe listova *C. album* različite starosti (LSD test)

Epidermis lica				
	2. par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,407 ^{ns}	0,410 ^{ns}	0,326 ^{ns}	0,198 ^{ns}
2.par		0,999 ^{ns}	0,861 ^{ns}	0,552 ^{ns}
3.par			0,863 ^{ns}	0,558 ^{ns}
4.par				0,657 ^{ns}
Epidermis naličja				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,789 ^{ns}	0,756 ^{ns}	0,554 ^{ns}	0,469 ^{ns}
2.par		0,952 ^{ns}	0,665*	0,538 ^{ns}
3.par			0,716 ^{ns}	0,586 ^{ns}
4.par				0,665 ^{ns}
Palisadno tkivo				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,733 ^{ns}	0,367 ^{ns}	0,191 ^{ns}	0,044*
2.par		0,454 ^{ns}	0,190 ^{ns}	0,023*
3.par			0,612 ^{ns}	0,141 ^{ns}
4.par				0,298 ^{ns}
Sunderasto tkivo				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,840 ^{ns}	0,654 ^{ns}	0,345 ^{ns}	0,239 ^{ns}
2.par		0,743 ^{ns}	0,314 ^{ns}	0,184 ^{ns}
3.par			0,516 ^{ns}	0,334 ^{ns}
4.par				0,736 ^{ns}
Mezofil				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,737 ^{ns}	0,401 ^{ns}	0,166 ^{ns}	0,048*
2.par		0,501 ^{ns}	0,156 ^{ns}	0,026*
3.par			0,486 ^{ns}	0,133 ^{ns}
4.par				0,386 ^{ns}
Ukupna debljina lista				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,660 ^{ns}	0,356 ^{ns}	0,137 ^{ns}	0,036*
2.par		0,518 ^{ns}	0,157 ^{ns}	0,025*

3.par	0,472 ^{ns}	0,122 ^{ns}
4.par		0,472 ^{ns}

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

Tabela 9. Značajnost razlika između parametara anatomske građe listova *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

		Epidermis lica			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,090 ^{ns}	0,002**	0,000**	0,000**	
2. list		0,154 ^{ns}	0,015*	0,003**	
3. list			0,311 ^{ns}	0,126 ^{ns}	
4. list				0,605 ^{ns}	
		Epidermis naličja			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,729 ^{ns}	0,001**	0,000**	0,000**	
2. list		0,003**	0,001**	0,000**	
3. list			0,690 ^{ns}	0,049*	
4. list				0,112 ^{ns}	
		Palisadno tkivo			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,919 ^{ns}	0,172 ^{ns}	0,002**	0,000**	
2. list		0,213 ^{ns}	0,003**	0,000**	
3. list			0,081 ^{ns}	0,000**	
4. list				0,000**	
		Sunderasto tkivo			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,082 ^{ns}	0,016*	0,000**	0,000**	
2. list		0,502 ^{ns}	0,004**	0,000**	
3. list			0,025*	0,000**	
4. list				0,007**	
		Mezofil			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,358 ^{ns}	0,046*	0,000**	0,000**	
2. list		0,286 ^{ns}	0,001**	0,000**	
3. list			0,033*	0,000**	
4. list				0,000**	
		Ukupna debljina lista			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,215 ^{ns}	0,004**	0,000**	0,000**	

2. list	0,094 ^{ns}	0,000**	0,000**
3. list		0,018 *	0,000**
4. list			0,000**

($p < 0,01$)**; ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

Tabela 14. Značajnost razlika u broju površinskih struktura na listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

		Lice lista						Lice lista						
		2.par	3.par	4.par	5.par			2.par	3.par	4.par	5.par			
<i>C. album</i>	voštane žlezde	1.par	0,822 ^{ns}	0,382 ^{ns}	0,000**	0,000**	<i>C. album</i>	stome	1.par	0,279 ^{ns}	0,000**	0,000**	0,000**	
		2.par		0,482 ^{ns}	0,000**	0,000**			2.par		0,000**	0,000**	0,000**	
		3.par			0,001**	0,000**			3.par			0,000**	0,000**	
		4.par				0,000**			4.par				0,000**	
			Naličje lista						Naličje lista					
			2.par	3.par	4.par	5.par			2.par	3.par	4.par	5.par		
			1.par	0,279 ^{ns}	0,000**	0,000**	0,000**			1.par	0,238 ^{ns}	0,000**	0,000**	0,000**
			2.par		0,001**	0,000**	0,000**			2.par		0,000**	0,000**	0,000**
		3.par			0,000**	0,000**			3.par			0,000**	0,000**	
		4.par				0,000**			4.par				0,000**	
<i>A. theophrasti</i>	dlake	1. list	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**	<i>A. theophrasti</i>	stome	1. list	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**	
		2. list		0,001**	0,000**	0,000**			2. list		0,005**	0,000**	0,000**	
		3. list			0,061 ^{ns}	0,000**			3. list			0,000**	0,000**	
		4. list				0,000**			4. list				0,006**	
			Naličje lista						Naličje lista					
			2. list	3. list	4. list	5. list			2. list	3. list	4. list	5. list		
			1. list	0,279 ^{ns}	0,000**	0,000**	0,000**			1. list	0,000**	0,000**	0,000**	0,000**
			2. list		0,001**	0,000**	0,000**			2. list		0,218 ^{ns}	0,007**	0,000**
		3. list			0,000**	0,000**			3. list			0,165 ^{ns}	0,000**	
		4. list				0,000**			4. list				0,000**	

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

Tabela 17. Značajnost razlika u udelu epikutikularnih voskova u listovima *C. album* i *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

		2.par	3.par	4.par	5.par
<i>C. album</i>	1.par	0,889 ^{ns}	0,463 ^{ns}	0,243 ^{ns}	0,227 ^{ns}
	2.par		0,549 ^{ns}	0,299 ^{ns}	0,279 ^{ns}
	3.par			0,644 ^{ns}	0,611 ^{ns}
	4.par				0,963 ^{ns}
		2. list	3. list	4. list	5. list
<i>A. theophrasti</i>	1. list	0,4 ^{ns}	0,139 ^{ns}	0,194 ^{ns}	0,139 ^{ns}
	2. list		0,412 ^{ns}	0,535 ^{ns}	0,412 ^{ns}
	3. list			0,835 ^{ns}	1,000 ^{ns}
	4. list				0,835 ^{ns}

Tabela 21. Značajnost razlika u sadržaju različitih klasa jedinjenja epikutikularnih voskova listova *C. album* različite starosti (LSD test)

		Aldehidi			
		2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,946 ^{ns}	0,419 ^{ns}	0,511 ^{ns}	0,784 ^{ns}	
2.par		0,381 ^{ns}	0,469 ^{ns}	0,732 ^{ns}	
3.par			0,879 ^{ns}	0,592 ^{ns}	
4.par				0,701 ^{ns}	
		Alkani			
		2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,704 ^{ns}	0,322 ^{ns}	0,299 ^{ns}	0,275 ^{ns}	
2.par		0,540 ^{ns}	0,509 ^{ns}	0,475 ^{ns}	
3.par			0,962 ^{ns}	0,919 ^{ns}	
4.par				0,957 ^{ns}	
		Alkeni			
		2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,545 ^{ns}	0,305 ^{ns}	0,501 ^{ns}	0,488 ^{ns}	
2.par		0,667 ^{ns}	0,945 ^{ns}	0,929 ^{ns}	
3.par			0,718 ^{ns}	0,733 ^{ns}	
4.par				0,984 ^{ns}	
		Alkoholi			
		2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,609 ^{ns}	0,569 ^{ns}	0,678 ^{ns}	0,890 ^{ns}	
2.par		0,953 ^{ns}	0,924 ^{ns}	0,709 ^{ns}	
3.par			0,877 ^{ns}	0,666 ^{ns}	
4.par				0,782 ^{ns}	

Estri				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,054 ^{ns}	0,009 ^{**}	0,011 [*]	0,006 ^{**}
2.par		0,479 ^{ns}	0,533 ^{ns}	0,418 ^{ns}
3.par			0,933 ^{ns}	0,918 ^{ns}
4.par				0,852 ^{ns}
Estar i sterol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,002 ^{**}	0,001 ^{**}	0,001 ^{**}	0,075 ^{ns}
2.par		0,637 ^{ns}	0,905 ^{ns}	0,049 [*]
3.par			0,724 ^{ns}	0,021 [*]
4.par				0,039 ^{**}
Etar				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,016 [*]	0,024 [*]	0,044 [*]	0,030 [*]
2.par		0,800 ^{ns}	0,557 ^{ns}	0,715 ^{ns}
3.par			0,736 ^{ns}	0,910 ^{ns}
4.par				0,822 ^{ns}
Keton				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,001 ^{**}	0,002 ^{**}	0,000 ^{**}	0,002 ^{**}
2.par		0,718 ^{ns}	0,453 ^{ns}	0,644 ^{ns}
3.par			0,276 ^{ns}	0,918 ^{ns}
4.par				0,273 ^{ns}
Sterol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,095 ^{ns}	0,042 [*]	0,149 ^{ns}	0,260 ^{ns}
2.par		0,702 ^{ns}	0,811 ^{ns}	0,007 ^{**}
3.par			0,534 ^{ns}	0,002 ^{**}
4.par				0,013 [*]
Triterpen				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,281 ^{ns}	0,643 ^{ns}	0,566 ^{ns}	0,000 ^{**}
2.par		0,535 ^{ns}	0,610 ^{ns}	0,000 ^{**}
3.par			0,912 ^{ns}	0,000 ^{**}
4.par				0,000 ^{**}

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

Tabela 22. Značajnost razlika u sadržaju različitih klasa jedinjenja epikutikularnih voskova listova *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

Aldehidi				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,009**	0,000**	0,000**	0,027*
2. list		0,021*	0,077 ^{ns}	0,665 ^{ns}
3. list			0,570 ^{ns}	0,007**
4. list				0,000**
Alkani				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,755 ^{ns}	0,727 ^{ns}	0,819 ^{ns}	0,368 ^{ns}
2. list		0,970 ^{ns}	0,934 ^{ns}	0,556 ^{ns}
3. list			0,904 ^{ns}	0,581 ^{ns}
4. list				0,501 ^{ns}
Alkohol				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,958 ^{ns}	0,992 ^{ns}	0,595 ^{ns}	0,670 ^{ns}
2. list		0,966 ^{ns}	0,559 ^{ns}	0,632 ^{ns}
3. list			0,588 ^{ns}	0,663 ^{ns}
4. list				0,916 ^{ns}
Estar				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,786 ^{ns}	0,499 ^{ns}	0,107 ^{ns}	0,001**
2. list		0,344 ^{ns}	0,060 ^{ns}	0,001**
3. list			0,349 ^{ns}	0,011*
4. list				0,110 ^{ns}
Keton				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,773 ^{ns}	0,908 ^{ns}	0,198 ^{ns}	0,144 ^{ns}
2. list		0,686 ^{ns}	0,313 ^{ns}	0,235 ^{ns}
3. list			0,163 ^{ns}	0,116 ^{ns}
4. list				0,852 ^{ns}
Masna kiselina				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,634 ^{ns}	0,278 ^{ns}	0,579 ^{ns}	0,568 ^{ns}
2. list		0,527 ^{ns}	0,312 ^{ns}	0,305 ^{ns}
3. list			0,116 ^{ns}	0,113 ^{ns}
4. list				0,987 ^{ns}
Lakton				
	2. list	3. list	4. list	5. list

1. list	0,380 ^{ns}	0,874 ^{ns}	0,619 ^{ns}	0,112 ^{ns}
2. list		0,466 ^{ns}	0,182 ^{ns}	0,024*
3. list			0,514 ^{ns}	0,086 ^{ns}
4. list				0,247 ^{ns}
Sterol				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,897 ^{ns}	0,174 ^{ns}	0,139 ^{ns}	0,081 ^{ns}
2. list		0,137 ^{ns}	0,108 ^{ns}	0,062 ^{ns}
3. list			0,905 ^{ns}	0,788 ^{ns}
4. list				0,788 ^{ns}
Triterpen				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,764 ^{ns}	0,814 ^{ns}	0,116 ^{ns}	0,020*
2. list		0,948 ^{ns}	0,201 ^{ns}	0,040*
3. list			0,179 ^{ns}	0,035*
4. list				0,423 ^{ns}
Vitamin E				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,737 ^{ns}	0,644 ^{ns}	0,555 ^{ns}	0,463 ^{ns}
2. list		0,430 ^{ns}	0,796 ^{ns}	0,684 ^{ns}
3. list			0,302 ^{ns}	0,243 ^{ns}
4. list				0,882 ^{ns}

($p < 0,01$)**; ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

Tabela 23. Značajnost razlika u sadržaju jedinjenja iz klase alkana u epikutikularnim voskovima lista *C. album* različite starosti (LSD test)

Heptakosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,228 ^{ns}	0,045*	0,019*	0,002**
2.par		0,338 ^{ns}	0,164 ^{ns}	0,016*
3.par			0,632 ^{ns}	0,086 ^{ns}
4.par				0,189 ^{ns}
Heksakosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,705 ^{ns}	0,211 ^{ns}	0,314 ^{ns}	0,030*
2.par		0,365 ^{ns}	0,517 ^{ns}	0,059 ^{ns}
3.par			0,788 ^{ns}	0,264 ^{ns}
4.par				0,175 ^{ns}

Nonakosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,006**	0,000**	0,000**	0,000**
2.par		0,001**	0,000**	0,003**
3.par			0,714 ^{ns}	0,345 ^{ns}
4.par				0,202 ^{ns}
Pentakosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,456 ^{ns}	0,561 ^{ns}	0,325 ^{ns}	0,110 ^{ns}
2.par		0,865 ^{ns}	0,799 ^{ns}	0,351 ^{ns}
3.par			0,673 ^{ns}	0,276 ^{ns}
4.par				0,490 ^{ns}
Skvalan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,132 ^{ns}	0,052 ^{ns}	0,058 ^{ns}	0,063 ^{ns}
2.par		0,581 ^{ns}	0,626 ^{ns}	0,661 ^{ns}
3.par			0,947 ^{ns}	0,907 ^{ns}
4.par				0,960 ^{ns}
Tetrakosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,912 ^{ns}	0,973 ^{ns}	0,653 ^{ns}	0,156 ^{ns}
2.par		0,939 ^{ns}	0,733 ^{ns}	0,186 ^{ns}
3.par			0,677 ^{ns}	0,165 ^{ns}
4.par				0,310 ^{ns}
Triakontan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,176 ^{ns}	0,001**	0,000**	0,000**
2.par		0,006**	0,005**	0,000**
3.par			0,857 ^{ns}	0,004**
4.par				0,006**
Trikosan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,444 ^{ns}	0,529 ^{ns}	0,971 ^{ns}	0,520 ^{ns}
2.par		0,178 ^{ns}	0,424 ^{ns}	0,174 ^{ns}
3.par			0,552 ^{ns}	0,989 ^{ns}
4.par				0,543 ^{ns}
Untriakontan				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,821 ^{ns}	0,006**	0,020*	0,000**

2.par	0,009**	0,030*	0,000**
3.par		0,500 ^{ns}	0,001**
4.par			0,000**

($p < 0,01$)**, ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

Tabela 24. Značajnost razlika u sadržaju jedinjenja iz klase alkohola u epikutikularnim voskovima lista *C. album* različite starosti (LSD test)

1-Heksadekanol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,003**	0,003**	0,003**	0,019*
2.par		0,958 ^{ns}	0,951 ^{ns}	0,304*
3.par			0,909 ^{ns}	0,282 ^{ns}
4.par				0,331 ^{ns}
Triakontanol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,007**	0,006**	0,006**	0,008**
2.par		0,927 ^{ns}	0,971 ^{ns}	0,904 ^{ns}
3.par			0,955 ^{ns}	0,832 ^{ns}
4.par				0,876 ^{ns}
Dotriakontanol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,034*	0,005**	0,005**	0,169 ^{ns}
2.par		0,285 ^{ns}	0,276 ^{ns}	0,357 ^{ns}
3.par			0,982 ^{ns}	0,063 ^{ns}
4.par				0,060 ^{ns}
Oktakosanol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,00**	0,000**	0,005**	0,426 ^{ns}
2.par		0,568 ^{ns}	0,371 ^{ns}	0,004**
3.par			0,158 ^{ns}	0,002**
4.par				0,020*
Oktadekanol				
	2.par	3.par	4.par	5.par
1.par	0,228 ^{ns}	0,996 ^{ns}	0,743 ^{ns}	0,967 ^{ns}
2.par		0,226 ^{ns}	0,365 ^{ns}	0,214 ^{ns}
3.par			0,740 ^{ns}	0,971 ^{ns}
4.par				0,713 ^{ns}

($p < 0,01$)**, ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

Tabela 25. Značajnost razlika u sadržaju jedinjenja iz klase alkana u epikutikularnim voskovima lista *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

Dotriakontan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,225 ^{ns}	0,864 ^{ns}	0,049*	0,531 ^{ns}
2. list		0,172 ^{ns}	0,365 ^{ns}	0,081 ^{ns}
3. list			0,036*	0,646 ^{ns}
4. list				0,016*
Heptakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,297 ^{ns}	0,550 ^{ns}	0,317 ^{ns}	0,342 ^{ns}
2. list		0,116 ^{ns}	0,057 ^{ns}	0,920 ^{ns}
3. list			0,674 ^{ns}	0,137 ^{ns}
4. list				0,067 ^{ns}
Heksakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,170 ^{ns}	0,430 ^{ns}	0,401 ^{ns}	0,922 ^{ns}
2. list		0,527 ^{ns}	0,561 ^{ns}	0,145 ^{ns}
3. list			0,958 ^{ns}	0,377 ^{ns}
4. list				0,351 ^{ns}
Nonakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,152 ^{ns}	0,014*	0,033*	0,000**
2. list		0,181 ^{ns}	0,378 ^{ns}	0,000**
3. list			0,618 ^{ns}	0,004**
4. list				0,002**
Oktakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,018*	0,569 ^{ns}	0,650 ^{ns}	0,224 ^{ns}
2. list		0,050 ^{ns}	0,040*	0,002**
3. list			0,906 ^{ns}	0,089 ^{ns}
4. list				0,108 ^{ns}
Pentakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,103 ^{ns}	0,255 ^{ns}	0,030*	0,419 ^{ns}
2. list		0,570 ^{ns}	0,477 ^{ns}	0,363 ^{ns}
3. list			0,214 ^{ns}	0,723 ^{ns}
4. list				0,122 ^{ns}
Skvalan				
	2. list	3. list	4. list	5. list

1.	0,072 ^{ns}	0,018*	0,074 ^{ns}	0,101 ^{ns}
2.		0,441 ^{ns}	0,988 ^{ns}	0,839*
3.			0,433 ^{ns}	0,336 ^{ns}
4.				0,851 ^{ns}
Tetrakosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,047 ^{ns}	0,409 ^{ns}	0,207 ^{ns}	0,340 ^{ns}
2. list		0,190 ^{ns}	0,380 ^{ns}	0,234 ^{ns}
3. list			0,637 ^{ns}	0,892 ^{ns}
4. list				0,735 ^{ns}
Tetratriakontan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,992 ^{ns}	0,273 ^{ns}	0,985 ^{ns}	0,812 ^{ns}
2. list		0,269 ^{ns}	0,977 ^{ns}	0,805 ^{ns}
3. list			0,280 ^{ns}	0,381 ^{ns}
4. list				0,827 ^{ns}
Triakontan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,168 ^{ns}	0,007**	0,017*	0,001**
2. list		0,085 ^{ns}	0,205 ^{ns}	0,012*
3. list			0,588 ^{ns}	0,286 ^{ns}
4. list				0,122 ^{ns}
Trikosan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,470 ^{ns}	0,786 ^{ns}	0,884 ^{ns}	0,933 ^{ns}
2. list		0,328 ^{ns}	0,389 ^{ns}	0,423 ^{ns}
3. list			0,900 ^{ns}	0,851 ^{ns}
4. list				0,950 ^{ns}
Tritriakontan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,798 ^{ns}	0,386 ^{ns}	0,464 ^{ns}	0,009**
2. list		0,270 ^{ns}	0,330 ^{ns}	0,006**
3. list			0,888 ^{ns}	0,041*
4. list				0,032*
Untriakontan				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,334 ^{ns}	0,552 ^{ns}	0,542 ^{ns}	0,772 ^{ns}
2. list		0,697 ^{ns}	0,708 ^{ns}	0,489 ^{ns}

3. list	0,988 ^{ns}	0,7580 ^{ns}
4. list		0,746 ^{ns}

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

Tabela 26. Značajnost razlika u sadržaju jedinjenja iz klase alkohola u epikutikularnim voskovima lista *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

		Nonakosanol			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,086 ^{ns}	0,691 ^{ns}	0,376 ^{ns}	0,000**	
2. list		0,043*	0,018*	0,000**	
3. list			0,616 ^{ns}	0,000**	
4. list				0,000**	
		Oktakosanol			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,502 ^{ns}	0,227 ^{ns}	0,016*	0,029*	
2. list		0,568 ^{ns}	0,051 ^{ns}	0,095 ^{ns}	
3. list			0,136 ^{ns}	0,239 ^{ns}	
4. list				0,718 ^{ns}	
		Triakontanol			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,123 ^{ns}	0,011*	0,151 ^{ns}	0,007**	
2. list		0,187 ^{ns}	0,900 ^{ns}	0,117 ^{ns}	
3. list			0,153 ^{ns}	0,770 ^{ns}	
4. list				0,095 ^{ns}	

(p<0,01)**; (0,01<p<0,05)*; ns-nije statistički značajno (p>0,05)

Tabela 27. Značajnost razlika u sadržaju jedinjenja iz klase triterpena u epikutikularnim voskovima lista *A. theophrasti* različite starosti (LSD test)

		Lup-20(29)-en-3-on			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,324 ^{ns}	0,283 ^{ns}	0,008**	0,001**	
2. list		0,926 ^{ns}	0,045*	0,005**	
3. list			0,053 ^{ns}	0,006**	
4. list				0,231 ^{ns}	
		Metil komat C			
	2. list	3. list	4. list	5. list	
1. list	0,071 ^{ns}	0,005**	0,665 ^{ns}	0,782 ^{ns}	
2. list		0,150 ^{ns}	0,147 ^{ns}	0,114 ^{ns}	

3. list			0,011*	0,008**
4. list				0,875 ^{ns}
Olean-12-en-3-on				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,010*	0,005**	0,084 ^{ns}	0,355 ^{ns}
2. list		0,676 ^{ns}	0,232 ^{ns}	0,051 ^{ns}
3. list			0,120 ^{ns}	0,024*
4. list				0,366 ^{ns}
Skvalen				
	2. list	3. list	4. list	5. list
1. list	0,204 ^{ns}	0,198 ^{ns}	0,043*	0,015*
2. list		0,984 ^{ns}	0,360 ^{ns}	0,148 ^{ns}
3. list			0,370 ^{ns}	0,153 ^{ns}
4. list				0,556 ^{ns}

($p < 0,01$)**; ($0,01 < p < 0,05$)*; ns-nije statistički značajno ($p > 0,05$)

BIOGRAFIJA

Filip Vranješ je rođen 7.12.1985. godine u Beogradu, Republika Srbija. Završio je osnovnu školu „Gornja Varoš“ u Zemunu, a potom opšti smer Desete beogradske gimnazije „Mihajlo Pupin“. Osnovne akademske studije upisao je školske 2004/2005. godine na Poljoprivrednom fakultetu u Zemunu, Univerziteta u Beogradu, na odseku Zaštita bilja i prehrambenih proizvoda. Kao redovan student na odseku za Zaštitu bilja i prehrambenih proizvoda, diplomirao je 2010. godine, sa prosečnom ocenom 8,16 (osam šesnaest). Diplomski rad pod nazivom „Efikasnost preparata Coragen (hlorantraniliprol) u suzbijanju *Cydia pomonella* na jabuci“ odbranio je na Katedri za pesticide, sa ocenom 10. Školske 2011/2012 godine na istom fakultetu, na odseku za Fitomedicinu, upisuje master studije koje 2012. godine završava sa prosečnom ocenom 9,88 (devet osamdeset osam). Diplomski rad pod nazivom „Ispitivanje fungicida u Evropskoj uniji na primeru preparata Avalon (a.s. pirimetanil)“ odbranio je na Katedri za pesticide, sa ocenom 10. Školske 2012/13 godine takođe na istom fakultetu upisuje doktorske studije na smeru Poljoprivredne nauke, modul Fitomedicina, Katedra za pesticide.

Od 04.04.2011. godine zasnovao je radni odnos na neodređeno vreme u kompaniji „Galenika Fitofarmacija a.d.“, Beograd-Zemun.

Autor, odnosno koautor je 9 objavljenih ili saopštenih radova. Govori, čita i piše engleski jezik.

IZJAVE

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Filip I. Vranješ

Broj indeksa FM 12/24

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

Uloga morfo-anatomske građe u osetljivosti *Chenopodium album* L. i
Abutilon theophrasti Medik. prema mezotrionu

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora	<u>Filip I. Vranješ</u>
Broj indeksa	<u>FM 12/24</u>
Studijski program	<u>Poljoprivredne nauke, modul: Fitomedicina</u>
Naslov rada	<u>Uloga morfo-anatomske građe u osetljivosti <i>Chenopodium album</i> L. i <i>Abutilon theophrasti</i> Medik. prema mezotrionu</u>
Mentor	<u>dr Dragana Božić, vanredni profesor</u>

Potpisan Filip Vranješ

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranta

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Uloga morfo-anatomske građe u osetljivosti *Chenopodium album* L. i
Abutilon theophrasti Medik. prema mezotrionu

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

Potpis doktoranta

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo** - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo - deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.