

Osetljivost vrsta *Conyza canadensis* (L) Cronquist i *Conyza bonariensis* (L) Cronquist na glifosat

Danijela Pavlović¹, Sava Vrbničanin², Charlie Reinhardt³, Albert Fischer⁴

¹Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, 11000 Beograd, Teodora Drajzera 9, Srbija

²Poljoprivredni fakultet, 11080 Beograd, Nemanjina 6, Srbija

³Department of Plant Production and Soil Science, Faculty of Natural and Agric Sciences, University of Pretoria, South Africa

⁴Department of Plant Sciences, University of California, Davis, USA

REZIME

Praćene su promene u anatomskoj građi listova pretpostavljeno rezistentnih populacija *C. canadensis* i *C. bonariensis* nakon primene 2, 4 i 8 L ha⁻¹ Touch down (500 g a.m. glifosat L⁻¹). Za analizu anatomске građi listova (LM, TEM) materijal je uzorkovan nakon 3, 7 i 24 h posle primene herbicida. Takođe, praćene su promene u sadržaju hlorofila i šikiminske kiseline kod testiranih populacija. Promene u anatomskoj građi listova nisu konstatovane kod ispitivanih populacija nakon 3 i 7 časova posle primene herbicida. Međutim, 24 časa nakon primene različitih količina uočene su razlike u anatomskoj građi listova. Oštećenja su bila uočljiva kod pop. *C. bonariensis* nakon primene 2 L ha⁻¹, a kod pop. *C. canadensis* tek nakon primene najveće količine glifosata (8 L ha⁻¹). Promene su uočene na ćelijskom zidu, lamelama hloroplasta, kao i na samim hloroplastama. Na osnovu sadržaja hlorofila i šikiminske kiseline takođe su utvrđene stataistički značajne razlike između tretiranih i kontrolnih biljaka.

Gljučne reči: Anatomska građa listova; *Conyza canadensis* (L) Cronquist.; *Conyza bonariensis* (L) Cronquist.; glifosat; šikiminska kiselina; rezistentnost

UVOD

Vrste roda *Conyza* (*Conyza canadensis* (L) Cronquist. i *Conyza bonariensis* (L) Cronquist.) za sada se češće sreću na manje obrađivanim zemljištima (utrinama, međama, zaparloženim površinama, pored puteva, višegodišnjim zasadima, lucerištima, deteliništima, itd.) (Vrbničanin i Šinžar, 2003), autogamne su (prisutna je i ukrštena polinacija, 10%), proizvode ogromnu količinu semena, imaju široko geografsko rasprostranjenje (Weaver, 2001), mnoge od njih pripadaju grupi invazivnih korova (Vrbničanin i sar., 2004), i sve to ide u prilog verovatnoći da će u skorijoj budućnosti njihovo prisustvo biti veće na intenzivno obrađivanim površinama. To povlači za sobom pitanje: kako i na koji način ih suzbijati, s obzirom da generalno pripadaju kategoriji manje osetljivih korova na veliki broj herbicida. Problem postaje još izraženiji jer su u svetu već potvrđeni slučajevi razvijene rezistentnosti ovih vrsta na neke herbicide (Buhler i sar., 1997; Weaver, 2001; Owen i Zelaya, 2005). Sa aspekta razvoja rezistentnosti na herbicide posebno su interesantne vrste *Conyza canadensis* (L) Cronquist. i *Conyza bonariensis* (L) Cronquist. Istraživanjima je potvrđeno da je razvoj rezistentnosti kod ovih vrsta najčešće posledica smanjenog usvajanja i promenjene translokacije herbicida, kao i izmene metabolizma, tj. stvaranja metabolita koji nemaju značajan herbicidni efekat u biljnoj ćeliji (Bourque i sar., 2002; Feng i sar., 2004). Iz tih razloga, cilj u ovim istraživanjima je bio da se u kontrolisanim uslovima ispita efekat različitih količina herbicida Touch down (500 g a.m. glifosat L⁻¹), brzina njegovog usvajanja i reakcije kod *C. canadensis* i *C. bonariensis* na anatomskom, morfološkom i biohemijskom nivou.

MATERIJAL I METODE

Ispitivanja su obavljena u laboratorijskim uslovima na Univerzitetu u Pretoriji (Dept. of Plant Production and Soil Science, Faculty of Natural and Agric Sciences, University of Pretoria, South Africa) 2007. godine. Testirane su dve populacije *C. canadensis* (P₁- lokalitet Pretoria i P₂- lokalitet Nelspruit), i jedna populacija *C. bonariensis* (P₃ - lokalitet Nelspruit). Biljke su iz prirodnih populacija sa zemljom presađene u plastične sudove zapremine 1 L i prenete u staklaru. U saksiji se razvijala po jedna biljka i od svake populacije za svaki tretman je bilo po deset biljaka (3 populacije × 4 tretmana × 10 biljaka). U staklari su vladali sledeći uslovi: prosečna temperatura vazduha je iznosila 22,8°C, prosečna vlažnost vazduha 54,6% i 12h/12h je bio fotoperiod. Zalivanje biljaka je rađeno po potrebi. Glifosat (preparat Touch down, 500 g a.m. glifosat L⁻¹) je primenjen tako što je po pola lista biljke koja je bila visine 10 do 15 cm potapano u rastvor herbicida različite koncentracije: 1000, 2000 i 4000 g a.m. glifosata (2, 4 i 8 L ha⁻¹ Touch down). Za praćenje promena u anatomskoj građi listova između tretiranih i kontrolnih (netretiranih) populacija *C. canadensis* i *C. bonariensis* listovi su uzorkovani 3, 7 i 24 sata nakon potapanja u rastvor herbicida (HAT). Za izradu anatomskih preparata listovi su pripremani po proceduri Glauert (1975) i Meek (1976), cit. Coetzee i Van der Merwe (2007).

Procedura za izradu anatomskih preparata za svetlosnu (Light microscopy, LM) i transmissionu elektronsku mikroskopiju (Transmission electron microscopy TEM)

Na tretiranim i kontrolnim biljkama pravljani su iseći listova dimenzija 2-4 mm² i takvi prenošeni u fiksativ (2,5% glutaraldehidu u 0,075 M fosfatnom puferu (pH 7,4)). Zatim su iseći ispirani u 0,075 M fosfatnom puferu tri puta po 10 min. i fiksirani sa 0,5% vodenim osmium tetraoksidom u trajanju 1-2 h, potom ponovo tri puta ispirani destilovanom vodom. Sušenje listnih isečaka je rađeno sa etanolom u 5 različitih koncentracija (30%, 50%, 70%, 90%, 3×100%). Nakon toga, iseći listova su infiltrirani prvo u 50% Quetolu oko 1 h pa u čistom Quetolu (100%) i stavljeni na polimerizaciju (60°C, 39 h) u posebne kalupe. Za svetlosnu mikroskopiju pravljani su anatomski preseći na mikrotomu debljine 0,5-1µm i bojeni su u plavo (Toluidine blue).

Za transmissionu elektronsku mikroskopiju pravljani su ultra tanki preseći dijamantskim nožem. Ultra tanki preseći listova su postavljani na mrežicu (φ 3 mm) i potapani 10 min. u 4% vodeni uranil acetat, zatim ispirani po 20 puta sa tri čaše destilovane vode i potom držani 2 min u Reynoldovoj (Reynold's) kiselini i ponovo ispirani po 20 puta u tri čaše destilovane vode.

Za oba tipa anatomskih preparata (LM, TEM) u okviru svake varijante rađeno je po 30 preseka lista.

Analiza šikiminske kiseline

Za utvrđivanje sadržaja šikiminske kiseline u tretiranim i kontrolnim biljkama uzorkovanje biljnog materijala je rađeno 2-og, 4-og i 6-og dana (DAT) nakon primene 1000 g a.m. glifosata. Sadržaj šikiminske kiseline je određivan po proceduri koju su predložili Mueller i sar. (2003) za HPLC (Hromatography Polymerase Lequide, Hewlett Packard Agilent 1100 series, koji je opremljen sa DAD (Diode Array Detector) detektorom i Luna-NH₂ kolonom prečnika 5 µm sa protokom od 1 ml min⁻¹). Uzorci su usitnjeni u tečnom azotu, dodato je 10 ml 1M HCL da bi se izvršila ekstrakcija šikiminske kiseline. Nakon toga rastvoru je podešena pH pomoću saturisanog NaOH i 0,01M NaOH do vrednosti 3,0-3,5 (rastvor prirodnog biljnog materijala je veoma kiseo, pH oko 1,0) i urađena je filtracija.

Određivanje sadržaja hlorofila

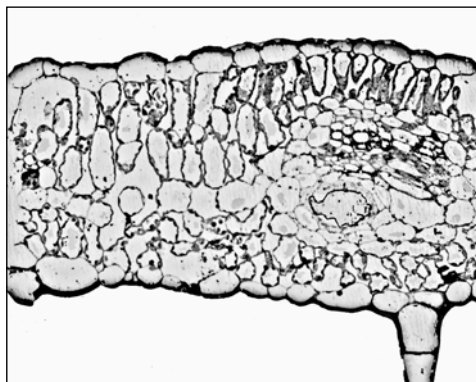
Određivanje relativnog sadržaja hlorofila je rađeno na intaktnim biljkama SPAD metrom (SPAD-502 Minolta) i klasičnom metodom na spektrofotometru, pri čemu je kod druge metode ekstrakcija hlorofila rađena sa metanolom. Sadržaj hlorofila *a* i *b*, kao i ukupan hlorofil određivani su po formuli Lichtenthaler i Wellburn (1983): Chl *a* = 15,65 × A₆₆₆ - 7,34 × A₆₅₃; Chl *b* = 27,05 × A₆₅₃ - 11,21 × A₆₆₆; ukupan hlorofil = Chl *a* + Chl *b*.

Obrada podataka

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni LSD i T-testom (Statistika 6).

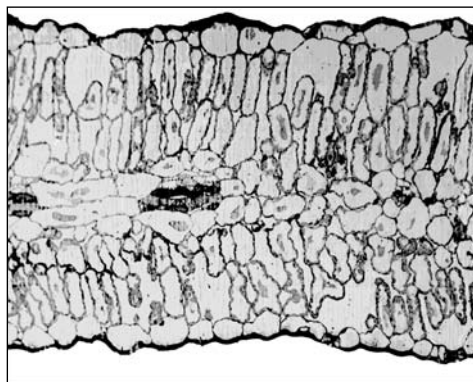
REZULTATI I DISKUSIJA

Na poprečnim preseccima listova netretiranih populacija roda *Conyza* (*C. canadensis*, P₁- Pretorija i *C. bonariensis*, P₃- Nelspruit) evidentirane su jasne razlike u građi listova, tj. kod *C. canadensis* mezofil je diferenciran na palisad i sunderasto tkivo, a kod *C. bonariensis* u okviru mezofila postoji sunderasto tkivo i dva sloja palisadnog tkiva (jedan prema licu, a drugi prema naličju lista, a između njih se nalazi sunderasto tkivo) (Slika 1 i 2). Takođe se vidi da je list *C. bonariensis* deblji upravo za jedan sloj više palisadnog tkiva koji ima u odnosu na *C. canadensis*.



Slika 1. Poprečni presek lista *C. canadensis*, neoštećen list (uvećanje 20 puta) P₁ populacija; El-epidermis lica; En-epidermis naličja; Psn-provodni snopići; Sun-sunderasto tkivo; Pal-palisadno tkivo

Figure 1. Leaf section of *C. canadensis*, intact leaf (magnification 20×) from P₁ population; El-upper epidermis; En-underside epidermis; Psn-veins; Sun-spongy tissue; Pal-palisade tissue



Slika 2. Poprečni presek lista *C. bonariensis*, neoštećen list (uvećanje 20 puta) P₃ populacija; El-epidermis lica; En-epidermis naličja; Psn-provodni snopići; Sun-sunderasto tkivo; Pal-palisadno tkivo

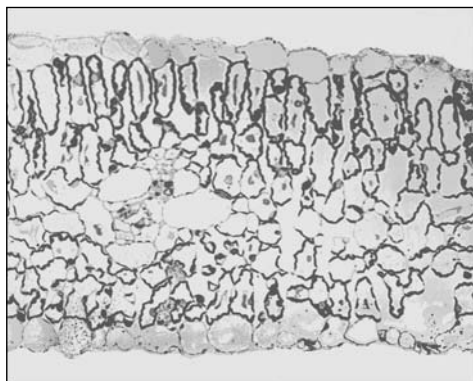
Figure 2. Leaf section of *C. bonariensis*, intact leaf (magnification 20×) from P₃ population; El-upper epidermis; En-underside epidermis; Psn-veins; Sun-spongy tissue; Pal-palisade tissue

Na anatomskim preseccima listova tretiranih biljaka utvrđene su promene nakon primene različitih količina/koncentracija glifosata u prvih 24 sata. U vezi s tim, kod populacija *C. bonariensis* i *C. canadensis* sa lokaliteta Nelspruit (P₂ i P₃) već nakon primene najmanje količine glifosata (1000 g a.m. glifosata) su se javile izvesne promene na listovima (Slika 3 i 4). Kod *C. bonariensis* te promene nisu bile uočljive na svetlosnom mikroskopu, ali su zato bile jasno izražene na TE mikroskopu i pri tome su uočena oštećenja na ćelijskom zidu, lamelama hloroplasta palisadnog tkiva (uočavaju se kao parčiči ili duple linije) i samim hloroplastama (gornji levi ugao). Kod *C. canadensis* ista količina primenjenog glifosata je izazvala promene na ćelijama palisadnog i sunderastog tkiva (kompletnom mezofilu), što je bilo uočljivo već na svetlosnom mikroskopu. Naime, uočen je znatno manji broj hlorofilnih zrna u ćelijama palisada u odnosu na neoštećene listove (Slika 4), dok se oštećenja na ćelijama epidermisa lica i naličja lista nisu javila. Ove promene u anatomskoj građi listova testiranih populacija roda *Conyza* ukazuju na njihovu osetljivost na glifosat. Veće količine primenjenog glifosata su izazvale još izraženije promene u anatomskoj građi listova P₂ i P₃ testiranih populacija (podaci nisu prikazani).

Kod populacije P₁ (*C. canadensis*, lokalitet Pretoria) nisu konstatovane nikakve promene na poprečnim preseccima listova nakon primenjene najniže količine glifosata, 10 ml (1000 g a.s.), (Slika 5a i 5b).



Slika 3. Izgled oštećenog tkiva lista *C. bonariensis* (pop. P₃) 24 sata nakon primene 10 ml glifosata (TEM, uvećanje 7k5); Cz-ćelijski zid; Chl- hloroplast; Lhl-lamele hloroplasta
Figure 3. Injured leaf tissue of *C. bonariensis* (population P₃) 24 h after application of 10 ml glyphosate (TEM, mag. 7k5); Cz-cell wall; Chl- chloroplast; Lhl-chloroplast lamellae



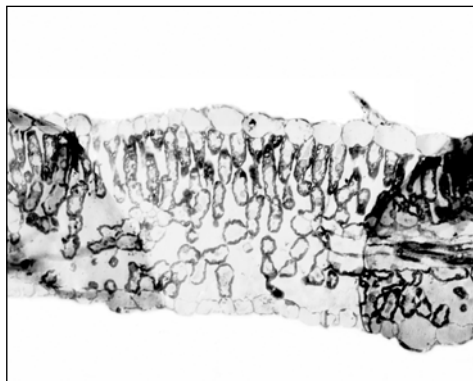
Slika 4. Izgled oštećenog tkiva lista *C. canadensis* (pop. P₂) 24 sata nakon primene 10 ml glifosata (LM, uvećanje 40 puta); Pal-palisadno tkivo; Sun-sunderasto tkivo, El-epidermis lica; En-epidermis naličja

Figure 4. Injured leaf tissue of *C. canadensis* (population P₂) 24 h after application of 10 ml glyphosate (LM, mag. 40×); Pal-palisade tissue; Sun-spongy tissue, El-upper epidermis; En-underside epidermis



Slika 5a. Tkivo lista *C. canadensis* (pop. P₁) 24 sata nakon primene 10 ml (TEM, uvećanje 7k5); Chl-hloroplast palisadnog tkiva; Cz-ćelijski zid

Figure 5a. Leaf tissue of *C. canadensis* (population P₁) 24 h after application of 10 ml (TEM, mag. 7k5); Chl-chloroplast of palisade tissue; Cz-cell wall

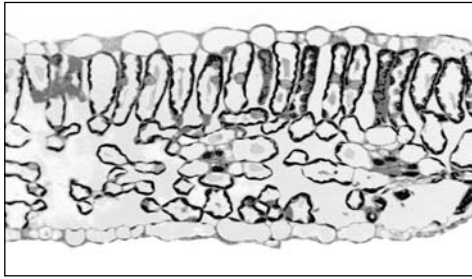


Slika 5b. Tkivo lista *C. canadensis* (pop. P₁) 24 sata nakon primene 10 ml (LM, uvećanje 20 puta); El-epidermis lica; En-epidermis naličja; Sun-sunderasto tkivo; Pal-palisadno tkivo

Figure 5b. Leaf tissue of *C. canadensis* (population P₁) 24 h after application of 10 ml (LM, mag. 20×); El-upper epidermis; En-underside epidermis; Sun-spongy tissue; Pal-palisade tissue

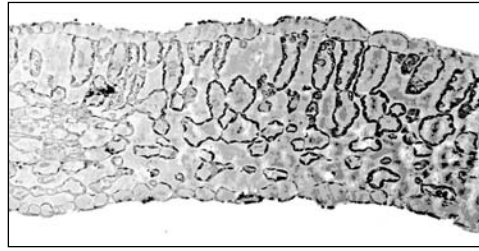
Međutim, kod populacije P₁ (*C. canadensis*) promene na anatomskom nivou su se javile pri primeni većih količina glifosata, tj. 20 ml (2000 g a.m.) i 40 ml (4000 g a.m.), što ukazuje na izvesnu povećanu otpornost/rezistentnost ove populacije na glifosat (Slika 6 i 7). Jasne promene su se javile na mezofilu listova, posebno ćelijama sunderastog tkiva koje su izgubile uobičajen okruglast oblik, ćelijski zidovi su postali izuvijani (deformacija) i broj hlorofilnih zrna u njima je smanjen (Slika 6).

Pri najvećoj primenjenoj koncentraciji glifosata (40 ml, tj. 4000 g a.m.) javila su se još izraženija oštećenja u anatomskoj građi listova. Kao što se može videti na slici 7, došlo je do destrukcije ćelijskih zidova sunderastog i palisadnog tkiva, što je dovelo do fuzije ćelija bez ćelijskog zida. Takođe, broj hlorofilnih zrna je znatno umanjen, ćelije hloroplasta su izgubile sočivast oblik, i generalno pojavili su se veliki intercelulari.



Slika 6. Izgled oštećenog tkiva lista *C. canadensis* (pop. P₁) 24 sata nakon primene 20 ml glifosata (LM, uvećanje 20 puta); El-epidermis lica; En-epidermis naličja; Pal-palisadno tkivo; Sun-sunderasto tkivo; Cz-čelijski zid

Figure 6. Injured leaf tissue of *C. canadensis* (pop. P₁) 24 h after application of 20 ml glyphosate (LM, mag. 20 ×); El-upper epidermis; En-underside epidermis; Pal-palisade tissue; Sun-spongy tissue; Cz-cell wall



Slika 7. Izgled oštećenog tkiva lista *C. canadensis* (pop. P₁) 24 sata nakon primene 40 ml glifosata (LM, uvećanje 20 puta); El-epidermis lica; En-epidermis naličja; Pal-palisadno tkivo; Sun-sunderasto tkivo; Cz-čelijski zid

Figure 7. Injured leaf tissue of *C. canadensis* (pop. P₁) 24 h after application of 40 ml glyphosate (LM, mag. 20 ×); El-upper epidermis; En-underside epidermis; Pal-palisade tissue; Sun-spongy tissue; Cz-cell wall

Stepen oštećenja i ispoljena osetljivost sve tri testirane populacije roda *Conyza* je u skladu sa potvrđenom osetljivošću ovih populacija u eksperimentu sa Testom efektivne doze (Dose respons test). Dobijena vrednost letalne doze ($LD_{50} = 0,442 \text{ g a.m. ha}^{-1}$) za populaciju P₁ (*C. canadensis*, lokalitet Pretoria) ukazuje na osetljivost ove populacije na količine koje su veće od 882 g a.m. glifosata, i istovremeno da je ona rezistentna na glifosat u poređenju sa populacijom iste vrste sa lokaliteta Nelspruit (P₂, $LD_{50} = 0,212 \text{ g a.m. ha}^{-1}$). Međutim, Dinelli i sar. (2006) su pokazali da se nivo letalne doze menja zavisno od uzrasta biljaka. Pratili su razlike između R i S biotipova kada su biljke u fazi dva lista i kada su biljke bile u fazi rozete. Uočili su da razlike u ranijoj fazi razvoja biljaka nisu bile tako jasne i količina glifosata za letalnu dozu se kretala u granicama 110-140 g a.m. ha⁻¹. Ali, kada su biljke bile starije (faza rozete) dobila se jasna razlika, LD_{50} za R bila je 1360-1610 g a.m. ha⁻¹, a za S biotip 340-530 g ha⁻¹, iz čega se preračunao $IR = 4,0-4,7$.

Razlike u sadržaju šikiminske kiseline između tretiranih i netretiranih populacija roda *Conyza*, nakon primene 1000 g a.m. glifosata (2 L ha^{-1} Touch down), su bile statistički značajne (Tabela 1). U periodu od četvrtog do šestog dana nakon primene herbicida sadržaj šikiminske kiseline je imao trend opadanja što je u vezi sa metabolizmom biljaka i njihovom borbom za oporavak (Slika 8). Dakle, posle prvobitnog „šoka” koji je doveo do nagomilavanja šikiminske kiseline u tkivu listova, usled intenzivnog metabolizma dolazi do postepenog oporavka putem razgradnje akumulirane kiseline i time smanjenja njenog štetnog efekta. Dobijeni rezultati su u skladu sa vizuelnom ocenom oštećenja koja je rađena 6 dana nakon primene različitih koncentracija glifosata (rezultati nisu prikazani). Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Muller i sar. (2003), koji su poređeci R i S biotipove *C. canadensis* pokazali da se u osetljivom tipu nivo šikiminske kiseline nalazi u stalnom porastu (2-4 DAT).

Tabela 1. Statistička značajnost razlike: sadržaja šikiminske kiseline, SPAD vrednosti, sadržaja ukupnog hlorofila, hlorofila *a*, hlorofila *b* i odnosa hlorofila *a:b* između kontrole i tretmana kod *C. canadensis* (P₁- Pretoria) i *C. bonariensis* (P₂-Nelspruit), kod primene 1000 g a.m. glifosata

Table 1. Statistical significance of differences in: shikimic acid content, SPAD values, contents of total chlorophyll, chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and chlorophyll *a:b* ratio between control and treatment of *C. canadensis* (P₁- Pretoria) and *C. bonariensis* (P₂- Nelspruit) after application of 1000 g a.i. glyphosate

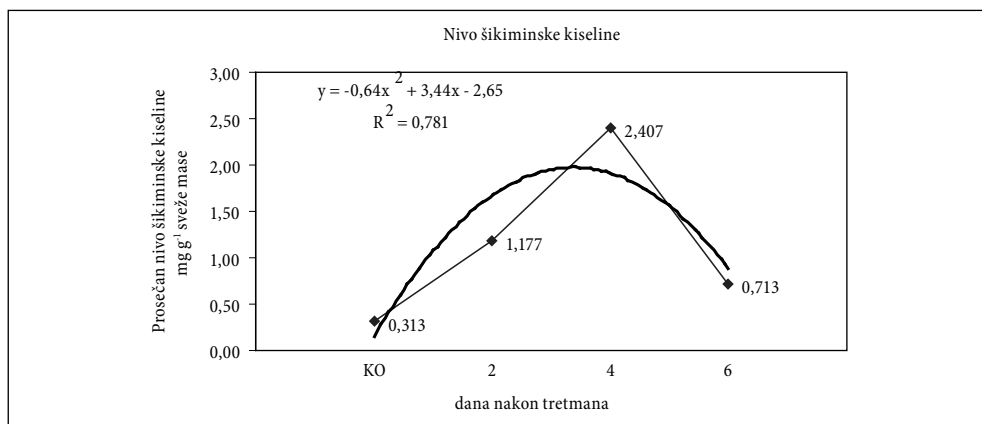
	Šikiminska kiselina	SPAD	Ukupan hlorofil	Hlorofil <i>a</i>	Hlorofil <i>b</i>	Odnos <i>a:b</i>
<i>C. canadensis</i>						
K-2 DAT	**		**	**	**	**
K-4 DAT	**		**	**	**	**
K-6 DAT	*		**	NS	**	NS

	Šikiminska kiselina	SPAD	Ukupan hlorofil	Hlorofil <i>a</i>	Hlorofil <i>b</i>	Odnos <i>a:b</i>
<i>C. bonariensis</i>						
K-2 DAT	-		**	**	NS	NS
K-4 DAT	-		**	**	**	**
K-6 DAT	-		**	**	**	**

K-kontrola, DAT-dani nakon tretmana, $p < 0.05\%$ *, $p < 0.01\%$ **, NS-nema statistički značajnih razlika, LSD test

Kod vrste *C. bonariensis* nivo šikiminske kiseline nije bio u granicama detekcije. S obzirom da su uočene promene na anatomskom nivou kod *C. bonariensis* 24 HAT pri primeni najmanje količine glifosata (1000 g a.m.), što ukazuje na njenu osetljivost na primenjeni herbicid, a što nije potvrđeno za sadržaj šikiminske kiseline na HPLC, smatramo da je neophodno nastaviti ova istraživanja i eventualno modifikovati metodu.

Sadržaj ukupnog hlorofila i hlorofila *b* je opao u poređenju sa netretiranim biljkama, što takođe predstavlja reakciju biljaka na stres glifosatom (Munoz-Rueda i sar., 1986).



Slika 8. Sadržaj šikiminske kiseline kod *C. canadensis* (pop. P1) nakon primene 1000 g a.m. glifosata
Figure 8. Content of shikimic acid in *C. canadensis* (pop. P1) after application of 1000 g a.i. glyphosate

Postoje brojne teorije o mehanizmu nastanka rezistentnosti biljaka roda *Conyza* na glifosat tako da se stepen ispoljene rezistentnosti, korišćena metoda determinisanja rezistentnosti i definisanje zaključaka može uvek diskutovati i razmatrati sa više aspekata.

ZAKLJUČAK

Na osnovu urađenih testiranja osetljivosti/rezistentnosti populacija roda *Conyza* (*C. canadensis* - dve populacije i *C. bonariensis* - jedna populacija) na glifosat (1000, 2000 i 4000 g a.m. glifosata, tj. 2, 4 i 8 L ha⁻¹ Touch down) može se zaključiti: a) sve testirane populacije roda *Conyza* su se pokazale osetljive na glifosat; b) populacija P₁, tj. *C. canadensis* sa lokaliteta Pretoria je ispoljila određen stepen rezistentnosti na glifosat u poređenju sa populacijom iste vrste sa lokaliteta Nelspruit (IR = 1,4); c) merenje sadržaja šikiminske kiseline jeste opravdan parametar za testiranje razvoja rezistentnosti korova na glifosat, s tim što je kod nekih vrsta (npr. *C. bonariensis*) potrebno metodu prilagoditi.

ZAHVALNICA

Rad je rezultat projekta TR20051 – Optimizacija primene hemijskih sredstava u zaštiti bilja povećanjem efikasnosti dijagnostičkih metoda i procene rizika pojave bolesti, štetočina i korova, Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

- Buhler, D.D., Owen, M.D.K.:** Emergence and survival of horseweed (*Conyza canadensis*). Weed Science, 45, 98-101, 1997.
- Bourque, J., Chen, Y.S., Heck, G., Hubmeier, C., Reynolds, T., Tran, M., Ratliff, P.G., Sammans, D.:** Investigation into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): Resistance mechanism studies. Abstr. Weed Sci. Soc. Am., 42, 65, 2002.
- Coetzee, J., Van der Merwe, C.F.:** Preparation of biological material for electron microscopy. Laboratory for Microscopy and Microanalysis, Univesity of Pretoria, 2007.
- Dinelli, G., Marotti, I., Bonetti, A., Minelli, M., Catizone, P., Barnes, J.:** Physiological and molecular insight on the mechanisms of resistance to glyphosate in *Conyza canadensis* (L.) Cronq biotypes. Pesticide Biochemistry and Physiology, 86, 30-41, 2006.
- Feng, P.C., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R.D., Heck, G.R., CaJacob, C.A.:** Investigations into glyphosate resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation and metabolism. Weed Science, 52, 498-505, 2004.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R.:** Determinations of total carotenoides and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Trans., 603, 591-592, 1983.
- Mueller, T.C., Massey, J.H., Hazes, R.M., Main, C.L., Stewart, N.:** Shikimate accumulates in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq). J. Agric.Food Chem., 51, 680-684, 2003.
- Munoz-Rueda, A., Gonzales-Murua, C., Becerril, J.M., Sanchez-Diaz, M.F.:** Effects of glyphosate on photosynthetic pigments, stomatal response and photosynthetic electron transport in *Medicago sativa* and *Trifolium pratense*. Physiol. Plant, 66, 63-68, 1986.
- Owen, M.D.K., Zelaya, I.A.:** Herbicide-resistance crops and weed resistance to herbicides. Pest. Manag. Sci., 61, 301-311, 2005.
- Vrbničanin, S., Karadžić, B., Dajić Stevanović Z.:** Adventivne i invazivne koprskve vrste na području Srbije. Acta herbologica, 13(1), 1-13, 2004.
- Vrbničanin, S., Šinžar B.:** Elementi herbologije sa praktikumom. Zavet, Poljoprivredni fakultet, Beograd, 122-123, 2003.
- Weaver, S.E.:** The biology of Canadian weeds: *Conyza canadensis*. Can. J. Plant. Sci., 81, 867-875, 2001.

Susceptibility of the Species *Conyza canadensis* (L) Cronquist and *Conyza bonariensis* (L) Cronquist to Glyphosate

SUMMARY

Changes in leaf anatomy were examined in suspectedly resistant populations of *C. canadensis* and *C. bonariensis* after application of 2, 4 and 8 L ha⁻¹ of the product Touch down (500 g a.i. glyphosate L⁻¹). Samples for the analysis (LM, TEM) were collected 3, 7 and 24 h after herbicide application. Changes in chlorophyll and shikimic acid contents were also examined in the populations tested. Changes in the anatomy of leaves were not detected in the investigated populations 3 and 7 h after herbicide application. However, 24 h after application of different herbicide rates, differences were observed in leaf anatomy. Injuries were detected in *C. bonariensis* population after application of 2 L ha⁻¹, and in *C. canadensis* population after treatment with the highest glyphosate rate (8 L ha⁻¹). Changes were detected on cell walls, chloroplast lamellae and chloroplasts themselves. Based on chlorophyll and shikimic acid contents, significant statistical differences were detected between the treated and control plants.

Keywords: Leaf anatomy; *Conyza canadensis* (L) Cronquist.; *Conyza bonariensis* (L) Cronquist.; Glyphosate; Shikimic acid; Resistance

Primljen 20.06.2008.

Odobren 10.07.2008.