



## Promene u sadržaju polifenola u soji (*Glycine max* L.) i tatuli (*Datura stramonium* L.) nakon tretmana herbicidima i preparatom Delfan Plus

Đorđe Malenčić<sup>1\*</sup>, Biljana Kiprovska<sup>2</sup>, Miloš Rajković<sup>2</sup>, Jegor Miladinović<sup>2</sup>, Stojan Kljakić<sup>1</sup>, Jovana Šućur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija

<sup>2</sup>Institut za Ratarstvo i Povrtarstvo, Novi Sad, Srbija

\*Autor za kontakt: [malencic@polj.uns.ac.rs](mailto:malencic@polj.uns.ac.rs)

### SAŽETAK

Korovi predstavljaju veliki problem u proizvodnji soje i limitirajući su faktor za visoke i stabilne prinose. Poslednjih godina se smanjuje broj registrovanih herbicida u soji zbog ekotoksikoloških i ekonomskih razloga, pošto se smanjuju površine pod sojom koja nije genetski modifikovana. Najčešća kombinacija herbicida za suzbijanje korova u soji posle nicanja useva i korova je Pulsar 40 i Harmony 75WG. Međutim, ukoliko se herbicidi primenjuju pri višim temperaturama mogu da dovedu do stresa kod soje, prolazne fitotoksičnosti i smanjenja prinosa. Delfan Plus je biostimulator sa visokim sadržajem aminokiselina koji može da se koristi u kombinaciji sa herbicidima. Nakon primene Delfana Plus tretirane biljke lakše sintetišu neophodne proteine koji će omogućiti brže prevazilaženje stresa. Preporučuje se preventivna i kurativna primena pri različitim stresnim uslovima kao što su: visoke i niske temperature, oštećenje od leda, primena herbicida itd. Cilj rada je da se ispita da li dolazi do promene sadržaja fenolnih jedinjenja (ukupnih fenola, tanina, flavonoida i proantocijanidina), i fitotoksičnosti kod soje, i u korovu u usevu soje – tatuli, između tretiranih biljaka sa herbicidima u kombinaciji sa i bez Delfan Plus, tj. da li Delfan Plus smanjuje stres kod biljaka soje koje su tretirane herbicidima pri visokoj temperaturi. Određen je stepen fitotoksičnosti i prinos soje.

**KLJUČNE REČI:** *Datura stramonium* L., Delfan plus, *Glycine max* L., polifenoli

### Uvod

Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) je značajna ratarska kultura koja zauzima 3,2% obradivih površina u Srbiji. Prosečan prinos je 1,9 t/ha što čini 207 hiljada tona ukupnog roda godišnje. Jedan je od glavnih izvora biljnih ulja, dok je sojina sačma nezamenljiv izvor proteina za ishranu stoke. Poznat je azotofiksator tako da gajenje soje smanjuje upotrebu azotnih đubriva što je od značaja za naredni usev i količinu đubriva (Hrustić i sar., 1998).

Tatula (*Datura stramonium* L.) je jednogodišnja zeljasta biljka. Raste kao korov na zapuštenim zemljištima, ruševinama, uz puteve, na poljima, u blizini naselja (Konstantinović i sar., 2005).

Delfan Plus je posebno formulisano đubrivo – biostimulator, čija je osnovna karakteristika izrazito visoka količina aminokiselina. Kompatibilan je sa većinom sredstava za zaštitu bilja. Može se primenjivati folijarno pomoću prskalica i u svim razvojnim fazama gajene biljke. Posebno se preporučuje za preventivno i kurativno delovanje pri različitim stresnim uslovima kao što su abiotički - klimatski faktori (suša, grad, ožegotine, mraz, nagla kolebanja temperature, zagađenje), stres povezan sa razvojnim ciklusom (presađivanje, nicanje, klijanje), zatim oštećenje biljaka, fitotoksičnost primenom pesticida, fitopatogene gljive, nematode i insekti.

Aminokiseline, osnovni gradivni elementi proteina, u biljci se nalaze u slobodnom stanju ili vezane za pojedina organska jedinjenja i igraju važnu ulogu u metabolizmu i sintezi proteina. U ovom procesu učestvuje 20 aminokiselina koje su nazvane proteinskim aminokiselinama (Popović, 2001). Da bi biljke iz osnovnih elemenata prisutnih u zemljištu sintetisale aminokiseline potrebno je da utroše veliku količinu energije. Aminokiseline koje se nalaze u preparatu direktno ulaze u metabolizam tj. izgradnju polipeptidnih lanaca i proteina, na taj način biljka ne troši energiju za sintezu novih aminokiselina. Usvojene aminokiseline mogu igrati značajnu antioksidantnu ulogu, što daje doprinos u savladavanju stresa. Odogovorne su za aktivaciju biohemijskih i enzimskih procesa u biljci, što dovodi do pojačane hormonske reakcije i respiracije. Kao prekursor u biosintezi hlorofila dovode do povećanja njegovog sadržaja, kao i uvećanog stepena fotosinteze što omogućava bujan rast useva. Zapravo, nakon tretmana dolazi do smanjenja dužine trajanja stresa kod tretiranih biljaka i biljka lakše sintetiše neophodne proteine koji će omogućiti brže prevazilaženje stresa. Na taj način, L- $\alpha$ -aminokiseline

moгу doprineti otklanjanju štetnih posledica na fiziološko stanje biljnog organizma, ali i boljem delovanju herbicida.

Po navodima proizvođača, Delfan Plus u svom sastavu, pored visokog sadržaja slobodnih L- $\alpha$ -aminokiselina, fiziološki aktivnih i funkcionalnih, ima i optimalno izbalansiran aminogram (sadržaj i odnos pojedinih aminokiselina kao sto su: prolin, glutaminska kiselina, glicin, alanin i arginin itd.), što je osnovni kriterijum kvaliteta ove grupe proizvoda. Dodavanjem gotovih aminokiselina biljka energiju potrebnu za sintezu preusmerava na prevazilaženje stresa. Pored navedenog aminokiseline obezbeđuju i lakši promet makroelemenata iz đubriva (Onć-Jovanović i sar., 2012).

Primena herbicida za suzbijanje korova može da dovede gajenu biljku u stanje stresa koji se manifestuje kroz smanjenje porasta, prevremeno starenje, smanjenje produktivnosti, tj. prinosa. U fiziološkom smislu, dolazi do smanjenja apsorpcije vode, promene stepena transpiracije, redukcije fotosinteze, promene u disanju, smanjenje asimilacije azota, povećanog toksičnog delovanja amonijum jona ( $\text{NH}_4^+$ ). Na molekularnom nivou dolazi do smanjenja sinteze proteina, redukcije enzimske aktivnosti, razgradnje membranskog sistema, promene u genima. Da bi se zaštitile od oksidativnih oštećenja izazvanih reaktivnim kiseoničnim vrstama, biljke su tokom evolucije razvile antioksidantni sistem zaštite. Prema Larson-u (1988), ovaj sistem obuhvata enzime, proteine i peptide, fenole i druga jedinjenja. Od enzima koji učestvuju u antioksidantnoj zaštiti do danas su u biljkama najviše proučeni superoksid-dismutaza (SOD; EC 1.15.1.1), katalaza (Cat; EC 1.11.1.6) peroksidaza (Px; EC 1.11.1.7), askorbat-peroksidaza (Apx; EC 1.11.1.11), glutation-reduktaza (GR; EC 1.6.4.2) itd. Biljne vrste sadrže i neenzimska antioksidantna jedinjenja pomoću kojih se štite od štetnog delovanja kiseoničnih radikala (Popović i Malenčić, 2006). To su, iz grupe proteina: metalotioneini, tripeptid glutation (GSH), zatim iz grupe fenola: tokoferoli, flavonoidi, fenolne kiseline i fenilpropanoidi; pigmenti - hlorofili i karotenoidi, kao i L-askorbinska kiselina, alkaloidi, terpeni i njihovi glikozidi i neki drugi sekundarni biomolekuli. Navedena jedinjenja sačinjavaju sistem koji održava reaktivne kiseonične vrste u niskoj koncentraciji u ćelijama i tkivima i time sprečavaju nastanak oksidativnog stresa. Novija istraživanja su pokazala da se antioksidantna svojstva biljaka nalaze u pozitivnoj korelaciji sa odbranom od oksidativnog stresa i različitim oboljenjima čoveka kao što su kancer, ateroskleroza i proces starenja (Štajner i sar., 1998).

S obzirom na pretpostavku da usled primene preparata Delfan Plus dolazi do smanjenja fitotoksičnosti herbicida (kao izazivača abiotičkog stresa), cilj rada bilo je ispitivanje dejstva Delfan Plus preparata u stresnim uslovima, odnosno praćena je reakcija biljaka soje i korovske biljke tatule na primenu preporučene i duple doze herbicida, u odsustvu i prisustvu Delfana Plus. Određen je stepen fitotoksičnosti i prinos soje. Od biohemijskih parametara određen je sadržaj ukupnih fenola, tanina, proantocijanidina, flavonoida, zatim antioksidantni kapacitet biljaka kroz antioksidantne testove, kako bi se ispitao uticaj primenjenih tretmana na antioksidantni sistem biljaka soje i tatule, odnosno, odgovor biljke na abiotički stres.

## Material i metod rada

### Postavljanje ogleda

Ogled je postavljen na Institutu za Ratarstvo i povrtarstvo, na Rimskim Šančevima. Osnovne parcele obuhvataju 6 redova soje širine 3 m i dužine 7 m (21 m<sup>2</sup>). Tretmani su rađeni u 4 ponavljanja. Sorta soje Sava je tretirana u fazi prvog trolista (Tab. 1). Tretman je izvršen u podne, pri temperaturi od 22 °C i vlažnosti vazduha od 53%. Za tretiranje je korišćena leđna prskalica (sa komprimovanim ugljen-dioksidom koji obezbeđuje konstantan pritisak od 2 bara), uz dodatak za njivsko prskanje radnog zahvata 3 m i diznama tipa TeeJet XR 11002. Preparati su primenjeni uz utrošak vode od 280 l/ha. Prvog i sedmog dana nakon tretmana ocenjivana je vizuelna fitotoksičnost biljaka soje i korova tatule, a uzeti su i uzorci iz kojih su odrađene biohemijske analize. Na kraju vegetacione sezone izmeren je prinos i preračunat na 13% vlage.

### Korišćeni herbicidi

Pulsar 40 je koncentrovani rastvor - SL sa 40 g/l imazamoksa, sistemični herbicid koji se koristi za suzbijanje izniklih širokolisnih i travnih korova, kao i preko zemljišta u fazi klijanja. Harmony 75 WG je herbicid u obliku vododisperzibilnih granula koji u sebi sadrži tifensulfuron-metil 750 g/kg +/- 25 g/kg. Selektivni translokacioni herbicid za suzbijanje širokolisnih korova u soji i lucerki.

**Tabela 1.**

Tretmani primenjeni u ogledu

**Table 1.**

Treatments applied in the experiment

<b>Tretman</b>	<b>Količina</b>
Kontrola	-
Pulsar 40 + Harmony 75WG	1 l/ha + 8 g/ha
Pulsar 40 + Harmony 75WG + Delfan plus	1 l/ha + 8 g/ha + 1 l/ha
Pulsar 40 + Harmony 75WG	2 l/ha + 16 g/ha
Pulsar 40 + Harmony 75WG + Delfan plus	2 l/ha + 16 g/ha + 2 l/ha

**Fitotoksičnost i prinos**

Ocena fitotoksičnosti je izvršena vizuelnom metodom i na osnovu simptoma se procentualno ocenjivalo skalom 0-100%. Ocenjivanje nije rađeno na tatuli jer kombinacija herbicida (Tab. 1) izaziva 100% uginuće biljaka. Na kraju vegetacione sezone soja je kombajnirana, a prinos oglednih parcelica je preračunat po hektaru na 13% vlage.

**Biohemijske analize**

Uzorci listova ispitivanih biljaka, osušeni su na sobnoj temperaturi i samleveni u mlinu za kafu. Ekstrakti suvog biljnog materijala dobijeni su prelivanjem 0,2 g samlevenog biljnog materijala određenim organskim rastvaračem (1/50, w/v) u zavisnosti od primenjene metode. Za određivanje ukupnih fenola, tanina i antioksidantnog kapaciteta (DPPH- i NBT-test) korišćen je 70% aceton. Za određivanje ukupnih flavonoida korišćen je 70% metanol.

Količina ukupnih fenola određena je po metodi Folin-Ciocalteu (Makkar, 2003) koja je bazirana na činjenici da su fenolna jedinjenja redukujuća sredstva. Rezultati su izraženi u  $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline po g suve mase biljnog materijala ( $\mu\text{g}$  galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm). Za određivanje količine tanina u uzorcima primenjena je metoda za određivanje ukupnih fenola (Makkar, 2003), s tim što je kao uzorak korišćen supernatant dobijen centrifugiranjem ( $1960 \times \text{g}$  10 min) reakcione smeše koju je činilo 0.1 g polivinilpolipirolidona (PVPP), 1 ml  $\text{H}_2\text{O}$  i 1 ml acetonskog ekstrakta suvog biljnog materijala. PVPP vezuje tanine, čime dolazi do njihovog taloženja, pa se zapravo određuje sadržaj prostih netaninskih fenola u supernatantu, a sadržaj tanina u uzorku dobija se iz razlike sadržaja ukupnih fenola i sadržaja netaninskih fenola. Rezultati su izraženi u  $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline po g suve mase biljnog materijala ( $\mu\text{g}$  galne kiseline  $\text{g}^{-1}$  sm). Flavonoidi sa metalnim jonima grade odgovarajuće metalo-komplekse. Naročito je značajan Al-kompleks, jer se vezuje za ukupne flavonoide, pa se sumarni apsorpcioni maksimum lako određuje po metodi Pečal i Pyszynska (2014). Količina ukupnih flavonoida izražena je u mg rutina po g suve mase biljnog materijala (mg rutina  $\text{g}^{-1}$  sm). Određivanje sadržaja proantocijanidina zasniva se na oksidativnoj depolimerizaciji kondenzovanih tanina sa butanol-HCl reagensom (Hagerman, 1995). Količina proantocijanidina izražena je u mg leukoantocijanidina po g suve mase biljnog materijala (mg leukoantocijanidina  $\text{g}^{-1}$  sm).

Antioksidantni kapacitet ispitivanih uzoraka određen je DPPH-testom po metodi Panda (2012) koja se zasniva na razlici u aktivnosti uklanjanja 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil-radikala (DPPH-radikal) između slepe i radne probe. Aktivnost uklanjanja DPPH-radikala izražava se u procentima (%) neutralisanih radikala. Na osnovu dobijene razlike, izražene u procentima u odnosu na kontrolu, može se oceniti ukupna neenzimska antioksidativna sposobnost biljnog ekstrakta. Sposobnost ekstrakta da neutrališe superoksid-anjon ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) radikal određena je po metodi Panda (2012) koja se zasniva na principu sposobnosti inhibicije fotohemijske redukcije nitroblutetrazolijum hlorida (NBT). Sposobnost ekstrakta da neutrališe superoksid-anjon ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) radikal izražena je kao procenat neutralisanih radikala.

**Statistička obrada podataka**

Eksperimenti su izvedeni u tri ponavljanja, a rezultati predstavljeni kao srednja vrednost. Određena je standardna greška (SE). Podaci su obradeni primenom softverskog paketa Microsoft Excel for Windows version 2007 i Statistica for Windows version 12 (StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA).

## Rezultati i diskusija

### Fitotoksičnost i prinosi

Fitotoksičnost je neželjena pojava koju izazivaju pesticidi na tretiranim gajenim biljkama. Ovo se dešava usled nepravilne primene i povećane koncentracije preparata. Kod kontrolnih biljaka soje nisu uočeni znakovi fitotoksičnosti, tj. nema morfoloških promena. Na biljkama soje koje su tretirane herbicidima primećena je promena boje listova, odnosno žute pege i hloroza, kao i zastoj u porastu. Kod biljaka kod kojih je korišćena preporučena doza herbicida, u kombinaciji sa i bez Delfana Plus, fitotoksičnost se kretala od 11-13%. Kod biljaka koje su tretirane duplom dozom herbicida sa i bez kombinacije Delfana Plus fitotoksičnost je 44-49% (Tab. 2).

#### Tabela 2.

Fitotoksičnost primenjenih herbicida i prinosi soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

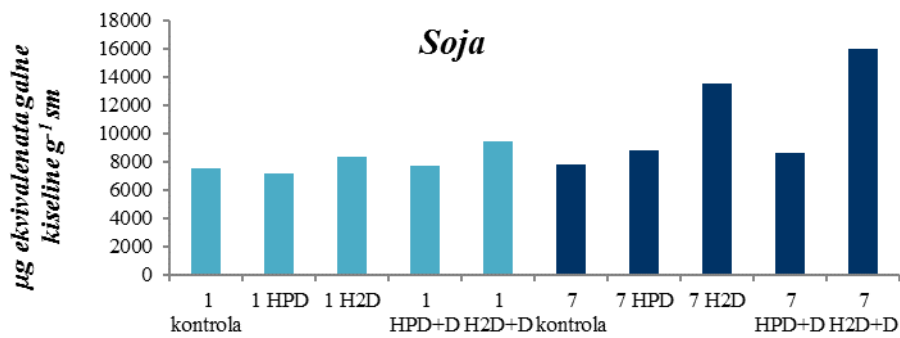
#### Table 2.

Phytotoxicity of applied herbicides and yield of treated soybean (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

Naziv preparada i količina primene	Prvi dan posle tretmana (%)	Sedmi dan posle tretmana (%)	Prinos t/ha
Kontrola	0,0 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,0 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
Pulsar 40 + Harmony 75WG (1 l/ha + 8 g/ha)	11,0 ± 0,96 <sup>b</sup>	13,0 ± 1,71 <sup>b</sup>	3,19 ± 0,53 <sup>a</sup>
Pulsar 40 + Harmony 75WG + Delfan plus (1 l/ha + 8 g/ha + 1 l/ha)	11,0 ± 1,00 <sup>b</sup>	12,0 ± 1,41 <sup>b</sup>	3,28 ± 0,47 <sup>a</sup>
Pulsar 40 + Harmony 75WG (2 l/ha + 16 g/ha)	44,0 ± 3,50 <sup>a</sup>	49,0 ± 4,32 <sup>a</sup>	3,12 ± 0,44 <sup>a</sup>
Pulsar 40 + Harmony 75WG + Delfan plus (2 l/ha + 16 g/ha + 2 l/ha)	44,0 ± 4,35 <sup>a</sup>	44,3 ± 5,68 <sup>a</sup>	3,20 ± 0,48 <sup>a</sup>

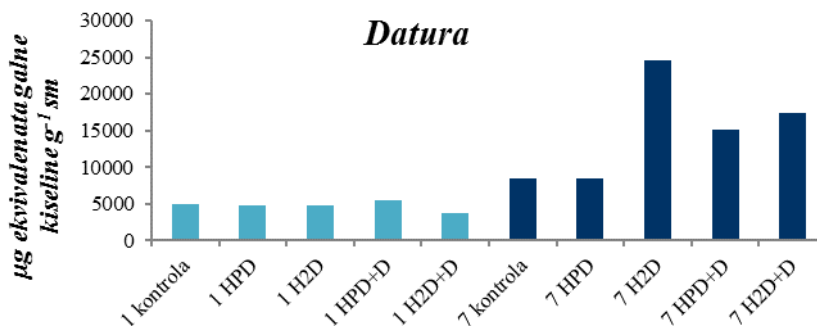
### Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja u listovima soje i tatule

Prvog dana tretmana, dolazi do povećane akumulacije fenola (10-20%) u listovima soje koji su tretirani duplom dozom herbicida, kako u odsustvu tako i u prisustvu Delfana Plus, u odnosu na netretirane biljke (kontrolu). Sedam dana nakon tretmana, u listovima biljaka soje koji su tretirani duplim koncentracijama herbicida, kao i u listovima biljaka soje koji su tretirani duplim koncentracijama herbicida uz dodatak duple doze Delfana Plus, sadržaj ukupnih fenola su uvećao 2-3 puta (Graf. 1). Kod korova tatule prvog dana nakon primene tretmana ne dolazi do značajnijih promena u sadržaju ukupnih fenola (Graf. 2). Sedam dana nakon tretmana, količina fenola značajno raste u odnosu na sadržaj fenola nakon prvog dana. Količina fenola u biljkama tretiranim sa duplom dozom herbicida (7H2D), preporučenom dozom herbicida uz dodatak Delfana Plus (7HPD+D) i herbicida dupla doza uz dodatak duple doze Delfana Plus (7H2D+2D), povećana je za 100-300% u odnosu na kontrolu.



**Grafikon 1.** Sadržaj ukupnih fenola ( $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline/g suvog biljnog materijala) u listovima soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D-preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

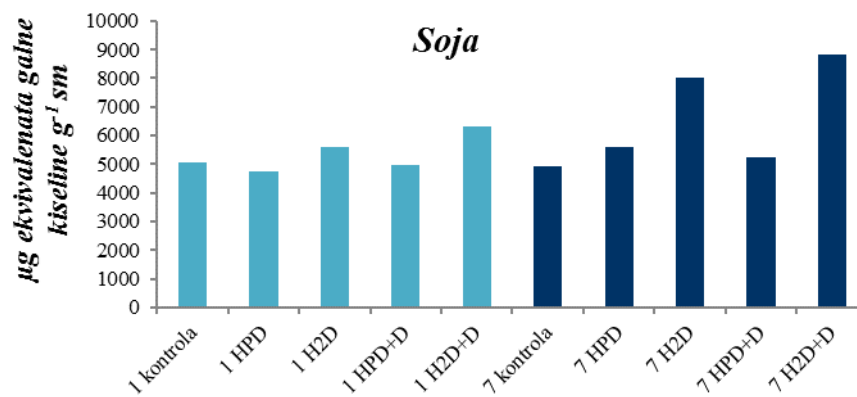
**Figure 1.** Total polyphenols content ( $\mu\text{g}$  gallic acid equivalents/g dry weight) in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)



**Grafikon 2.** Sadržaj ukupnih fenola ( $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline/g suvog biljnog materijala) u listovima tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D-preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

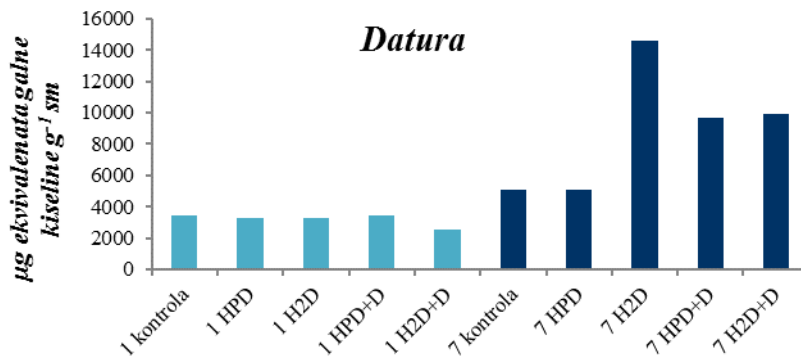
**Figure 2.** Total polyphenols content ( $\mu\text{g}$  gallic acid equivalents/g dry weight) in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

U listovima soje, sadržaj tanina bio je povećan za 10-25% u tretmanima duplom dozom herbicida kako u odsustvu tako i u prisustvu Delfana Plus prvog dana nakon tretmana. Uzorci uzeti sedam dana nakon tretiranja pokazuju da dolazi do značajne akumulacije tanina u uzorcima tretiranim duplom dozom herbicida kako u odsustvu tako i u prisustvu Delfana Plus za 60-70% u odnosu na vrednosti kontrolne grupe biljaka (Graf. 3). U listovima tatule, prvog dana tretmana ne dolazi do značajnije promene u količini tanina (Graf. 4). Sedam dana nakon tretmana dolazi do značajne akumulacije tanina u odnosu na uzorke uzete prvog dana tretmana. Količina tanina najviša je u tretmanu duple doze herbicida i ona je u odnosu na kontrolu uzetu isti dan veća za 300%, takodje, povećana akumulacija tanina se javlja i u uzorcima tretiranim preporučenom dozom herbicida uz dodatak Delfana Plus i duple doze herbicida sa dodatkom duple doze Delfana Plus (90-100%).



**Grafikon 3.** Sadržaj ukupnih tanina ( $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline/g suvog biljnog materijala) u listovima soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D-preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

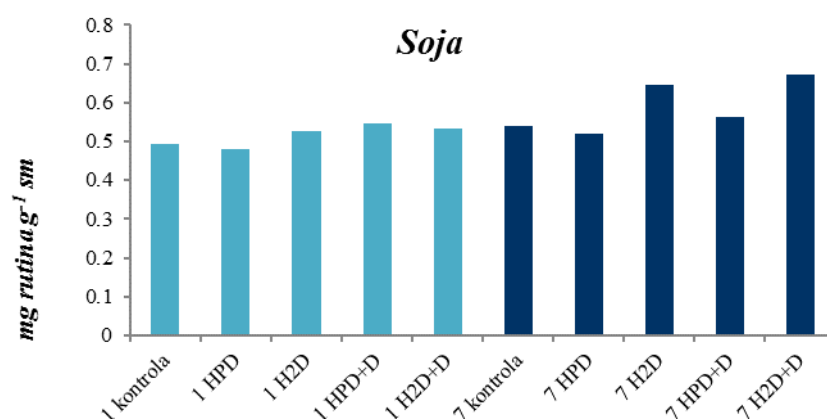
**Figure 3.** Total tannins content ( $\mu\text{g}$  gallic acid equivalents/g dry weight) in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)



**Grafikon 4.** Sadržaj ukupnih tanina ( $\mu\text{g}$  ekvivalenata galne kiseline/g suvog biljnog materijala) u listovima tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D-preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

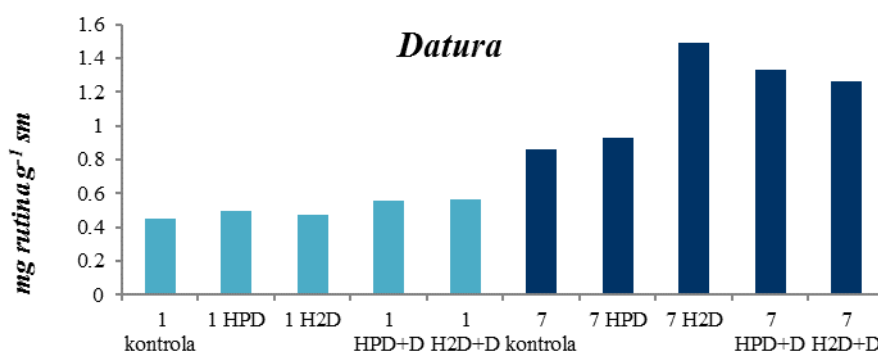
**Figure 4.** Total tannins content ( $\mu\text{g}$  gallic acid equivalents/g dry weight) in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

Prvog dana nakon primene tretmana ne dolazi do značajnije promene u količini flavonoida (Graf. 5). Sedam dana nakon tretmana, uočava se neznatno veća akumulacija flavonoida u uzorcima tretiranim duplom dozom herbicida bez i sa dodavanja Delfana Plus. Prvog dana nakon primene tretmana, u listovima tatule ne dolazi do značajnih promena u količini flavonoida (Graf. 6). U uzorcima uzetim sedmog dana nakon tretiranja uočava se da je došlo do povećane akumulacije flavonoida u svim biljkama. Kod biljaka tretiranih duplom dozom herbicida (7 H2P), preporučenom dozom uz dodatak Delfana Plus (7 HPD+D) i duplom dozom herbicida i Delfana Plus (7 H2D+2D) dolazi do povećanja sadržaja flavonoida 50-90% u odnosu na prvi dan.



**Grafikon 5.** Sadržaj ukupnih flavonoida (mg ekvivalenata rutina/g suvog biljnog materijala) u listovima soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 5.** Total flavonoids content (mg rutin equivalents/g dry weight) in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

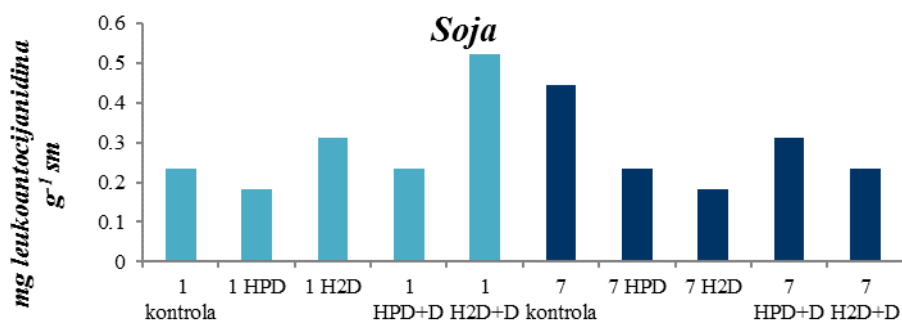


**Grafikon 6.** Sadržaj ukupnih flavonoida (mg ekvivalenata rutina/g suvog biljnog materijala) u listovima tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 6.** Total flavonoids content (mg rutin equivalents/g dry weight) in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

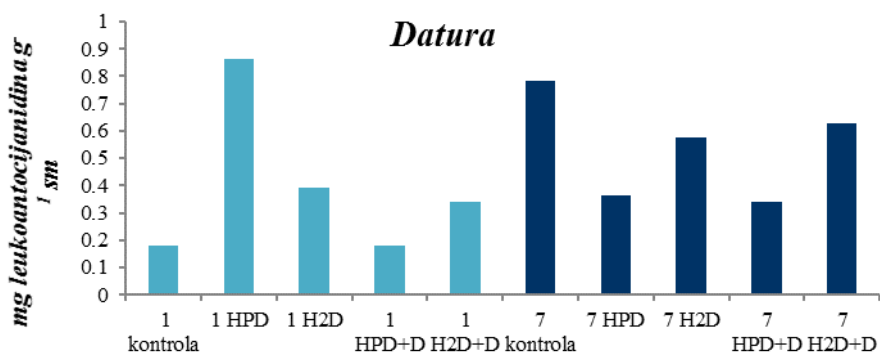
U listovima soje prvog dana nakon tretmana, količina proantocijanidina blago opada u uzorku tretiranim preporučenom dozom herbicida (1 HPD), dok u uzorcima tretiranim duplom dozom herbicida (1 H2D) i duplom dozom herbicida uz dodatak Delfana Plus u duploj dozi (1 H2D+2D) dolazi do značajne akumulacije ovih jedinjenja (Graf. 7). Sedam dana nakon tretmana, najveća količina proantocijanidina zabeležena je u kontroli (7 kontrola), dok je najmanja količina u uzorku tretiranim duplom dozom herbicida (7 H2D). U listovima tatule, prvog dana nakon tretmana zabeležen je značajno veći sadržaj proantocijanidina (400%) u uzorku tretiranim preporučenom dozom herbicida (1 HPD). Povećan sadržaj proantocijanidina zabeležen je i u uzorcima tretiranim duplom dozom herbicida (1 H2D) i tretiranim duplom dozom herbicida sa dodatkom duple doze Delfana Plus (1

H2D+2D). U uzorcima uzetim sedmog dana nakon tretmana, količina proantocijanidina je najveća u kontroli (7 kontrola), dok je kod uzoraka tretiranih duplom dozom herbicida (7 D2H) i duplom dozom herbicida i Delfana Plus (7 H2D+2D) neznatno niža, a kod preporučene doze herbicida i preporučene doze herbicida i Delfana Plus znatno niža (50%) (Graf. 8).



**Grafikon 7.** Sadržaj ukupnih proantocijanidina (mg ekvivalenata leukoantocijanidina/g suvog biljnog materijala) u listovima soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 7.** Total proanthocyanidins content (mg leucoanthocyanidin equivalents/g dry weight) in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)



**Grafikon 8.** Sadržaj ukupnih proantocijanidina (mg ekvivalenata leukoantocijanidina/g suvog biljnog materijala) u listovima tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

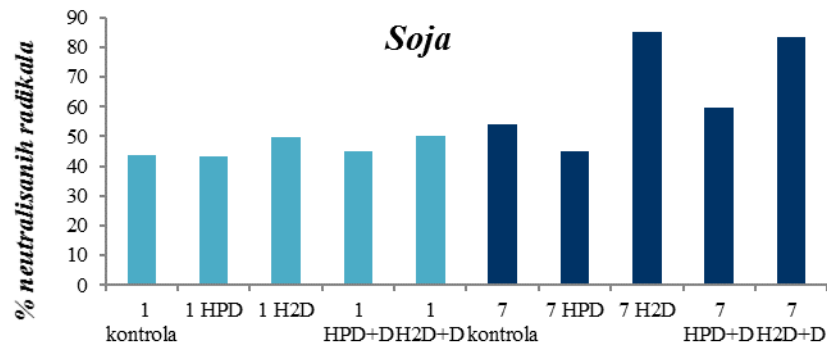
**Figure 8.** Total proanthocyanidins content (mg leucoanthocyanidin equivalents/g dry weight) in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

### Antioksidantna aktivnost

Rezultati DPPH-testa (ukupna neenzimska antioksidantna aktivnost) ukazuju da je antioksidantni kapacitet značajno povećan 7 dana nakon tretmana kod obe biljne vrste (Graf. 9 i 10). U listovima soje, antioksidantni kapacitet bio je ujednačen prvog dana nakon tretmana (u proseku 45% neutralisanih radikala), a najveći procenat neutralisanih DPPH-radikala zabeležen je 7 dana nakon tretmana sa duplim dozama herbicida, kako u odsustvu (85,3%), tako i prisustvu Delfan Plus preparata (83,5%). Nasuprot tome, u listovima tatule prvog dana nakon tretmana, procenat

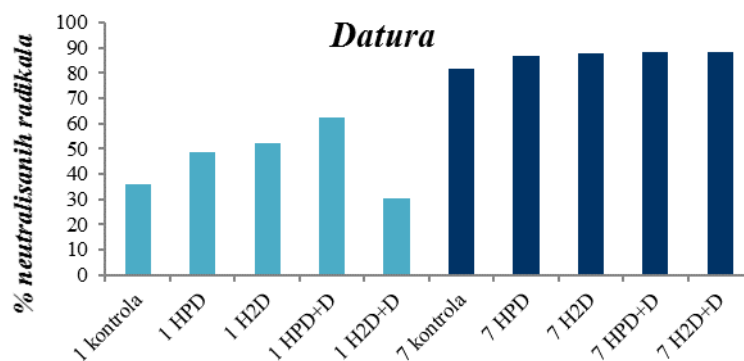


neutralisanih DPPH-radikala bio je najveći kod preporučenih doza herbicida sa Delfan Plus preparatom (62,1%), da bi se nakon 7 dana antioksidantni kapacitet ujednačeno povećao kod svih tretiranih biljaka (81,8-88,2%).



**Grafikon 9.** Procenat uklonjenih DPPH radikala u listovima soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 9.** Percentage of DPPH radicals neutralization in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

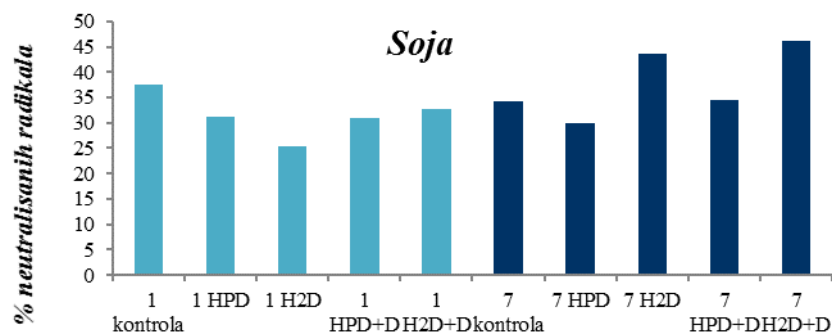


**Grafikon 10.** Procenat uklonjenih DPPH radikala u listovima tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 10.** Percentage of DPPH radicals neutralization in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

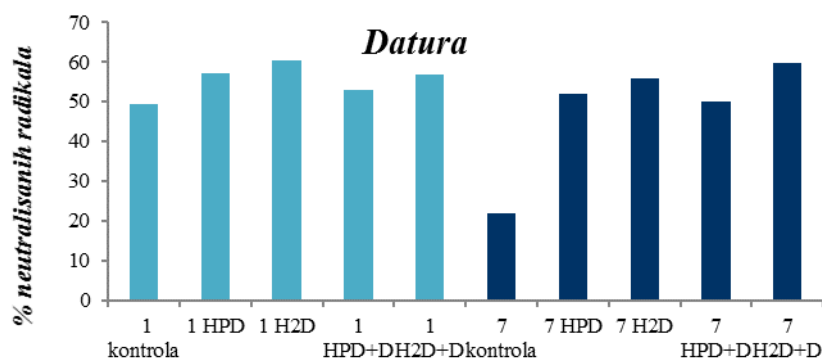
NBT-test ili sposobnost ekstrakta da neutrališe superoksid-anjon radikal, ukazuje da su prvog dana tretmana tretirani listovi soje imali značajno manji procenat neutralisanih radikala u odnosu na kontrolu (Graf. 11). Ista situacija zabeležena je i 7 dana nakon tretmana, osim kod tretmana sa duplim dozama herbicida, kako u odsustvu (43,5%), tako i prisustvu Delfan Plus preparata (46,1%), gde je procenat neutralisanih superoksid-anjon radikala bio i do dva puta veći u odnosu na prvi dan. Kod biljaka tatule (Graf. 12), procenat neutralisanih radikala bio je značajno veći u prvom danu, kako za ekstrakte listova kontrole, tako i za ekstrakte listova iz tretmana, i kretao se od 49,0% do 60,0%. Sedam dana nakon tretmana, sposobnost ekstrakata da neutrališu superoksid-anjon smanjena je kod svih tretmana, osim kod tretmana duplim dozama herbicida sa Delfan Plus preparatom (59,6%).

Pretpostavlja se da je Delfan Plus kratkoročno doprineo snižavanju produkcije superoksid-anjon radikala u listovima soje (1. dan), međutim dužim izlaganjem biljke dejstvu herbicida, a naročito pri primenjenim duplim dozama, ovaj efekat se izgubio i zabeležena je povećana produkcija toksičnog radikala (7. dan).



**Grafikon 11.** NBT-test ekstrakata listova soje (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 11.** NBT- test in *Glycine max* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)



**Grafikon 12.** NBT-test ekstrakata listova tatule (kontrola, HPD-preporučena doza herbicida, H2D-dupla doza herbicida, HPD+D- preporučena doza herbicida + Delfan, H2D+2D-dupla doza herbicida+dupla doza Delfan Plus prvog (1) i sedmog (7) dana nakon tretmana)

**Figure 12.** NBT- test in *Datura stramonium* leaves (control, HPD-proposed dose of herbicides, H2D-double dose of proposed herbicides, HPD+D-proposed dose + Delfan, H2D+D-double dose of proposed herbicides + Delfan, one (1) and seven (7) days after the treatment)

### Prinos soje

Kontrolne biljke soje nisu uspele da se razviju zbog prisustva korova. Prinos iz ostalih oglednih parcela koje su tretirane sa preporučenom dozom herbicida sa i bez dodatka Delfana Plus, kao i dupla doza herbicida sa i bez dodatka duple doze Delfana Plus nisu dale statistički značajne razlike u prinosu. Prinos se kretao od 3,12- 3,28 t/ha pri vlažnosti od 13%.

Na osnovu prikazanih rezultata primećuje se da u listovima soje nije došlo do veće razlike u sadržaju ukupnih fenola i tanina osim u tretmanima kod kog su biljke tretirane duplim dozama

herbicida kako u kombinaciji sa Delfanom plus, tako i bez njega. U listovima tatule zabeležen je veći sadržaj fenola 7 dana nakon primene različitih doza herbicida kako u prisustvu, tako i u odsustvu Delfana plus. Sadržaj tanina je bio znatno veći u svim tretmanima u odnosu na kontrolu što ukazuje na visok nivo oksidativnog stresa u biljci koji verovatno dovodi do njenog uginuća. U listovima soje nije zabeležena veća razlika u sadržaju flavonoida između tretmana herbicidom u kombinaciji sa Delfanom Plus i bez njega, dok je kod tatule zabeležen veći sadržaj flavonoida sedam dana nakon tretmana što jasno ukazuje biljka trpi stres izazvan herbicidom. Količina proantocijanidina prvog dana nakon primene herbicida se značajno povećava u tretmanima sa duplom dozom herbicida u kombinaciji sa i bez Delfana Plus. Antioksidantni kapacitet se značajno povećava 7 dana nakon tretmana kod obe biljne vrste, što je posledica aktiviranja antioksidantnih sistema biljke u savladavanju stresa. Dobijeni rezultati ukazuju da je najveći prinos ostvaren primenom kombinacije herbicida i Delfana Plus (3,28 t/ha) ali je on tek neznatno veći od ostalih tretmana.

## Zaključci

Dobijeni rezultati ispitivanja uticaja Delfana Plus na sadržaj polifenola kod soje (*Glycine max* (L.) Merr.) i tatule (*Datura stramonium* L.) u stresnim situacijama nastalim dejstvom herbicida pokazuju da nije došlo da većih razlika u biohemijским parametrima u tretmanima herbicidom sa dodatkom Delfana Plus i bez njega. Nasuprot tome, zabeleženo je smanjenje fitotoksičnosti i povećanje prinosa soje u tretmanima sa dodatkom Delfana Plus ali je povećanje tek neznatno veće od tretmana bez dodatka Delfana Plus.

## Literatura

Hagerman, 1995

Hrustić, M., Vidić, M., Jocković, Đ. (1998): Soja. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.

Konstantinović, B., Stojanović, S., Meseldžija, M. (2005): Biologija, ekologija i suzbijanje korova. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Larson, R. A. (1988): The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27: 969–978.

Makkar, H. P. S. (2003): Quantification of tannins in tree and shrub foliage: a laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 49–53.

Onć-Jovanović, E., Veselinović, M., Stajić, M. (2012): Uloga đubriva sa aminokiselinama u prevazilaženju stresa u savremenoj proizvodnji i zaštiti bilja. *Biljni lekar*, 40(5): 412–419.

Panda, S. K. (2012): Assay Guided Comparison for Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Activities with Special Reference to Medicinal Plants. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology "Antioxidant Enzyme"*, Mohammed Amr El-Missiry, CC BY 3.0 license.

Pękal, A., Pyrzynska, K. (2014): Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*, 1–7.

Popović, M. (2001): Biohemija biljaka. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Popović, M., Malenčić, Đ. (2006): Aktivni principi ukrasnog bilja. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Štajner, D., Milić, N., Mimica-Dukić, N., Lazić, B., Igić, R. (1998): Antioxidant abilities of cultivated and wild species of garlic. *Phytother. Res.*, 12: 13–14.

## Changes in polyphenols content in soybean (*Glycine max* L.) and thornapple (*Datura stramonium* L.) after treatment with the herbicides and Delfan Plus

Đorđe Malenčić<sup>1\*</sup>, Biljana Kiprovska<sup>2</sup>, Miloš Rajković<sup>2</sup>, Jegor Miladinović<sup>2</sup>, Stojan Kljakić<sup>1</sup>, Jovana Šućur<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of Field and Vegetable Crops, Novi sad, Serbia

<sup>2</sup> Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Serbia

\*Corresponding author: [malencic@polj.uns.ac.rs](mailto:malencic@polj.uns.ac.rs)

### ABSTRACT

The major problems in the soybean production are weeds. Weeds are limiting factor for high and stable yields. In recent years, the number of registered herbicides has decreased due to ecotoxicological and economic reasons, as the areas under the strain that are not genetically modified are reduced. The most common herbicide combination for weed prevention in soybean is Pulsar 40 and Harmony 75WG, but when applied during hot days these herbicides may induce oxidative stress in plants. Delfan Plus<sup>®</sup> is a biostimulator with high amino acid content which can be used in combination with herbicides. It as a supplement for faster protein synthesis and thus, overcoming stress conditions caused by high and low temperatures, drought, herbicides etc. In order to investigate the ability of Delfan Plus<sup>®</sup> to mitigate the effect of herbicides on soybean plants (and its weed species *Datura stramonium* L.), we analysed accumulation of polyphenolic compounds (total polyphenols, tannins, flavonoids and proanthocyanidins), as well as phytotoxicity and grain yield.

**KEY WORDS:** *Datura stramonium* L., *Glycine max* L., polyphenols

Primljen: 26.02.2019.

Prihvaćen: 09.04.2019.