

## HERBICIDI I MEHANIZMI DJELOVANJA I<sup>2</sup>

### Sažetak

*Biljne vrste koje se javljaju na površinama a nisu cilj uzgoja smatramo neželjenim vrstama - korovima. Te vrste ometaju rast, razvoj i plodonošenje biljnih vrsta koje su cilj uzgoja te ih je stoga poželjno eliminirati odnosno spriječiti im daljnji razvoj. Osim mehaničkih, fizikalnih i bioloških metoda, njihovu prisutnost možemo spriječiti i primjenom kemijskih metoda tj. primjenom herbicida odnosno herbistatika. Ta sredstva eliminiraju neželjene biljne vrste tako što u određenim stadijima inhibiraju (ometaju) biokemijske procese neophodne za njihov rast i razvoj bez negativnog utjecaja na vrstu koja je cilj uzgoja. Kako i na koji način to ostvaruju nazivamo mehanizmom djelovanja.*

**Ključne riječi:** herbicidi, mehanizam djelovanja, ACCasa, AHAS.

### Uvod

Nakon apsorpcije od strane biljke, herbicidne molekule translocirajući se do mjesta djelovanja blokiraju normalno odvijanje raznih fiziološko-biokemijskih procesa (npr. fotosintezu, sintezu masnih kiselina, sintezu aminokiselina i dr.) što, u konačnici, rezultira herbicidnim učinkom tj. odumiranjem biljke. Rečeno ostvaruju inhibirajući pojedine segmente odnosno spojeve uključene u te procese. Sam proces, način na koji ga inhibiraju kao i posljedice koje se javljaju kao produkt inhibicije predstavlja njihov mehanizam djelovanja. Pri tomu je pojam "mehanizam djelovanja herbicida" potrebno razlučiti od pojma "način djelovanja herbicida".

Način djelovanja herbicida obuhvaća sve procese koji se odvijaju od trenutka prvog kontakta herbicida s biljkom do konačnog efekta (apsorpcija listom ili korijenom, translokacija floemom ili ksilemom odnosno kretanje simplastom ili apoplastom, mehanizam djelovanja, metabolizam, toksični učinak).

### Mehanizam djelovanja

Herbicidi u biljci mogu utjecati na više procesa. Proces koji je najviše pod utjecajem herbicida predstavlja njegovo primarno djelovanje. Ako molekule herbicida remete i neki drugi proces, ali ne u tolikoj mjeri, učinak na taj proces predstavlja sekundarno djelovanje.

<sup>1</sup> mr. sc. Darko Topolovec, Agromais d.o.o.

<sup>2</sup> Rad se nastavlja u idućem broju

---

Općenito, prema mehanizmu djelovanja, herbicide možemo svrstati u četiri osnovne skupine :

- inhibitore fotosinteze
- inhibitore biljnog rasta
- inhibitore biosintetičkih procesa
- herbicidi nepoznatog mehanizma djelovanja.

Kako se svaka od rečenih skupina odnosi na čitav niz procesa i reakcija, a herbicidne molekule inhibiraju samo pojedine dijelove odnosno pojedine reakcije (npr. karboksilaciju ili oksidaciju nekog spoja ) unutar tih procesa, svaka se skupina može dalje rasčlaniti.

Tako je HRAC (Herbicide Resistance Action Committee) organizacija podržana od GCPF-a (Global Crop Protection Federation), u suradnji s WSSA (Weed Science Society of America), izdala novu klasifikaciju herbicida na osnovi mehanizma djelovanja. Po toj osnovi herbicidi su razvrstani u 25 skupina označenih slovima od A do Z.

Inhibirajući fiziološke procese u biljci, herbicidi dovode do njezina odumiranja. No, herbicidi ne iskazuju isti (fitotoksičan) učinak prema svim biljnim vrstama. Pojedine vrste su u stanju otprijeti njihov učinak te u tom slučaju govorimo o selektivnom učinku herbicida odnosno o vrstama koje su tolerantne na pojedine herbicide. Selektivnost herbicida je pod utjecajem čitavog niza činitelja. Osim anatomske-morfoloških i fizioloških razlika između kulture i korova, kao i količine (doze) i vremena primjene herbicida odnosno osobina tla i klimatskih prilika, selektivnost ovisi i o procesima inaktivacije (detoksifikacije) molekule herbicida. Proces detoksifikacije odvijaju se uz prisustvo čitavog niza enzima koji kataliziraju inaktivaciju molekula herbicida transformirajući ih u netoksične spojeve koje zatim biljna stanica ili eliminira iz citoplazme ili uskladišti u vakuolama ili ih ukomponira u stanične membrane. Od enzima koji sudjeluju u takvim reakcijama kao značajniji navode se citokrom p450 monooksigenaze koje sudjeluju u procesima oksidacije, alkil i aril hidroksilacije, N- i O-dealkilacije, izomeracije i redukcije te glutathion-S-transferaze koje sudjeluju u procesima konjugacije. Oba su u biljkama prisutna u većem broju izoformi.

U radu će biti iznesena podjela herbicida na osnovi mehanizma djelovanja odnosno dosadašnje spoznaje o samom tijeku herbicidnog djelovanja. Isto tako bit će prikazan kratak osvrt na sudbinu odnosno metabolizam herbicidne molekule u biljci koji je, u većini slučajeva, jedan od glavnih činitelja selektivnog učinka herbicida.

### ***Inhibitori acetilkoenzim A karboksilaze (ACCasa)***

Acetil koenzim A karboksilaza (ACCasa) je enzim koji sudjeluje u procesu sinteze masnih kiselina. Masne kiseline imaju važnu strukturalnu i biokemijsku ulogu u biljci (sudjeluju u izgradnji staničnih membrana, kloroplasta, epikutikularnog i kutikularnog

voska, omogućuju propusnost membrana), a sintetiziraju se u kloroplastu i citoplazmi. Poznato je da na nezasićenu alfa-linoleinsku kiselinu, produktu sinteze masnih kiselina u kojem sudjeluje ACCasa, otpada 70% ukupnih masnih kiselina lista odnosno 40-80% lipidnog sadržaja kloroplasta. Enzim je nađen u svim biljnim dijelovima, ali je posebno aktivan u mladom razvojnom tkivu (korjenova kapa i lisni meristem). Utvrđene su dvije izoforme ACCase, jedna locirana u plastidima i druga locirana u citoplazmi. Ova potonja je manje osjetljiva na herbicide.

Herbicidi koji inhibiraju acetil-CoA karboksilazu se, nakon što bivaju transformirani u aktivnu formu (npr. ariloksifenoksi propionati se deesterificiraju u fitotoksičnu kiselinu), translociraju u meristem biljaka gdje ostvaruju svoj herbicidni učinak inhibirajući sintezu masnih kiselina preko inhibicije acetil koenzima A karboksilaze.

Osnovni spoj iz kojeg započinje sinteza masnih kiselina (vidi prikaz 1) je acetil koenzim A (acetil CoA), a cijeli proces se odvija uz katalizaciju nekoliko enzima od kojih najvažniju ulogu ima enzim acetil CoA karboksilaza (ACCasa). ACCasa katalizira sintezu malonil CoA, spoja iz kojeg, između ostalog, nastaje i zasićena masna kiselina palmitat. Iz te kiseline moguća je sinteza trans-heksadekanoinske kiseline (sudjeluje u izgradnji tilakoida) i stearata - masne kiseline koja (uz katalizacije nekoliko enzima) služi kao osnova za sintezu epikutikularnog voska i suberina ili nezasićene alfa-linoleinske masne kiseline.

Acetil CoA karboksilaza je enzimatsko proteinski kompleks sastavljen od 3 dijela, biotin karboksilaze, biotin karboksil proteinskog nosača i acetil CoA transkarboksilaze - područje vezivanja molekule herbicida. Do sada su poznate dvije kemijske skupine herbicida koji inhibiraju acetil CoA karboksilazu, ariloksifenoksi propionati i cikloheksanoni. Obje skupine inhibiraju isti enzim, vežu se na isto područje, ali na različita mjesta na tom području.

Nakon što se molekula herbicida veže na rečeno područje, dolazi do inhibicije enzima, čime se sprečava karboksilacija acetil CoA u spoj malonil CoA, a samim time i sinteza nezasićenih i zasićenih masnih kiselina, flavoina, kvinona i drugih spojeva.

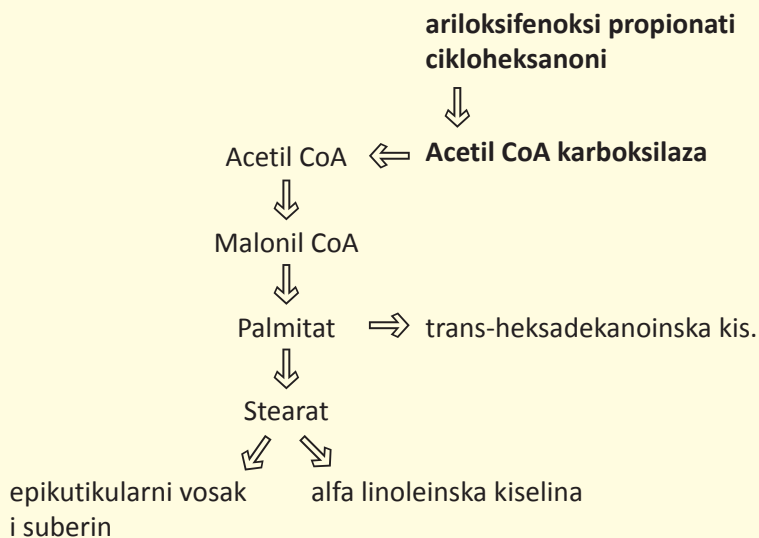
Posljedica inhibicije enzima acetil CoA karboksilaze je prestanak formiranja membrana i umnožavanja kloroplasta, diobe stanice i niz drugih procesa u kojima sudjeluju spojevi sintetizirani ovim putem. Okom vidljivi simptomi na osjetljivim biljkama javljaju se već drugi dan nakon aplikacije u vidu redukcije rasta koji potpuno prestaje nakon tri do četiri dana. Na mladim se listovima uočavaju klorotična mjesta (destrukcija plastida), dok stariji gube pigmentaciju. Pet do sedam dana nakon aplikacije uočavaju se prve nekroze meristemskog tkiva, a biljka ugiba obično nakon dva do tri tjedna.

Herbicidi inhibitori acetil koenzim A karboksilaze su vrlo djelotvorni u suzbijanju jednogodišnjih i višegodišnjih korovnih trava, dok su prema dikotiledonskim biljkama selektivni.

Pretpostavlja se da je selektivnost prema dikotiledonama posljedica metaboličke inaktivacije molekule herbicida te niske osjetljivosti enzima ACCase u tim biljkama. Iako se molekule ariloksifenoksi propionata jednakom brzinom deesterificiraju u toksičnu kiselinu u obje skupine biljaka, u dikotiledonama se aktivna forma vrlo brzo inaktivira arilhidroksilacijom i konjugacijom, dok se u osjetljivih trava stvara glukozid ester iz kojeg se toksična forma tih herbicida brzo i lako stvara. I cikloheksanoni se u tolerantnim biljkama vrlo brzo inaktiviraju procesima sulfoksidacije, aril hidroksilacije i konjugacije.

### Prikaz 1.

Pojednostavljen shematski prikaz sinteze masnih kiselina u biljci (modificirano prema Cobbu, 1992)



### **Inhibitori acetolaktat sintaze (ALS, AHAS)**

Acetolaktat sintaza ili acetohidroksi acid sintaza (ALS; AHAS) je genom kodiran enzimatski kompleks smješten u kloroplastu viših biljaka gdje katalizira sintezu razgranatog lanca esencijalnih aminokiselina valina, leucina i izoleucina. Sintetizira se, kao i većina enzima, u citoplazmi odakle biva transportiran u kloroplast. Prisustvo tog enzima je naročito uočeno u mladom meristemskom tkivu. Osim u višim biljkama, enzim acetolaktaza pronađen je i u bakterijama (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*) u kojima je utvrđeno nekoliko izoformi tog enzima.

Postojanje različitih izoformi acetolaktaze, s različitom osjetljivošću na herbicide, omogućilo je, genetičkim inženjeringom, stvaranje kultura rezistentnih na herbicide inhibitore acetolaktaze.

U skupinu inhibitora acetolaktaze svrstane su tri kemijske grupe herbicida: sulfonilureja, imidazolinoni i triazolopirimidini.

Aminokiseline valin, leucin i izoleucin sintetiziraju se iz spojeva piruvata, odnosno treonina preko niza reakcija koje katalizira 4 do 5 enzima, među kojima je i ALS (vidi prikaz 2).

Herbicidi koji inhibiraju ALS svoje djelovanje ostvaruju već u prvoj stepenici sinteze aminokiselina valina, odnosno u drugoj stepenici sinteze aminokiseline izoleucina. Iako precizni mehanizam inhibicije acetolaktaze nije poznat, pretpostavlja se da se molekule rečenih skupina herbicida vežu na isto aktivno kvinon mjesto enzimatskog proteinskog kompleksa (piruvat+ALS, odnosno 2-ketobutirat+ALS) čime onemogućavaju spajanje sljedeće molekule piruvata i stvaranje 2-acetolaktata, odnosno 2-acetohidroksibutirata. Time je čitav proces sinteze navedenih aminokiselina zaustavljen.

Posljedica inhibicije acetolaktaze je vrlo brzi prestanak sinteze proteina potrebnih za razvoj biljke, nukleinskih kiselina (DNA), diobe stanice i izduživanje mladog korijena i lišća. Iako navedeni procesi prestaju nekoliko sati nakon aplikacije herbicida, vidljivi simptomi se pokazuju tek za nekoliko dana. Meristemsko tkivo postaje isprva klorotično a zatim nekrotizira. Mlado lišće izgleda uvelo, a takav izgled poprima i čitava biljka. Karakterističan simptom herbicida koji inhibiraju ALS je crvenilo lisnih žila monokotiledonskih biljaka (povećan nivo antocijana). Kako glavni fiziološki procesi kao što su fotosinteza i disanje nisu direktno pod utjecajem herbicida, biljke postupno odumiru. Vladaju li optimalni uvjeti za rast osjetljivih biljaka, one ugibaju unutar 10 dana od aplikacije, odnosno unutar 10 do 60 dana ako je rast biljaka spor. Ako se ALS inhibitori apliciraju prije sjetve ili prije nicanja kulture i korova, osjetljivi korovi niknu i rastu dok ne utroše rezerve hrane u sjemenu. Rast širokolisnih korova zaustavljen je u fazi kotiledona, a trava prije faze 2 lista.

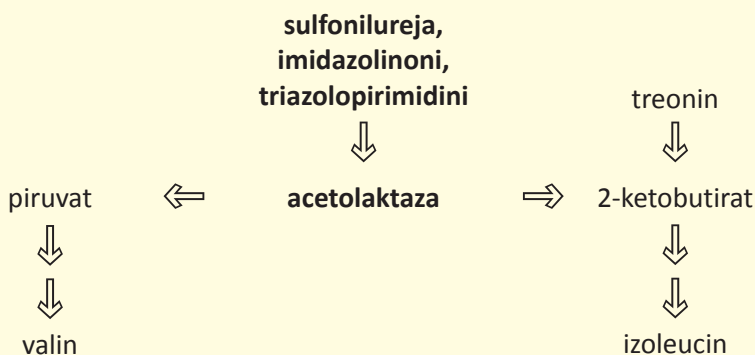
Herbicidi iz skupine inhibitora acetolaktaze selektivnost prema kulturama u kojima se primjenjuju ostvaruju apsorpcijom manjih količina herbicida u određenim fazama razvoja te zatim njihovom brзом metabolitičkom inaktivacijom ili je ta selektivnost posljedica prostorne izolacije osjetljivih biljnih dijelova kultura i molekula herbicida.

Sulfonilureja spojevi se u tolerantnim kulturama detoksificiraju procesima hidrosilacije, oksidacije, hidrolize i konjugacije već unutar 2 sata, za razliku od osjetljivih korova kojima je za to potrebno i do 2 dana. I različita količina apsorpcije

odnosno različit metabolizam molekula imidazolinona, uz činjenicu da se pojedine djelatne tvari primjenjuju nakon sjetve a prije nicanja (prostorna izolacija) objašnjava njihovu selektivnost. Tolerantne ih biljke sporije deesterificiraju i brzo inaktiviraju metil hidroksilacijom i konjugacijom, dok se u osjetljivim rapidno deesterificiraju u toksičnu kiselinu.

### Prikaz 2.

Pojednostavljen prikaz sinteze aminokiselina valina i izoleucina sa mjestom djelovanja herbicida (modificirano prema Cobbu, 1992)



*Professional paper*

## HERBICIDES AND MODES OF ACTION I

### Summary

*Plant species which appear on areas without being the goal of cultivation, are considered to be unwanted species, i.e. weed. Those species interfere with growth, development and fruit-bearing of plant species which are the goal of cultivation, therefore it is recommendable to eliminate them, that is, prevent their further development. Except for mechanical, physical and biological methods, their presence can also be prevented by chemical methods, that is, by using herbicides. Such means eliminate unwanted plant species in certain phases by inhibiting (interfering with) the biochemical processes necessary for their growth and development, without having any negative impact on the species which is the goal of cultivation. The way they do that is called modes of action.*

**Key words:** herbicides, mechanism of acting, ACCasa, AHAS.