

**Dr Tatjana Brodnik**

Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana

### **HALOGENIRANI DERIVATI HIDROKSIKINOLINA KAO FUNGICIDI ZA TRETIRANJE SJEMENA KUKURUZA**

U novije vrijeme sve intenzivnije traže se u svijetu organski spojevi za tretiranje sjemena protiv različitih patogenih mikroorganizama. Cilj svih istraživanja je pronalaženje preparata sa što manjim otrovnim djelovanjem na čovjeka i životinje, te sa što manjim fitotoksičnim i što boljim fungicidnim djelovanjem. Antimikrobiološki efekt halogeniranih derivata hidroksikinolina proučavali su brojni autori s gledišta humane i veterinarske patologije (MASON 1948, HESELTINE 1959, BLOCK 1955, GARSON 1962, FORGACS 1968, i drugi). Tumačenje mehanizma djelovanja hidroksikinolina i njegovih derivata oslanja se na pretpostavku da je antimikrobiološki efekat postignut blokiranjem životno važnih sulfhidrilnih encima u stanicama preko SH veza (RUBBO sa sur. 1950, ALBERT sa sur. 1953, 1954, ZSOLNAI 1961) i da je za prodiranje kroz staničnu membranu važan odnos između hidroksikinolina i iona teškog metala (RUBBO sa sur. 1950).

U biljnoj patologiji susrećemo se prvi put sa 8-hidroksikinolin-sulfatom, kao fungistatikom koji inhibira *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, *Ceratomyella ulmi* i neke vrste *Penicillium* (ZENTMAYER 1944), a pretpostavka o sistematičnom djelovanju navodi se već u godini 1935. (BOUDRU). Zbog tog pronalaska susrećemo u literaturi 8-hidroksikinolin-sulfat kao početak razvoja sistemskih fungicida.

Toksično djelovanje halogeniranih derivata hidroksikinolina na čovjeka i životinje proučavano je najviše obzirom na jodkloroksikinolin i dijud-oksikinolin (DAVID sa sur. 1944, HASKINS 1950, ŠENK i SALOBIR 1971). Svi ti autori, kao i WEGLER 1970 za bakreni derivat hidroksikinolina, utvrdili su ekstremno visoku LD<sub>50</sub>, što daje prioritet upotrebi preparata na osnovu halogeniranih derivata hidroksikinolina. Višak sjemena tretiranog tim preparatima mogao bi se upotrebiti za ishranu životinja.

Pošto se halogenirani derivati, a među njima osobito smjesa mono i diklor hidroksikinolina, približava fungicidnom efektu živinih preparata protiv brojnim parazitskim gljivama, koje se prenose sjemenom žitarica i drugih biljnih kultura i pošto je razmjer između toksične i fungicidne doze jako povoljan (BRODNIK 1971 a, 1971 b, 1971 c, 1972), to su ti spojevi u budućnosti jako perspektivni fungicidi sa tretiranja sjemena.

Obzirom na neotrovnost halogeniranih derivata hidroksikinolina, namjena naših istraživanja bila je u traženju fungicidno najefikasnijeg halogeniranog derivata hidroksikinolina protiv mikoflore na sjemenu kukuruza. U daljnim istraživanjima nastojali smo istražiti efekt aktivnih supstancija na klijavost sjemena i upotpuniti poznavanje mehanizma djelovanja obzirom na neke biohemijske procese u početku razvoja klica.

## MATERIJAL I METODE

### 1. Fugicidni učinak i učinak na klijavost

Prirodno zaraženo sjeme Austria-hibrid 290 s gljivama *Fusarium graminearum*, *F. moniliforme* i *F. spp.* i saprofitskim gljivama (*Penicillium spp.*, *Trichothecium roseum*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium herbarum* i *Acremoniella atra*) bio je zapaženo u oktobru sa 200 g/mtc:—jod

- klor—hidroksikinolin\* ( $L_{51}$ —15% a.s.,  $L_{20}$ —20% a.s. i  $L_{30}$ —30% a.s.)
- smjesa: mnoklor-hidroksikinolin i diklor-hidroksikinolin\*  
35:65 ( $LC_{15}$ —15% a.s.,  $LC_{20}$ —20% a.s. i  $LC_{30}$ —30% a.s.)
- dibrom-hidroksikinolin\* ( $LB_{15}$ —15% a.s.,  $LB_{20}$ —20% a.s.,  $LB_{30}$ —30% a.s.)
- diklor-hidroksikinolin\* L 5,7 C—30% a.s.)
- TMTD-tetra-metil-hiuram-diulfid 50% (Radotiram)
- K — netretirano sjeme

#### a) Laboratorijski pokus

Svaki način tretiranja bio je testiran prema međunarodnoj metodici na 8x50 sjemenki u Petri-posudama na vlažnom filter papiru. Inkubacija: 8 dana na 25°C u tami. Ravoj gljive ocjenjivan je stereoskopski i mikroskopski u postotku sjemenki s razvijenim gljivama (ISTA Proc. 1966). Testiranje je izvršeno u martu u vrijeme priprema za sjetvu.

#### b) Pokus u stakleniku

Pokus u stakleniku bio je izvršen po »Hladni test« metodi u aprilu. Cilj tog pokusa je proučavanje efikasnosti istraživanih sredstava protiv zemljišne semi-parazitske i saprofitske mikoflore, koja u slabim ekološkim uvjetima za razvoj klice poslije sjetve oštećuje i uništava klice.

Kao podloga upotrebljena je srednje teška, nesterilizirana zemlja iz kukuruznog rajona sa 70% poljskog kapaciteta za vodu. 4x100 sjemenki od svakog načina tretiranja posijano je u dubinu 2—2,5 cm.

Uvjeti nicanja: 4 dana temperatura 20—25°C, 4 dana poslije sjetve 5°C i i još 7 dana temperatura 18—20°C. 15 dana poslije sjetve ocjenjivan je postotak normalno razvijenih i zdravih biljčica.

2. Induktivni utjecaj halogeniranih derivata hidroksikinolina na sintezu ribonukleinske kiseline (RNK). Sjeme tretirano smjesom mono-klor-hidroksikinolin i diklor-hidroksikinolin ( $LC_{15}$ ) i hidroksikinolinom (8 K) — 200 g/q i ne-

\* Svi su halogenirani derivati proizvod tvornice »LEK« — Ljubljana  
TMTD je proizvod »RADONJA« — Sisak

tretirano sjeme (K) bilo je stavljeno u Petri-posude na steriliziran kremeni pijesak (31.5 g), navlažen s 15 cm sterilizirane vode za svaku Petri-posudu. Sjeme je klijalo kod temperature 18—20°C. RNK, mjerena na g svježe težne klica 24, 48, 72 i 96 sati poslije sjetve, bila je testirana metodom R.J. — SAN i O.A. SCHJEIDE, 1969, i utvrđivana spektrofotometrom.

## REZULTATI I KOMENTAR

### Fungicidni učinak i učinak na klijavost

#### a) Laboratorijski pokus

Rezultati efikasnosti istraživanih preparata na *Fusarium* spp. i na saprofitske gljive prikazani su u tabeli 1., a signifikantna razlika u efikasnosti u tabeli 2 a i b.

Tabela 1 Efikasnost istraživanih preparata na *Fusarium* spp. (*F. spp.*) i na saprofitske gljive (s. g.) u % sjemenki s razvijenim gljivama

Tretiranje	F. spp.	s.g.
L 15	9.35	10.62
L 20	7.37	0.00
L 30	2.02	0.00
LC 15	0.00	0.00
LC 20	0.45	0.00
LC 30	0.00	0.00
LB 15	12.07	13.65
LB 20	10.47	6.92
LB 30	11.82	0.00
L 5,7 C	0.00	0.00
TMTD	21.65	48.57
K	25.22	90.00

Svi israživani preparati bili su signifikantno efikasniji na *Fusarium* spp. i protiv saprofitskih gljiva u uspoređenju s netretiranom sjemenom (K), kao i u uspoređenju s TMTD. Između halogeniranih derivatima hidroksiknolina sugnjir pikantno su najefikasniji klorov i pod-klor-derivati hidroksikinolina (LC, L 5,7 C i L). Najslabiji učinak protiv *Fusarium* spp. i saprofitskim gljivama postignut je dibrom hidroksikinolinom (LB).

Tabela 2 Signifikantnost razlika u efikasnosti istraživanih prerarata na  
a) Fusarium spp

Tre- ranje	L <sub>15</sub>	L <sub>20</sub>	L <sub>30</sub>	LC <sub>15</sub>	LC <sub>20</sub>	LC <sub>30</sub>	LB <sub>15</sub>	LB <sub>20</sub>	LB <sub>30</sub>	L 5,7	C	TMTD	K
L 20	0		0	0	0	0	0	0	0	0		—	—
L 30	0	0		0	0	0	—	—	—	0		—	—
LC 15	—	0	0	0	0	0	—	—	—	0		—	—
LC 20	—	0	0	0	0	0	—	—	—	0		—	—
LC 30	—	0	0	0	0	0	—	—	—	0		—	—
LB 15	0	0	X	X	X	X		0	0	X		—	—
LB 20	0	0	X	X	X	X	0	0	0	X		—	—
LB 30	0	0	X	X	X	X	0	0	0	X		—	—
LB 20	0	0	X	X	X	X	0	0	0	X		—	—
LB 30	0	0	X	X	X	X	0	0	0	X		—	—
LB 15	0	0	X	X	X	X	0	0	0	X		—	—
L 5,7													
C	—	0	0	0	0	0	—	—	—			—	—
TMTD	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			—
K	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	

b) saprofitske gljive

Tre- ranje	L <sub>15</sub>	L <sub>20</sub>	L <sub>30</sub>	LC <sub>15</sub>	LC <sub>20</sub>	LC <sub>30</sub>	LB <sub>15</sub>	LB <sub>20</sub>	LB <sub>30</sub>	L 5,7	C	TMTD	K
L 15		X	X	X	X	X	—	X	X	X		—	—
L 20	—		0	0	0	0	—	—	0	0		—	—
L 30	—	0		0	0	0	—	—	0	0		—	—
LC 15	—	0	0		0	0	—	—	0	0		—	—
LC 20	—	0	0	0		0	—	—	0	0		—	—
LC30	—	0	0	0	0		—	—	0	0		—	—
LB 15	X	X	X	X	X	X		X	X	X		—	—
LB 20	—	X	X	X	X	X	—		X	X		—	—
LB 30	—	0	0	0	0	0	—	—		0		—	—
L 5,7													
C	—	0	0	0	0	0	—	—	0			—	—
TMTD	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X
K	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	

U vertikalnim uvjetima:

0 — nesigifikantna razlika

X — sigifikantno bolji kod P—0,05

— — sigifikantno slabiji kod P—0,05

Kod proučavanja efekata halogeniranih derivata hidroksikinolina, koji su bili do sada istraživani u humanoj medicini i veterini (BLOCK 1955, HESELTINE 1959, BRACK 1962, GARSON 1962) protiv nekih Gram — pozitivnih bakterija i gljiva, utvrđen je najjači efekat klorovih derivata hidroksikinolina a slijede jod-klor, bromovi derivati, a najslabije efikasni su jodovi derivati hidroksikinolina. Jednako se svrstavaju po efektu istraživanja derivati hidroksikinolina i protiv *Fusarium* spp. i saprofitskim gljivama na sjemenu kukuruza.

#### b) Pokus u stakleniku

Nicanje biljaka po metodi »Hladni test« najbolji je pokazatelj ne samo biološke vrijednosti sjemena nego i zaštitne vrijednosti aktivne supstance protiv semi — parazitskim i saprofitskim gljivama u tlu. Visoka vlažnost supstrata i niska temperatura inhibiraju razvoj klice a istovremno stimuliraju razmnožavanje mikroorganizama u zemlji i na sjemenu a posljedica su mnogobrojna prazna mjesta u polju, koja se pojavljaju poslije nicanja kukuruza posijanog u nepovoljnim ekološkim uvjetima.

Nicanje normalno razvijenih biljaka kukuruza iz sjemena tretiranog istraživanim preparatima, u svim primjerima signifikantno je veće u uspoređenju s nicanjem biljaka iz netretiranog sjemena. Postotak izniklih biljaka iz sjemena tretiranog s TMTD signifikantno je niži u uspoređenju s nicanjem sjemena, tretiranog s klor i jod-klor derivatima hidroksikinolina a u usporedbi s dobrom hidroksikinolinom kao aktivnom supstancom nisu ~~zapažene~~ signifikantne razlike (tabela 3 i 4.)

Tabela 3 Nicanje biljaka po »hladni test« metodi u %

Tretiranje	Nicanje
L 15	64.25
L 20	66.50
L 30	75.50
LC 15	70.50
LC 20	71.25
LC 30	76.25
LB 15	60.00
LB 20	64.50
LB 30	59.75
L 5,7 C	75.50
TMTD	56.50
K	48.25

Tabela 4 Signifikantnost razlika u efikasnosti istraživanih preparata na nicanje biljaka po metodi »hladni test«

Tretiranje	L <sub>15</sub>	L <sub>20</sub>	L <sub>30</sub>	LC <sub>15</sub>	LC <sub>20</sub>	LC <sub>30</sub>	LB <sub>15</sub>	LB <sub>20</sub>	LB <sub>30</sub>	L 5,7	C	TMTD	K
L 15		0	X	X	X	X	0	0	0	X	—	—	
L 20	0		X	0	0	X	—	0	—	X	—	—	
L 30	—	—		—	0	0	—	—	—	0	—	—	
LC 15	—	0	X		0	X	—	—	—	X	—	—	
LC 20	—	0	0	0		X	—	—	—	0	—	—	
LC 30	—	—	0	—	—		—	—	—	0	—	—	
LB 15	0	X	X	X	X	X		0	0	X	0	—	
LB 20	0	0	X	X	X	X	0		0	X	—	—	
LB 20	0	0	X	X	X	X	0		0	X	—	—	
LB 30	0	X	X	X	X	X	0	0		X	0	—	
L 5,7													
C	—	—	0	—	0	0	—	—	—		—	—	
TMTD	X	X	X	X	X	X	0	X	0	X		—	
K	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	—

U vertikalnim redovima:

0 — nesignifikantna razlika

X — signifikantno bolji kod P=0,05

— — signifikantno slabiji kod P=0,05

Efikasnost istraživanih preparata na nicanje kukuruza prema metodi »hladni test« izjednačuje se s rezultatima svrstavanja fungicidnog efekta pojedinačnih preparata u laboratorijskom pokusu.

#### Induktivni utjecaj halogeniranih derivata hidroksikinolina i hidroksikinolina na sintezu RNK

Sinteza RNK u klicama iz sjemena tretirano hidroksikinolinom signifikantno se povisila u odnosu s netretiranim sjemenom 72 sata nakon sjetve, a u klicama sjemena, tretiranog smjesom LC signifikantan porast zapažen je već u početku klijavosti, a najočitiji 48 i 72 sata nakon sjetve (tabela 5). Ionska priroda reakcije helata između halogeniranih hidroksikolina i teških metala

pojačava liposolubilnost (BRACK 1962), što se odražava u bržem induktivnom efektu u uspoređenju s efektom samog hidroksikolina.

Tabela 5 Induktivni učinak hidroksikinolina (8—K) i smjese 5-klor i 5,7-diklor-hidroksikinolina LC) na sintezu RNK u mg/1 g svježe mase klica

Sati nakon sjetve	netretirano	8—K	LC
24	60,8	61,3	64,5
48	53,4	52,7	73,8
72	31,9	43,0	60,6
96	62,9	62,6	63,4

Sinteza RNK, kao rezultata eksogene aplikacije osobito klorovih derivata hidroksikinolina vjerojatno predstavlja u osnovi m-RNK, čija je pojačana sinteza praćena aktivnošću encimatskih procesa i aktivacijom organela kataboličnim procesima rezervi u stanici i sintezom novih staničnih komponenata u prvim danima klijavosti (CHING 1973). Na osnovu rezultata može se pretpostaviti da se odražava induktivni efekat hidroksikinolina i smjese klorovih derivata hidroksikinolina preko određenog biljnog mehanizma u biosintezi.

#### SAŽETAK

Proučavan je efekat halogeniranih derivata hidroksikinolina kao fungicida i njihov utjecaj na klijavost sjemena sa biološkog i biokemijskog gledišta.

Prirodno zaraženo sjeme kukuruza gljivama *Fusarium* spp. (*F. graminearum*, *F. moniliforme*) i saprofitskim gljivama (*Penicilium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichothecium roseum*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria* spp., *Cladosporium herbarum* i *Acremonia atra*) bilo je tretirano odmah poslije žetve s halogeniranim hidroksikinolina (J, Cl, Br) i TMTD (Radotiram) u dozi 200 g/mtc. Sjeme je bilo uskladišteno pet mjeseci. Fungicidni efekat, testiran u martu, u vrijeme prije sjetve, pokazao je da su najefikasniji klorovi derivati hidroksikinolina, a svi su halogenirani derivati signifikantno bolji od u komparaciji istraživanog TMTD.

Za vrijeme uskladištenja i sjetve istraživani halogenirani derivati hidroksikinolina nisu utjecali na klijavost sjemena i u uspoređenju sa netretiranim sjemenom, klijavost tretiranog sjemena signifikantno je bolja.

Konačno utvrđeno je stimulativno djelovanje klorovih derivata hidroksikinolina na sintezu ribonukleinske kiseline (RNK) u klicama u prvim satima i danima klijavosti sjemena, kao jedan od pokazatelja životne energije klice u početnom, najosjetljivijem vremenu razvoja.

# HYDROXYQUINOLINE HALOGENATED DERIVATES AS FUNGICIDES FOR MAIZE SEED TREATMENT

by

**Dr Tatjana Brodnik**  
Kmetijski inštitut  
Slovenije, Ljubljana

## S u m m a r y

The effect of hydroxyquinoline halogenated derivatives as fungicides and their influence on seed germination from the biological and biochemical aspects was investigated.

Maize seed naturally infected with *Fusarium* spp. fungi (*F. graminearum*, *F. moniliforme*) and saprophytic fungi (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichothecium roseum*, *Rhizopus nigricans*, *Alternaria* spp., *Cladosporium herbarum* and *Acremonia atra*) was treated immediately after harvesting with hydroxyquinoline halogenated derivatives (J, Cl, Br) and TMTD (Radotiram) in a 200 g/mtc dose. The seed was stored for five months. The fungicidal effect, tested in March, in the period before sowing, has shown that hydroxyquinoline chlor derivatives were the most efficient, and that all halogenated derivatives were significantly better than TMTD, investigated in comparison.

Hydroxyquinoline halogenated derivatives investigated at storage and sowing time did not influence seed germination, while in comparison with untreated, seed, the germination of treated seed was significantly better.

Finally a stimulative influence of hydroxyquinoline chlor derivatives on the ribonucleic acid synthesis (RNK) in germs in the first hours and days of seed germination was established as one of the indicators of the germ's vital energy during the initial and the most delicate development period.

## LITERATURA

- Albert A., M. J. Gibson, S. D. Rubbo, 1953 *Brit. J. Eexp. Path.*, 34, s. 119 — po *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, 1961
- Albert A., A. Hamptom, F. R. Selbie, R. D. Simon, 1954. *Brit. J. Exp. Path.* 34, s. 75 — po *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, 1961
- Block S. S. 1955. *Agric. Food Chem.* 3, S. 229 — po *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, 1961
- Boudru M. 1935. *La maladie de l'orme en Belgique. Bull. Soc. For Belg.* 42, S. 508



- Brack A. 1962. Antimikrobielle Wirkung von 8-Hydroxychinolin-Derivaten, besonders von einigen neuen Estern. *Arzneimittelforsch.* 2, S. 133—144
- Brodnik T. 1971 a. Effect of chloriodohydroxyquinoline on Fungi by Seed treatment, Preprint 77, ISTA Congr. Washington
- Brodnik T. 1971 b. Utjecaj derivata 8-kinolina na *Tilletia tritici*, *Agron. gl.* 9—10, s. 555—560
- Brodnik T. 1971 c. Utjecaj 5-klor-7-jod-8-hidroksikinolina na gljive na tretiranom kukuruzu, *Agron. gl.* 11—12, S. 683—688
- Brodnik T. 1972. Fungicidni efekat halogeniranih derivata 8-hidroksikinolina na mikofloru sjemena. Disert. arhiv Poljopr. fak. Zagreb, arhiv knj. KIS Ljubljana, SBK Ljubljana
- Ching T. T. 1973. Biochemical aspects of seed vigor. *Seed scienc. and technol.* 1, S. 73—88
- David N. A., N. M. Phatak, F. B. Zener. 1944. Iodochlorohydroxyquinolina and diiodohydroxyquinoline, Animal toxicity and absorption in man. *Am. J. Trop. Med.* 24, S. 29—33
- Forgacs V. 1968. Mycoses and mycotoxicoses in poultry. *Feedstuff*, 38, s. 11, 18—21 26—32, 66—71
- Garson H. R. 1962. Antimicrobial Activity of 8-Quinolines, Salicylic Acids, Hydroxy-naphthoic Acid, and Salts of Selected Quinolines with Selected Hydroxy-Acids. *App. Microbiology*, 10, S. 348—353
- Hascins W. T., G. W. Luttermoser. 1950. *Am. J. Trop. Med.* 30, S. 599—po *Acta endocrinologica* 59:133
- Heseltine W. W., F. M. Freeman. 1959. Some pharmacological and microbiological properties of chlorhydroxyquinoline and related compounds. *J. Pharmacy and Pharmacology*. 11, S. 169—174
- I—San Lin R., O. A. Schjeide. 1969. Micro estimation of RNA by the cupric ion catalyzed ornicol reaction. *Anal. Biochem.* 27, S. 473—483
- ISTA-Internation Rules For Seed Testing. 31—1966.
- Mason C. L. 1948. *Phytopathology*, 38, S. 740 — po *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, 1961
- Rubbo S. D., A. Albert, M. J. Gipson. 1950. *Brit. J. Exp. Path.* 31. S. 42. — po *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, 1961
- Šenk L., K. Salobir. 1971. Rezultati pato-morfoloških preiskav piščancev v poskusu na toksičnost Lekosepta, arhiv. Lek Ljubljana
- Wegler R. 1970. *Chemie der Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfungsmittel (I. II.)* Berlin
- Zentmayer G. A. 1944. Inhibition of metal catalysis as fungistatic mechanism. *Science*. 100. S. 294—295
- Zsolnai T. 1961. *Versuche zur Entdeckung neuer Fungistatika III*, *Biochem. Pharm.*, 7, S. 195—220