Fitotoksyczność herbicydów z grupy symetrycznych trójazyn na tle ich struktury i mechanizmu działania inhibicyjnego na reakcje Hilla

Phytotoxicity of symmetrical triazine herbicides against the background
of their structures and the mechanism of their inhibitory effect
on the Hill reaction

MICHAŁ PŁOSZYŃSKI

WSTĘP

Mechanizm działania s-trójazyn w świetle literatury

Zgodnie ze współczesnymi poglądami na mechanizm pierwszego etapu fotosyntezy przyjmuje się, że kwanty światła wybijają z kompleksu chlorofilowego wysokoenergetyczne elektrony, które w procesie niecyklicznym z pasma przewodnictwa trafiają do odpowiednich akceptorów (Davies i inni 1964; Nowotny-Mieczyska 1964). Powstałe w kompleksie „dziury” uzupełniane są niskoenergetycznymi elektronami z jonów OH^- w procesie fotolizy wody (Van Overbeek 1964).

Według Van Overbeeka (1962, 1964) i zgodnie z Goodem (1961) herbicydy z grupy s-trójazyn blokują przepływ niskoenergetycznych elektronów od wody do chlorofilu powodując dodatnie ładowanie chlorofilu, jego utlenienie i zanik (Van Overbeek 1962).

U podstaw tego twierdzenia leżą następujące fakty doświadczalne (Van Overbeek 1964):

a) Występująca po naświetleniu chlorofilu reemisja, spowodowana przez elektrony zapelniające „dziury” w chlorofilu, jest blokowana przez te herbicydy.

b) Dodatek herbicydów powoduje zanik formy zredukowanej cytochromu pośredniczącego w przenoszeniu elektronów od wody do chlorofilu.

Szereg doniesień (Exter 1958, 1961; Masztakow, Prokorchik 1960; Moreland i inni 1959) na temat blokowania przez trójazyny reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach i hamowania aktywności fotosyntetycznej roślin (Ashton i inni 1960; Crafts 1961;

Van Overbeek 1964; Roth 1958) są zgodne z wyżej wymienionymi poglądami.

Van Overbeek (1962), Good (1961) i Moreland (1963) przypuszczają, że mechanizm działania trójazyn, podobnie jak i herbicydów fenylolewnicznych opiera się na tworzeniu wiązań wodorowych z białkową częścią enzymu uczestniczącego w procesie utleniania wody do tlenu cząsteczkowego. Istnieją pewne logiczne podstawy przemawiające na korzyść tej tezy. Wiązania wodorowe odgrywają istotną rolę w połączeniach łańcuchów peptydowych (Laskowski, Scherraga 1954; Setlow, Pollard 1964). Określone grupy u białek mają zaznaczony charakter donorowy (dający H do wiązania) lub akceptorowy, względnie hybrydowy charakter donora i akceptora i przypuszczalnie mogą ze sobą współzawodniczyć w tworzeniu wiązań wodorowych (Laskowski, Scherraga 1954). Jest prawdopodobne, że w konkurencji tej mogą brać również udział inne związki spełniające odpowiednie warunki strukturalne. Proces ten jest prawdopodobny również z punktu widzenia energetyki.

Energie tworzenia wiązań wodorowych są nieduże (Cram, Hammond 1963; Mecke 1948; Moreland 1963), rzędu 3—8 kcal/mol. W systemach biologicznych składniki wiązań wodorowych (również łańcuchów peptydowych) mogą być podstawiane przez herbicydy w drodze wymiany, przy czym energia aktywacji tego procesu jest mniejsza od energii potrzebnej do rozbicia danego wiązania wodorowego (Moreland 1963). Niezależnie od tego określone grupy funkcyjne herbicydów trójazynowych o zaznaczonym charakterze donorowym względnie akceptorowym mogą tworzyć nowe wiązania wodorowe z odpowiednimi „wolnymi” grupami funkcyjnymi białek. Oczywiście utworzenie wiązań wodorowych apoenzymu z herbicydami prowadzi do zmian struktury i dezaktywacji enzymu.

Argumentem przemawiającym za przyjęciem tego mechanizmu działania herbicydów trójazynowych na metabolizm rośliny jest fakt, że zastąpienie aminowodorów w podstawnikach przy węglu 4 i 6 pierścienia trójazynowego określonymi rodnikami prowadzi do gwałtownego osłabienia (ale niecałkowitego zaniku) ich działania na reakcję Hilla (Łobow, Jefimow 1963). Z tego wynika, że zdolność do wywołania efektu inhibicyjnego reakcji Hilla, poprzez tworzenie wiązań wodorowych z białkiem enzymu uczestniczącego w procesie fotolizy wody, opiera się głównie na tworzeniu wiązań wodorowych typu donorowego, dzięki obecności aminowodorów w podstawnikach przy pierścieniu trójazynowym. Zastąpienie tych aminowodorów w simazynie podstawnikami etylowymi prowadzące do powstania chlorazinu, jest związane z około trzydziestokrotnym spadkiem wielkości inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach (Łobow, Jefimow 1963). Jednakże

Tabela 1 — Table 1

Wpływ budowy herbicydów trójazynowych na względną wartość inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach
 Influence of triazine herbicides structures on relative value of inhibition of Hill reaction in isolated chloroplasts
 (Crafts 1962, Łobow i Jefimow 1963)

Nazwa popularna preparatu Popular name of preparation	Grupa Group	Podstawniki pierścienia trójazynowego przy węglu Triazine ring substituents by carbon			Względna wartość inhibicji reakcji Hilla Relative value inhibition of Hill reaction
		2(X)	4(y)	6(z)	
Atrazin	Chloro-trójazyna	Cl	NHC ₂ H ₅	NHC ₃ H ₇ izo	1,8 — 2,4
Atrazine	Chloro-triazine				
Simazin	Chloro-trójazyna	Cl	NHC ₂ H ₅	NHC ₂ H ₅	1,0
Simazine	Chloro-triazine				
Propazin	Chloro-trójazyna	Cl	NHC ₃ H ₇ izo	NHC ₃ H ₇ izo	1,03 — 3,0
Propazine	Chloro-triazine				
Prometon	Metoksy-trójazyna	OCH ₃	NHC ₃ H ₇ izo	NHC ₃ H ₇ izo	3,0 — 4,0
Prometone	Methoxy-triazine				
Atraton	Metoksy-trójazyna	OCH ₃	NHC ₂ H ₅	NHC ₃ H ₇ izo	—
Atratore	Methoxy-triazine				
Prometryn	Metylotio-trójazyna	SCH ₃	NHC ₃ H ₇ izo	NHC ₃ H ₇ izo	6,1 — 9,0
Prometryne	Methyltio-triazine				
Simetryn	Metylotio-trójazyna	SCH ₃	NHC ₂ H ₅	NHC ₂ H ₅	4,5 — 5,0
Simetryne	Methyltio-triazine				
Chlorazin	Chloro-trójazyna	Cl	N(C ₂ H ₅) ₂	N(C ₂ H ₅) ₂	0,021 — 0,04
Chlorazine	Chloro-triazine				

ujawnienie pewnej aktywności w inhibitowaniu reakcji Hilla mimo braku aminowodorów może świadczyć o pewnej zdolności tworzenia wiązań wodorowych typu akceptorowego, wynikających z obecności w pierścieniu atomów N i podstawników Cl (na 2 węglu pierścienia trójazynowego).

Zależność między strukturą podstawowych herbicydów trójazynowych i zdolnością wywołania efektów inhibicji reakcji Hilla na tle mechanizmu ich działania

W tabeli 1 zestawiono kilka najważniejszych herbicydów z grupy symetrycznych trójazyn z podaniem ich struktury, podziału na chloro-trójazyny, metoksy-trójazyny i metyltio-trójazyny. W tabeli podano wartości względne (w porównaniu do simazinu) zdolności inhibitowania reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach (Crafts 1961; Łobow, Jefimow 1963).

Z danych tabeli wynika, że względna wielkość efektu inhibicji reakcji Hilla zależy zasadniczo od podstawników na węglu 2 i maleje następująco: $\text{SCH}_3 > \text{OCH}_3 > \text{Cl}$ (przy jednakowej ilości i jednakowym rozłożeniu aminowodorów w podstawnikach na węglu 4 i 6). Dla wyjaśnienia wpływu podstawników na węglu 2 na wielkość hamowania reakcji Hilla przyjęto prawdopodobne na tle dotychczasowych rozważań założenie, że wielkość efektu inhibicyjnego zależy istotnie od zdolności do tworzenia wiązań wodorowych z białkiem.

Ryc. 1. Niektóre struktury rezonansowe s-trójazyn.

Fig. 1. Some resonant structures of s-triazines.

W celu odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób struktura trójazyn, a szczególnie podstawnik na węglu 2, determinuje zdolność w tworzeniu wiązań wodorowych z białkiem, podano (ryc. 1) szereg możliwych dla tych związków struktur rezonansowych (Płoszyński 1966).

Zgodnie z literaturą (Negita 1958; Wilmschurt 1958) stwierdzającą elektronegatywny charakter pierścienia niektórych związków typu s-trójazyn i możliwości udziału w hybrydzie rezonansowej struktur

ryc. 1 struktury przewidujące występowania azotu w pierścieniu z ładunkiem ujemnym i azotu w łańcuchu z ładunkiem dodatnim, np. struktura 4.

Tego typu struktury winny być faworyzowane (Płoszyński 1966) w tworzeniu z białkami wiązań wodorowych typu donorowego dzięki temu, że dodatnio naładowane azoty w łańcuchach przy węglu 4 i 6 przyciągając elektrony zwiększają pole dodatnie protonu i tym samym możliwości jego oddziaływania na centra akceptorowe białka. Również ujemnie naładowane azoty w pierścieniu zwiększają prawdopodobieństwo utworzenia wiązań typu akceptorowego z wodorem białkowym. Udział tych struktur w hybrydzie rezonansowej i tym samym zdolność do tworzenia wiązań wodorowych winien być uprzywilejowany dla podstawników na węglu 2 oddających elektrony pierścieniowi. Wiadomo z chemii organicznej (Cram, Hammond 1963), że zdolność oddawania elektronów pierścieniowi maleje zgodnie z kolejnością: $\text{SCH}_3 > \text{OCH}_3 > \text{Cl}$. W tej więc kolejności podstawników na węglu 2 herbicydów trójazynowych winna maleć zdolność do tworzenia wiązań wodorowych z białkami i tym samym zdolność do wywołania efektu inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach. Jest to w logicznej zgodzie z wynikami wielkości inhibicji reakcji Hilla przedstawionymi w tabeli 1.

Wpływ podstawników przy węglu 4 i 6 pierścienia trójazynowego na względne różnice w efekcie inhibicji reakcji Hilla, ze względu na tę samą ilość i to samo rozłożenie aminowodorów u badanych herbicydów, jest słabiej zaznaczony. Pewne zróżnicowanie w blokowaniu reakcji Hilla może wynikać z wpływu tych podstawników na struktury rezonansowe lub z określonych efektów przestrzennych przy działaniu tych herbicydów na białka. Dopiero zastąpienie aminowodorów innymi podstawnikami redukuje zdolność tworzenia wiązań wodorowych typu donorowego i jak widać w tabeli 1 na przykładzie chlora-zinu w bardzo dużym stopniu obniża wielkość inhibicji reakcji Hilla.

BADANIA WŁASNE

Fitotoksyczny wpływ preparatów trójazynowych na różne rośliny jest przypuszczalnie ściśle związany z ich działaniem na reakcję Hilla i hamowaniem aktywności fotosyntetycznej roślin (Crafts 1961; Van Overbeek 1964). Stąd też ciekawe było stwierdzenie, jaka istnieje korelacja pomiędzy zdolnością do wywoływania efektu inhibicyjnego a budową chemiczną i fitotoksycznością poszczególnych preparatów chwastobójczych. W tym celu do badań nad fitotoksycznością trójazyn w stosunku do różnych roślin zastosowano preparaty podane w tabeli 1 (z wyjątkiem simetrynu i chlorazinu), których to wpływ na reakcję Hilla w zależności od budowy chemicznej przedyskutowano już wcześniej.

Z literatury (Crafts 1961; Płoszyński 1966; Świętochowski i inni 1966) wiadomo, że fitotoksyczny wpływ trójazyn przejawia się wyraźnie w redukcji plonów suchej masy oraz w obniżeniu zawartości cukrów i wzroście zawartości wolnych aminokwasów. Dlatego też wskaźniki te przyjęto jako zasadnicze kryteria przy ocenie fitotoksycznego wpływu herbicydów trójazynowych na rośliny.

METODYKA

Badania prowadzono w kontrolowanych warunkach szklarniowych przy naturalnym oświetleniu zakładając szereg krótkotrwałych doświadczeń wegetacyjnych zgodnie z metodyką badań herbicydowych, opisaną przez Świętochowskiego i współpracowników (Płoszyński 1966; Świętochowski i inni 1966). Rośliny uprawiano w kubkach parafinowanych o następujących wymiarach: średnica podstawy 8,5 cm, wysokość 8,5 cm, średnica górna 10 cm.

Jako podłoże stosowano glebę lekką (piasek słabo gliniasty), o odczynie lekko kwaśnym (pH w $\text{KCl} = 5,8$), zawierającą 0,5% węgla organicznego oraz 8,0 mg P_2O_5 i 6,0 mg K_2O przyswajalnego (wg Egnera) na 100 g gleby.

W doświadczeniach stosowano preparaty trójazynowe, wyprodukowane przez firmę „J. R. Geigy A. G.” w Bazylei (Szwajcaria), zawierające 50% substancji aktywnej. Były to: simazin, atrazin, propazin (chloro-trójazyny), atraton, prometon (metoksy-trójazyny) i prometryn (metylotio-trójazyna).

Przed siewem roślin testowych zastosowano herbicydy dogłębowo w postaci zawiesiny wodnej, dokładnie mieszając te preparaty z całą ilością gleby, przypadającej na jeden kubek. Równocześnie z herbicydami dodawano jeszcze do gleby nawożenia podstawowe NPK w postaci wodnych roztworów NH_4NO_3 , KH_2PO_4 i K_2SO_4 , stosując dawki

po 25 mg czystego składnika na kubek, zawierający 400 g gleby. Na tak przygotowanym i umieszczonym w kubkach parafinowanych podłożu glebowym wysiewano nasiona odpowiednich roślin testowych. Po wschodach i przerywce do jednakowej ilości roślin, kubki podlewano codziennie do stałej wagi utrzymując wilgotność gleby na poziomie 50% maksymalnej pojemności wodnej. Doświadczenia prowadzono do momentu całkowitego zniszczenia roślin przez herbicydy na co najmniej jednym obiekcie. Średnia dzienna temperatura szklarni w trakcie trwania doświadczeń wahała się wg rejestracji termografu w granicach 20—23°C, natomiast w nocy wynosiła ona 15—17°C. Wilgotność powietrza w tym pomieszczeniu, zgodnie z rejestracją hygrografu, wahała się w granicach 65—87% wilgotności względnej.

Każde doświadczenie posiadało 7 obiektów (kontrola i 6 obiektów z herbicydami) w odpowiedniej ilości powtórzeń. Ogółem przeprowadzono 10 doświadczeń stosując w nich jako rośliny testowe kukurydzę, pszenicę, jęczmień, gorczycę, grykę, pieprzycę, len, buraki, prosówkę i owies.

W trakcie wegetacji w każdym doświadczeniu co pewien okres ścinano rośliny z dwóch powtórzeń każdego obiektu i określano dynamikę plonów świeżej i suchej masy. W uzyskanym materiale roślinnym przeprowadzano chromatograficzne oznaczanie zawartości cukrów i wolnych aminokwasów (Płoszyński 1966; Świętochowski i inni 1966). Stosowano tutaj metodę chromatografii bibułowej wstępującej w układzie n-butanol—kwas—octowy—woda (4 : 1 : 1). Chromatogramy rozwijano trzykrotnie. Aminokwasy wywoływano ninhydryną, aldozy ftalanem aniliny, a ketozy odczynnikiem antronowym. Interpretację ilościową aminokwasów wykonywano densytometrycznie, a cukrów przez porównanie badanych plam z wielkością i natężeniem plam wzorców.

Przedstawienie dynamiki badanych wielkości z wszystkich terminów pobierania próbek byłoby bardzo trudne ze względów technicznych i dlatego też ograniczono się jedynie do podania najważniejszych wyników uzyskanych w końcowych fazach poszczególnych doświadczeń.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W tabeli 2 podano w procentach kontroli uzyskane pod wpływem herbicydów w końcowych fazach doświadczeń plony suchej masy badanych roślin.

W tabeli 3 zestawiono sumy zawartości heksoz i sacharozy, a w tabeli 4 sumy zawartości wolnych aminokwasów oznaczonych w częściach nadziemnych różnych siewek roślin kontrolnych i traktowa-

nych herbicydami. Dane w tabelach 3 i 4 reprezentują analizy materiału roślinnego przedstawionego w tabeli 2.

Przedstawione w tabelach 2, 3 i 4 wyniki wskazują na wzajemną korelację przyjętych kryteriów oceny fitotoksycznego wpływu trójazyn. Silniejszym spadkom plonów suchej masy (tabela 2) z reguły towarzyszą większe obniżenia zawartości cukrów (tabela 3) i znaczniejsze wzrosty zawartości wolnych aminokwasów (tabela 4).

Analiza wartości liczbowych tabel wskazuje, że fitotoksyczność preparatów na ogół maleje w następującej kolejności: atrazin, simazin, propazin (chloro-trójazyny), atraton, prometon (metoksy-trójazyny) i prometryn (metylotio-trójazyna). Z tej kolejności preparatów wynika, że ich fitotoksyczność głównie zależy od podstawników na węglu 2 pierścienia trójazynowego i obniża się w uszeregowaniu $\text{Cl} > \text{OCH}_3 > \text{SCH}_3$. Wyniki te znajdują swoje potwierdzenie także w innych pracach (Crafts 1962; Hilton, Nomura 1964). Jedynym wyjątkiem z 10 badanych roślin była kukurydza, na którą chlorotrójazyny nawet w dużych dawkach w ogóle nie działały. Fitotoksyczność zaś prometrynu była nieco wyższa niż atratonu i prometonu. Ta odmienność zachowania się kukurydzy wypływa raczej z faktu, że kukurydza, zgodnie z literaturą (Castelfranco i inni 1961; Crafts 1961; Roth, Knuesli 1961), nie ma zdolności detoksykacji metoksy- i metylotio-trójazyn, natomiast w znacznym stopniu detoksykuje chloro-trójazyny przez zmianę ich struktury na nieaktywne hydroksy-trójazyny (które są silnie adsorbowane w korzeniach i łodygach i przypuszczalnie nie dochodzą one do chloroplastów).

Dane dotyczące powiązania budowy chemicznej trójazyn z ich fitotoksycznością w stosunku do 9 innych badanych roślin nie korelują z przedstawionymi na wstępie pracy w tabeli 1 wynikami wartości inhibicji reakcji Hilla powodowanymi przez te preparaty w izolowanych chloroplastach. Jak podaje tabela 1, ujemny wpływ trójazyn na tę reakcję uzależniony był głównie od podstawników na węglu 2 i malał w następującej kolejności: $\text{SCH}_3 > \text{OCH}_3 > \text{Cl}$, a więc w odwrotnej kolejności w stosunku do stwierdzonego w pracy wpływu tych podstawników na fitotoksyczność. Na tej podstawie opinia, że wielkość efektu fitotoksycznego trójazyn zależy zasadniczo od zdolności do inhibicji reakcji Hilla nie została potwierdzona. Występującą tu niezgodność można wytłumaczyć następująco: na fitotoksyczność omawianych herbicydów składają się nie tylko zdolności do wywołania określonej inhibicji reakcji Hilla, lecz także inne czynniki, często o decydującym znaczeniu, wpływające na pobieranie i osiągnięcie przez herbicydy ich miejsca działania (chloroplastów) w żywej roślinie. Zgodnie z literaturą (Shaw 1964) herbicydy przechodzą długą drogę „z barierami i przeszkodami” zanim zostaną pobrane z gleby i osiągną miejsce

Tabela 2 — Table 2

Wpływ niektórych herbicydów trójazynowych na plony suchej masy różnych roślin

Plony w % kontroli

Influence of some triazine herbicides on crops of dry weight of different plants

Crops in % of control

Rośliny testowe Test plants	Dawki herbicydów w mg/kubek Doses of herbicides in mg/cup	Ścięcie roślin Liczba dni po wscho- dach Harvest of plants Days after emergence	Obiekty—Treatments					
			Prometryn Prometryne	Prometon Prometone	Atraton Atratone	Propazin Propazine	Simazin Simazine	
			Metylotio- trójazyna SCH ₃ na węglu 2 Methyltio- triazine SCH ₃ on carbon 2	Metoksy-trójazyny OCH ₃ na węglu 2 Methoxy-triazines OCH ₃ on carbon 2	Chloro-trójazyny Cl na węglu 2 Chloro-triazines Cl on carbon 2			
Pszennica Wheat	1,6	19	76	70	59	64	58	46
Jęczmień Barley	0,8	19	77	66	63	63	57	50
Len Flax	0,8	28	80	42	40	27	17	11
Buraki Sugar beets	0,4	9	80	39	39	30	24	19
Owies Oats	0,8	17	96	82	74	68	57	51
Gryka Buckwheat	0,8	9	65	58	50	40	37	29
Gorzycza Mustard	0,4	13	91	53	45	30	30	24
Pieprzycza Pepper grass	0,2	7	80	77	68	46	44	30
Prosówka Barnyard grass	0,8	25	95	52	46	40	27	13
Kukurydza Maize	8,0	20	60	69	62	98	98	104

Tabela 3 — Table 3

Porównanie fitotoksycznego wpływu niektórych herbicydów trójazynowych na obniżenie zawartości sacharozy i niektórych heksoz w częściach nadziemnych różnych roślin. Sumaryczną zawartość cukrów podano w mg/100 g suchej masy roślin
Dawki preparatów i terminy pobrania próbek jak w tabeli 2

Comparison of phytotoxic influence of some triazine herbicides on decrease of saccharose and some hexoses contents in upper parts of different plants. Total contents of saccharides are given in mg/100 g of dry weight of plants
Doses of herbicides and terms of sampling as in table 2

Rośliny testowe Test plants	Obiekty — Treatments						
	Kontrola Control	Prometryn Prometryne	Prometon Prometone	Atraton Atratone	Propazin Propazine	Simazin Simazine	Atrazin Atrazine
Pszenica Wheat	1872	498	204	158	186	88	72
Jęczmień Barley	1036	426	254	125	109	22	—
Len Flax	1660	1140	416	380	461	253	277
Buraki Sugar beets	1052	798	320	280	268	168	63
Owies Oats	1889	1276	757	303	78	75	25
Gryka Buckwheat	1076	417	270	214	200	118	86
Gorzyczka Mustard	850	700	336	200	+	—	—
Pieprzycza Pepper grass	710	454	100	30	—	—	—
Prosówka Barnyard grass	3181	1527	469	348	181	136	108
Kukurydza Maize	4155	124	714	520	3344	3406	4034

Tabela 4 — Table 4

Porównanie fitotoksycznego wpływu niektórych trójjazyn na wzrost zawartości wolnych aminokwasów w częściach nadziemnych różnych roślin. Sumaryczną zawartość wolnych aminokwasów podano w mg/100 g suchej masy roślinnej Dawki preparatów i terminy pobrania próbek jak w tabeli 2

Comparison of phytotoxic influence of some triazines on increase of free amino acids contents in upper parts of different plants. Total contents of amino acids are given in mg/100 g of dry weight of plants

Doses of herbicides and terms of sampling as in table 2

Rośliny testowe Test plants	Obiekty — Treatments						
	Kontrola Control	Prometryn Prometryne	Prometon Prometone	Atraton Atratone	Propazin Propazine	Simazin Simazine	Atrazin Atrazine
Pszenica Wheat	1127	3255	4262	4992	4562	5345	7109
Jęczmień Barley	1811	3270	4179	4661	4714	5674	6155
Len Flax	886	1340	1750	2082	2828	4171	5126
Buraki Sugar beets	505	619	1541	1778	2867	3386	4102
Owies Oats	1336	1904	2248	2835	5986	6634	7101
Gryka Buckwheat	1175	2282	2294	2830	3451	3847	4040
Gorczyca Mustard	388	583	2304	2981	3830	4129	4821
Pieprzyca Pepper grass	709	1134	1904	2192	2742	3096	3765
Prosówka Barnyard grass	862	1230	1795	1865	2237	2545	3238
Kukurudza Maize	700	6736	5509	5849	772	735	740

swego działania w roślinie. Te właśnie „bariery” w glebie i roślinach w bardzo istotny sposób wpływają na fitotoksyczność. Rośliny mogą w różnym stopniu pobierać z gleby i w określony sposób dezaktywować inhibitory trójazynowe poprzez ich adsorpcję w korzeniach, częściach nadziemnych, przez ich przemianę w nieaktywne hydroksy-powiązania, degradację pierścienia lub przez tworzenie nieaktywnych kompleksów herbicydowych ze składnikami roślin. Rozważania teoretyczne i wyniki pracy eksperymentalnej prowadzą więc do wniosku, że OCH_3 i SCH_3 podstawione trójazyny, potencjalnie lepsi partnerzy w tworzeniu wiązań wodorowych i silniejsze inhibitory reakcji Hilla od Cl-trójazyn, muszą być pobierane względnie dochodzić i wnikać do chloroplastów żywych roślin w mniejszych ilościach od tych ostatnich.

Pogląd ten wydaje się znajdować potwierdzenie w danych literaturowych (Swanson 1966), z których wynika, że u niektórych roślin w przeciwieństwie do kukurydzy, szybkość dezaktywacji i przemiany w nieaktywne hydroksy-pochodne jest dużo większa w wypadku metoksy- i metylotio-trójazyn, aniżeli w wypadku chloro-trójazyn. Z drugiej strony z pewnych doniesień (Sheets, Shaw 1963) można wywnioskować, że u szeregu roślin szybkość pobierania chloro-trójazyn jest wyższa od metoksy- i metylotio-trójazyn. Wreszcie samo wnikanie do chloroplastów może być bardziej uprzywilejowane dla chloro-trójazyn, gdyż zgodnie z opinią niektórych autorów (Hill, Moreland 1959) obecność chlorowca w pierścieniu ma duże znaczenie dla tego zjawiska. Przedstawiona interpretacja najlepiej wyjaśnia skomplikowany charakter współzależności pomiędzy zdolnością badanych preparatów do inhibicji reakcji Hilla, a ich fitotoksycznością. Wyciągnięcie innego wniosku mówiącego, że działanie fitotoksyczne preparatów trójazynowych na rośliny może nie być związane z ich wpływem na reakcję Hilla, nie wydaje się być słuszne.

Pomijając fakt, że stwierdzono na żywych roślinach działanie preparatów na hamowanie aktywności fotosyntetycznej można posłużyć się jeszcze innym argumentem. Chlorazin, który nie posiada aminowodorów, wykazuje bardzo słabe działanie hamujące na reakcję Hilla w izolowanych chloroplastach. Równocześnie cechuje go bardzo słaba fitotoksyczność, co może wskazywać na ścisły związek tych dwóch procesów.

Ostatnia możliwość, która tłumaczyłaby zwiększoną fitotoksyczność chloro-trójazyn w inny sposób, to założenie, że te preparaty mogą działać także na inny proces prócz reakcji Hilla, względnie że działają silniej od metoksy- i metylotio-trójazyn. Na to nie ma jednak jeszcze żadnych dowodów i doniesień w literaturze.

Mniejszy od podstawników przy węglu 2 wpływ na fitotoksyczność badanych preparatów mają inne podstawniki. Jak wskazują wyniki

tabeli 2, 3 i 4 — atrazin działa aktywniej od simazinu i propazinu. Tę względną różnicę w fitotoksyczności można wyjaśnić wpływem podstawników przy węglach 4 i 6 na rozpuszczalność porównywanych związków. Z pracy Pearlmana i Banksa (1948) wynika, że im więcej podstawników ma dany związek trójazynowy zamiast aminowodorów i mniej możliwych form tautomerycznych może tworzyć, tym wyższa jest jego rozpuszczalność. Z tego punktu widzenia zarówno atrazin, jak i simazin i propazin są strukturami równocennymi ze względu na symetryczne rozmieszczenie obu wodorów przy 4 i 6 podstawniku.

Jednakże simazin posiada przy węglu 4 i 6 jednakowe aminoetylowe podstawniki, propazin — aminoizopropylowe podstawniki, podczas gdy atrazin posiada przy węglu 4 — aminoetylowy, a przy 6 aminoizopropylowy. Wydaje się, że zróżnicowanie podstawników może powodować przesunięcie równowagi tautomerycznej na korzyść jednej formy, co w praktyce może doprowadzić do ograniczenia innej struktury i tym samym zgodnie z Pearlmanem i Banksem zwiększyć rozpuszczalność. Istotnie atrazin posiada rozpuszczalność w wodzie 70 ppm, simazin zaś 5,0, a propazin 8,6 (Crafts 1962). Zwiększona rozpuszczalność atrazinu może tłumaczyć obserwowaną w tabeli 2 zwiększoną fitotoksyczność w stosunku do simazinu i propazinu.

WNIOSKI

1. W badaniach nad fitotoksycznością trójazyn na pszenicę, jęczmień, gorczycę, grykę, pieprzycę, len, buraki, prosówkę i owies stwierdzono, że fitotoksyczność badanych preparatów malała w kolejności: atrazin, simazin, propazin (chloro-trójazyny), atraton, prometon (metoksy-trójazyny) i prometryn (metylotio-trójazyna).

2. Zgodnie z wnioskiem pierwszym można powiedzieć, że fitotoksyczność badanych preparatów zależy głównie od podstawników na węglu 2 pierścienia trójazynowego i maleje w uszeregowaniu $\text{Cl} > \text{OCH}_3 > \text{SCH}_3$.

3. Brak jest korelacji między stwierdzoną w pracy fitotoksycznością oraz podaną w literaturze zdolnością do inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach. Wielkość tej inhibicji, związana prawdopodobnie ze zdolnością trójazyn do tworzenia wiązań wodorowych z białkami, zależy istotnie od podstawników na węglu 2 pierścienia, obniża się jednak w odwrotnej kolejności podstawników (w porównaniu do wniosku 2) $\text{SCH}_3 > \text{OCH}_3 > \text{Cl}$.

4. Ten brak korelacji można wytłumaczyć w ten sposób, że fitotoksyczność wymienionych herbicydów zależy nie tylko od zdolności inhibicji reakcji Hilla, lecz także w istotnym stopniu od pobrania i zdol-

ności dotarcia i wnikania porównywanych preparatów do chloroplastów w roślinach. Warunki pobierania, transportu w roślinach względnie wnikanie aktywnych nie zmienionych struktur do chloroplastów muszą być korzystniejsze dla chlorotrójazyn od metoksy- i metylion-trójazyn.

5. Względne różnice w fitotoksyczności atrazinu, simazinu i propazinu mogą wynikać z ich rozmaitej rozpuszczalności w wodzie.

STRESZCZENIE

W teoretycznej części pracy przedyskutowano na podstawie literatury prawdopodobny mechanizm działania herbicydów trójazynowych na rośliny. Mechanizm ten dotyczy pierwszego etapu fotosyntezy i polega na tworzeniu wiązań wodorowych trójazyn z apoenzymem białkowym, powodujących dezaktywację enzymu uczestniczącego w procesie utleniania wody do tlenu. Przedstawiono możliwe powiązania u szeregu ważnych w praktyce herbicydów trójazynowych między zdolnością inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach a zdolnością tworzenia wiązań wodorowych z białkami. Dane te ujęto w korelacji ze strukturą herbicydów i wskazano na istotną rolę podstawników przy węglu 2 pierścienia trójazynowego w tworzeniu wiązań wodorowych przez trójazyny i inhibicji reakcji Hilla.

W części eksperymentalnej w kontrolowanych warunkach doświadczeń laboratoryjnych przebadano fitotoksyczność atrazinu, simazinu, propazinu, prometonu, atratonu i prometrynu w odniesieniu do różnych roślin. Zinterpretowano możliwe powiązania między fitotoksycznością badanych herbicydów a ich zdolnością do inhibicji reakcji Hilla w izolowanych chloroplastach.

Stwierdzono istotny wpływ podstawników na węglu 2 pierścienia trójazynowego na fitotoksyczność, ale uszeregowanie ich wpływu było odwrotne niż w wypadku izolowanych chloroplastów. Wyjaśniono ten problem uzależniając fitotoksyczność nie tylko od zdolności do wywołania efektu inhibicyjnego, ale w dużym stopniu od zdolności pobrania, dotarcia i wniknięcia preparatów do chloroplastów w żywych roślinach. Przedyskutowano także inne możliwości interpretacji. Wytlumaczono także wpływ podstawników przy węglu 4 i 6 pierścienia trójazynowego chloro-trójazyn na fitotoksyczność w oparciu o powiązania budowy ze zjawiskiem tautomerii i rozpuszczalności związków trójazynowych.

Zakład Uprawy Roli i Roślin

(Wpłynęło dn. 10.2.1968 r.)

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Laskowice*

SUMMARY

Basing on the literature the probable mechanism of triazine herbicides action on plants was discussed in the theoretical part of this paper. This mechanism, involving the first stage of photosynthesis, involves the hydrogen bonding of triazines with the protein apoenzyme causing desactivation of the enzyme taking part in the process of water oxidation to molecular oxygen.

The possible connections between the ability to inhibit the Hill reaction and the ability of forming hydrogen bondings with proteins of some triazine herbicides important in practice were presented. These data were given in correla-

tion with the structures of the herbicides and the important role of substituents, attached to the second carbon of the triazine ring, in the formation of hydrogen bondings by triazines and inhibition of the Hill reaction was shown.

In the experimental part under controlled conditions of laboratory experiments the phytotoxicity of atrazine, simazine, propazine, prometone, atratone and prometryne to various plants were investigated. The possible connections between the phytotoxicity of the herbicides examined and their ability to inhibit the Hill reaction are interpreted. The essential influence of substituents, attached to the second carbon of the triazine ring on phytotoxicity was confirmed, but the dependence of phytotoxicity on the kinds of substituents was quite opposite as in the case of isolated chloroplasts. The explanation given is that phytotoxicity depends not only on the ability of preparations to induce the inhibitory effect, but in high degree on the ability of uptake, translocation and permeability of the preparations to chloroplasts in living plants. Other possibilities of interpretation are also discussed. The influence of substituents, attached to carbons 4 and 6 of the triazine ring of chlorotriazines, on phytotoxicity was interpreted on the basis of the connections of the structures with the tautomeric phenomenon and the solubilities of s-triazine herbicides.

LITERATURA

- Ashton P. M., Zweig G., Mason G., 1960, *Weeds* 8 (3): 448—451.
- Castelfranco P., Foy C. L., Deutsch D. E., 1961, *Weeds* 40: 580—591.
- Crafts A. S., 1961, *The chemistry and mode of action of herbicides*, pp. 269, Intersc. Publ., New York.
- Cram D. J., Hammond G. S., 1963, *Chemia organiczna*, pp. 710, WNT, Warszawa.
- Davies D. D., Giovanelli J., Roëes T., 1964, *Plant Biochemistry*, pp. 512, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Exter B., 1961, *Weed Res.* 1: 233—244., *Chem. Abstr.* 1962, 1554 g.
- Exter B., 1958, *Experientia* 14: 136—137, *Chem. Abstr.* 1958, 18869 b.
- Good N., 1961, *Plant. Physiol.* 36: 788—803.
- Hill K. L., Moreland D. E., 1959, *J. Agric. Food Chem.* 7 (2): 832—837.
- Hilton H. M., Nomura N., 1964, *Weed. Res.* 4 (3): 216—222.
- Hisso Negita, 1958, *I. Sci. Hiroshima Univ. Ser. A.* 21: 261—269, *Chem. Abstr.* 1964, 6152 c.
- Laskowski M., Scherraga H. A., 1954, *J. Amer. Chem. Soc.* 76: 6305—6319.
- Łobow W. P., Jefimow G. A., 1963, „Pesticidy”, Gosudarstwiennyje Izdatielstwo, Kijów.
- Masztakow S. M., Prokoreczik R. A., 1960, *Dokł. Akad. Nauk. Biełorusk. SSSR* 7: 555—560, *Chem. Abstr.* 1964, 2264 c.
- Mecke R., 1948, *Z. Elektrochem.* 52: 107—110, *Chem. Abstr.* 1949, 8765 f.
- Moreland D. E., 1963, *Proceedings Northeastern Weed Control Conf. Suppl. to vol. 17*: 105—110.
- Moreland D. E., Gentner W. A., Hilton J. L., Hill K. L., 1959, *Plant Physiol.* 34: 432—435.
- Nowotny-Mieczyska A., 1964, *Fizjologia mineralnego żywienia roślin*, pp. 600, PWRiL, Warszawa.
- Van Overbeek J., 1962, *Weeds* 10 (3): 170—173.
- Van Overbeek J., 1964, *Biochemistry and Physiology of Herbicides*, pp. 555, Audus L. J., Academic Press, London.

- Pearlman W. M., Banks C. K., 1948, J. Amer. Chem. Soc. 70: 3726—3728.
- Płoszyński M., 1966, Praca doktorska, Politechnika Wrocławska.
- Roth W., 1958, Experientia 14: 137—138, Chem. Abstr. 1958, 18869 c.
- Roth W., Knuesli E., 1961, Experientia 17: 312—313, Chem. Abstr. 1962, 734 c.
- Setlow R., Pollard E., 1964, Molekularna biofizyka, pp. 436, Izdat. Mir. Moskwa.
- Shaw W. C., 1964, Weeds 3 (12): 153—163.
- Sheets T. J., Shaw W. C., 1963, Weeds 1: 15—21.
- Swanson C., 1966, Isotopes in Weed Research, International Atomic Energy Agency, Vienna: 135—145.
- Świętochowski B., Żurawski H., Piss J., 1962, Zesz. Nauk. WSR Wrocław 46: 74—81.
- Świętochowski B., Płoszyński M., Żurawski H., 1966, Pam. Puł. 21: 211—225.
- Wilmschurt I. K., 1958, J. Chem. Phys. 28: 733—735, Chem. Abstr. 1958, 12481 a.