

Inhibitory biosyntézy karotenoidů

HERBICIDE MODE OF ACTIONS AND SYMPTOMS OF PLANT INJURY BY HERBICIDES:
CAROTENOID BIOSYNTHESIS INHIBITORS

Miroslav Jursík, Josef Soukup, Josef Holec, Veronika Venclová
Česká zemědělská univerzita v Praze

Hlavní funkcí karotenoidů je ochrana chlorofylu. Pokud molekuly chlorofylu absorbují více světelné energie, než může být využito pro přenos elektronů, dochází k aktivaci kyslíku, jehož některé formy (singulární kyslík) mají destruktivní účinky na chlorofyl. Pokud je ale nadbytečná energie převedena ke karotenoidům, zneškodní se přeměnou na teplo. Tato funkce karotenoidů je pro život rostlin nezbytná (1). Karotenoidy mají nejčastěji žlutou, oranžovou nebo červenou barvu. Jde asi o 30 bezkyslíkatých α -karotenů a β -karotenů a kyslíkatých xantofylů.

Většina herbicidů inhibujících syntézu karotenoidů patří mezi moderní účinné látky s příznivým ekotoxikologickým profilem. Tyto herbicidy je však obvykle nutné aplikovat v co nejranějších růstových fázích plevelů (některé i před jejich vzejitím), neboť starší rostlinná pletiva již obvykle obsahují vyšší hladinu karotenoidů a inhibice jejich další syntézy již není dostatečně účinná.

Inhibitory syntézy *p*-hydroxyfenyl pyruvát dioxygenázy (HPPD inhibitory)

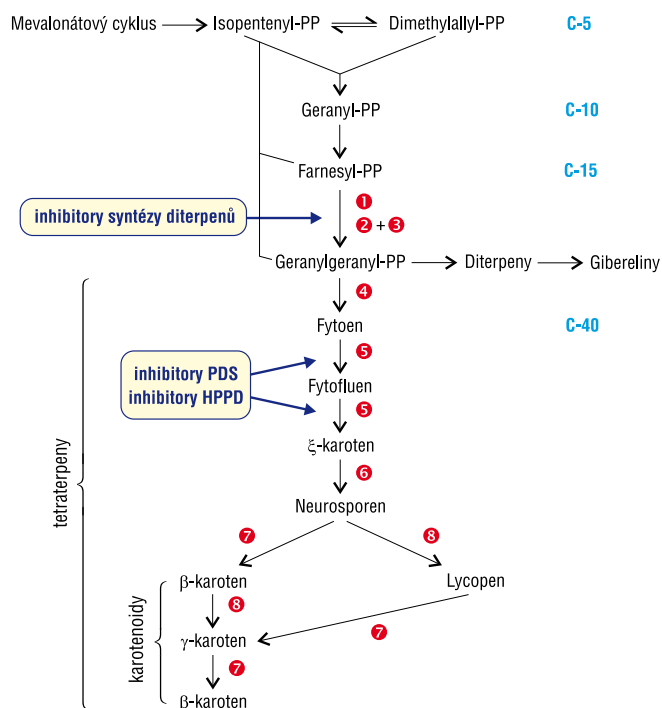
p-hydroxyfenyl pyruvát dioxygenáza (HPPD) je důležitým enzymem anabolického řetězce karotenoidových barviv (obr. 1.). HPPD jednak katalyzuje biosyntézu plastochinonu (PQ) z tyrosinu a současně syntézu α -tokoferolu (důležitý antioxidant). Inhibice těchto pochodů ovlivňuje současně fotosyntézu i biosyntézu karotenoidů, protože PQ slouží jako redoxní prvek

pro oba procesy – je kofaktorem enzymu fytoendesaturázy v mevalonátovém cyklu (viz. PDS inhibitory), a také se uplatňuje při přenosu protonů a elektronů na thylakoidní membráně chloroplastů (světelná fáze fotosyntézy).

Následkem inhibice HPPD dochází k zastavení tvorby asimilátů s následkem letálního narušení látkové výměny citlivých rostlin. Dalším účinkem je porušení chlorofylu a následně i celých chloroplastů v důsledku ztráty ochranných funkcí tokoferolu a karotenoidů. Poškození se projevuje výraznou albifikací listů v důsledku rozpadu chlorofylu, tzv. bleaching (obr. 2.), následně pletiva nekrotizují (obr. 3.) a rostlina umírá.

Herbicidy inhibující HPPD (isoxazoly a triketony) jsou přijímány kořeny i listy rostlin, přičemž u některých převažuje kořenový a u jiných listový příjem. V rostlině jsou rozváděny obvykle pouze xylémem.

Obr. 1. Schematické znázornění míst působení inhibitorů karotenoidů (katalyzující enzymy: ① IPP isomeráza, ② farnesyl-PP syntáza, ③ GGPP syntáza, ④ fytoen syntáza, ⑤ fytoen desaturáza, ⑥ ξ -karoten desaturáza, ⑦ cykláza, ⑧ desaturáza)



Tab. 1. Členění inhibitorů biosyntézy karotenoidů

Mechanismus působení	Chemická skupina	Účinná látka	Herbicid
HPPD inhibitory	Isoxazoly	isoxaflutole	Merlin
	Triketony	mesotrione sulcotrione tembotrione	Callisto Mikado Laudis
PDS inhibitory	Pyrolidiny	flurochloridone	Racer
	Karboxamidy	diflufenican	Brodal Legato Cougar
	Amidy	beflubutamid	Herbaflex
Inhibitory diterpenů	Isoxazolidinony	clomazone	Command Cirrus Brasan

Isoxaflutole (Merlin) se používá jako širokospektrální preemergentní herbicid v kukuřici a máku (v kukuřici je možné i časné postemergentní použití, u nás však není registrováno). Určitým problémem tohoto herbicidu je jeho nižší selektivita (obr. 4.), která se projevuje především na lehčích půdách a na půdách s vyšším pH (2), kde je třeba volit nižší dávky, případně od použití tohoto herbicidu upustit (mák). V půdě je *isoxaflutole* velmi rychle hydrolyzován na herbicidně aktivní formu (derivát diketonitrilu), která je ve vodě velmi dobře rozpustná a poměrně dlouze perzistentní. Jeho použití na lehkých půdách a na půdách s vysokou hladinou podzemní vody je tedy omezeno. Hydrolýza *isoxaflutole* je chemickou reakcí, přičemž biologická aktivita půdy má na jeho hydrolýzu pouze malý vliv. Vzniklý derivát diketonitrilu je následně metabolizován na neaktivní kyselinu benzoovou (3, 4). Degradace *isoxaflutole* je výrazně rychlejší ve vlhké půdě a za tepla. Za sucha a při nižších teplotách může být poločas jeho rozpadu až 96 dní (5). Transformace (degradace) diketonitrilu je navíc významně podporována mikrobiálními procesy, na biologicky aktivnějších půdách je proto degradace rychlejší.

Mesotrione (Callisto), *tembotrione* (Laudis) a *sulcotrione* (Mikado) jsou velmi selektivní herbicidy (6) určené k regulaci jednoletých dvouděložných i trávovitých plevelů v kukuřici (*mesotrione* a *tembotrione* lze použít rovněž v máku). Dobrou účinnost vykazují tyto přípravky především při časné postemergentní aplikaci (*mesotrione* ve fázi 2–4 pravých listů, ježatka kuří noha 2 listy; *tembotrione* i ve vyšších růstových fázích). Rezi-duální působení těchto herbicidů však nemusí být dostatečně dlouhé (především u *tembotrione*), to může být problém při pomalejším zapojování řádků kukuřice (chladné počasí) a vysoké půdní zásobě semen plevelů. Při opožděné aplikaci těchto herbicidů (platí především pro *mesotrione* a *sulcotrione*) naopak může dojít k regeneraci plevelů a konečná účinnost nemusí být dostatečná (především u trávovitých plevelů). Poločas rozkladu (45–65 dní) a chování v prostředí jsou u těchto herbicidů podobné (7).

Úlet, případně rezidua těchto herbicidů v půdě, se projevují na cukrovce vybělením pletiv listů (obr. 2.), které bývá někdy doprovázeno antokyanovým nádechem u nejmladších listů. Obdobně se projevuje také poškození cukrovky dalšími, níže uvedenými inhibitory biosyntézy karotenoidů.

Inhibitory fytoendesaturázy (PDS)

Tato skupina herbicidů narušuje mevalonátový cyklus tím, že inhibuje enzym fytoendesaturázu (PDS), esenciální enzym při syntéze karotenoidů (zejména β -karotenu), který se nachází v lamelách chloroplastů (obr. 1.). PDS katalyzuje přeměnu

Obr. 2. Poškození řepy způsobené herbicidem Callisto 480 SC (*mesotrione*) – týden po aplikaci dochází k vybělení listových pletiv (od nejmladších listů)



Obr. 3. Poškození cukrovky způsobené herbicidem Callisto 480 SC – dva týdny po aplikaci dochází k nekrotizaci listové plochy a rostliny následně hynou



Obr. 4. Poškození kukuřice herbicidem Merlin 750 WG (*isoxaflutole*) po přivalových srážkách se projevuje především na souvatích (mělčí setí a přestříčky)



Obr. 5. K poškození slunečnice herbicidem Racer 25 EC (flurochloridone) dochází obvykle na lehčích půdách po intenzivních srážkách krátce po aplikaci, rostliny slunečnice však obvykle rychle regenerují



15-*cis*-fytouenu na fytofluen, ze kterého následně vzniká ξ -karoten (8). V důsledku fotooxidace (absence ochranných pigmentů) dojde k rozpadu chlorofylu (albifikace) a rostlina následně umírá na vyhladovění (neasimuluje).

Chemicky jsou PDS inhibitory poměrně členitou skupinou (karboxamidy, pyrolidiny, některé pyridazinony a další), z nichž významnější uplatnění nachází pouze *flurochloridone* (Racer),

Obr. 6. Opožděná aplikace PDS inhibitorů (*diflufenican*) způsobuje u odolnějších druhů (svízel přítula) pouze poškození postraních výhonů, zatímco apikální část zůstává nezasážená



diflufenican (Cougar, Brodal) a *beflubutamid* (Herbaflex). Jde o půdní herbicidy (převažuje kořenový příjem), určené především pro preemergentní, resp. časnou postemergentní aplikaci v řadě plodin. Velmi důležité je proto hlubší setí, kterým se minimalizuje riziko fyto toxicity (obr. 5.). Herbicidy z této skupiny se vyznačují poměrně širokým spektrem působení (dvouděložné i trávovité plevele) včetně odolnějších druhů. Ošetření přerostlých plevelů (6 a více pravých listů) však vyvolává pouze dočasné vybělení a méně citlivé plevele často regenerují (obr. 6.). V rostlině jsou translokovány pouze xylémem. V půdě mají tyto herbicidy střední až dlouhou perzistenci, přičemž jsou rozkládány především mikrobiálně. Např. poločas rozpadu *diflufenicanu* je asi 14 dní, nicméně DT90, tedy doba za kterou proběhne 90% rozklad, je 228 dní (9).

Poškození plodiny způsobené těmito herbicidy je obdobné jako u herbicidů z předchozí skupiny, přičemž antokyanové zabarvení vybělených pletiv bývá častější (obr. 7.).

Inhibitory syntézy diterpenů

Jedinou účinnou látkou inhibující syntézu diterpenů je *clomazone* (Command, Cirrus, Brasan). Podobně jako PDS inhibitory, také *clomazone* narušuje mevalonátový cyklus, působí však již na jeho začátku, takže je narušena tvorba nejen tetraaterpenů (β -karoten), ale také diterpenů (obr. 1.). Diterpeny jsou prekurzory giberelinů a tvoří také koncovou část molekuly chlorofylu. Blokován je enzym 1-deoxy-D-xylulózo-5-fosfát syntáza, který katalyzuje přeměnu farnesyl-pyrofosfátu na geranyl-pyrofosfát (10).

Ačkoliv je *clomazone* přijímán kořeny i listy rostlin (prostřednictvím koleoptile u trav a hypokotylem u dvouděložných rostlin) používá se pouze jako půdní preemergentní herbicid, především kvůli jeho snížené metabolické selektivitě k většině plodin (selektivita je obvykle podmíněná pozičně - hlubší setí). Ošetření přerostlých plevelů vyvolává pouze dočasné vybělení. V rostlině se *clomazone* pohybuje xylémem (translokace floémem je omezená). Využívá se především jako partner do TM kombinací (brambory, řepka), nebo jako součást vícenosložkového herbicidu (Brasan) k zajištění dostatečné účinnosti na svízel přítula v řepce. Ve vyšší dávce však působí také na další, především dvouděložné plevele.

Poškození způsobené účinnou látkou *clomazone* se projevuje zakrňováním (nedostatek giberelinů), ale především výraznou albifikací (symptomy jsou obdobné jako u výše uvedených herbicidů). *Clomazone* se vyznačuje vysokou rozpustností ve vodě a relativně vysokou pohyblivostí v půdě. Nižší pohyblivost (vyšší sorpce) je pouze na půdách s vysokým obsahem humusu, resp. huminových kyselin (11), na ostatních pozemcích mohou intenzivní srážky po aplikaci, především na svažitéjších pozemcích a při použití vyšší dávky přípravku způsobovat silnou fyto toxicitu plodiny, především řepky (obr. 8.). Z tohoto hlediska je také třeba dodržovat termín ošetření, neboť pokud je aplikace provedena později, zvyšuje se riziko poškození plodiny. U řepky je rovněž velmi důležité včasné setí, neboť pozdní výsevy se vyvíjejí pomaleji (chladnější počasí) a kritická fáze plodiny (do 3–4 listů) trvá déle.

Úlet herbicidu obsahující účinnou látku *clomazone* na sousední porosty obvykle nezpůsobí zásadnější fyto toxicitu. V případě řepy a mrkve

obvykle úlet (1–20 % registrované dávky přípravku) nezpůsobí výraznější poškození (12), které nikterak nesníží výnos bulev, resp. kořene.

Tato práce vznikla za podpory projektu MSM 6046070901 a NAZV QH71254.

Abstrakt

Hlavní funkcí karotenoidů je ochrana chlorofylu. Poškození herbicidy působícími na biosyntézu karotenoidů se projevuje výraznou albifikací listů od vegetačního vrcholu v důsledku rozpadu chlorofylu (tzv. bleaching). Herbicidy inhibující HPPD (*isoxaflutole*, *mesotrione*, *tembotrione*, atd.) se používají k preemergentní i časné postemergentní aplikaci v kukuřici a některé také v máku. PDS inhibitory (*flurochloridone*, *diflufenican* a *beflubutamid*) jsou půdní herbicidy určené především pro preemergentní, resp. časnou postemergentní aplikaci v řadě plodin (obilniny, slunečnice, brambory, atd.). Metabolická selektivita těchto herbicidů k plodině je často nízká a proto je velmi důležité hlubší setí, kterým se minimalizuje riziko fytotoxicity. Jedinou účinnou látkou inhibující syntézu diterpenů je *clomazone*, který se používá pouze jako preemergentní herbicid, především kvůli jeho snížené metabolické selektivitě k většině plodin. *Clomazone* se vyznačuje vysokou rozpustností ve vodě a relativně vysokou pohyblivostí v půdě. Intenzivní srážky po aplikaci, především na svazitejších pozemcích a při použití vyšší dávky, mohou způsobovat silnou fytotoxicitu plodiny, především řepky.

Klíčová slova: mechanismus působení herbicidů, místo působení herbicidů, HPPD inhibitory, PDS inhibitory, inhibitory diterpenů, cukrovka, fytotoxicita.

Literatura

1. GLOSER J.: *Fyziologie rostlin*. Masarykova univerzita, Brno, 1995.
2. SOUKUP J. ET AL.: Influence of soil pH, rainfall, dosage, and application timing of herbicide Merlin 750 WG (isoxaflutole) on phytotoxicity level in maize (*Zea mays*). *Plant Soil Environ.*, 50, 2004, s. 90–96.

Obr. 7. Poškození PDS inhibitory (diflufenican) se u některých rostlin projevuje výrazným antokyanovým zabarvením (psárka polní)



3. LIN C. H. ET AL: Determination of isoxaflutole (Balance) and its metabolites in water using solid phase extraction followed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet or mass spectrometry. *J. Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2002, s. 5816–5824.
4. BELTRAN E: Fate and behaviour of the herbicide Isoxaflutole in the environment. Studies under controlled and natural conditions. *Actualite Chimique*, 6, 2003, s. 10–14.
5. TAYLOR-LOVELL S., SIMS G. K., WAX L. M.: Effect of moisture, temperature, and biological activity on the degradation of isoxaflutole in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2002 (20), s. 5626–5633.
6. PANNACCI E., COVERELLI G.: Efficacy of mesotrione at reduced doses for postemergence weed control in maize (*Zea mays* L.). *Crop Protection*, 28, 2009, s. 57–61.

Obr. 8. K poškození řepky účinnou látkou clomazone (Command) dochází obvykle na lehčích půdách po intenzivních srážkách následujících po aplikaci – riziko poškození je větší při opožděném setí



7. CHAABANE H. ET AL.: Behaviour of sulcotrione and mesotrione in two soils. *Pest Management Science*, 64, 2008, s. 86–93.
8. READE P. H., COBB A. H.: Herbicides: Mode of Action and Metabolism. In: NAYLOR R. E. L.: *Weed Management Handbook*. British Crop Protection Council, Blackwell Science, Oxford, 2002.
9. CONTE E. ET AL.: Long-term degradation and potential plant uptake of diflufenican under field conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1998, s. 4766–4770.
10. VENCILL W.K.: *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of America, Champaign, 2002.
11. GUNASEKARA A. S. ET AL.: The behavior of clomazone in the soil environment. *Pest management Science*, 65, 2009, s. 711–716.
12. RIGOLI R. P. ET AL.: Response of beetroot (*Beta vulgaris*) and carrot (*Daucus carota*) to simulated glyphosate and clomazone drift. *Planta Daninba*, 28, 2008, s. 451–456.

Jursík M., Soukup J., Holec J., Venclová V.: Herbicide mode of actions and symptoms of plant injury by herbicides: Carotenoid biosyn- thesis inhibitors

The main function of carotenoids is chlorophyll protection. Plant injury by herbicides affecting carotenoid biosynthesis can be detected by significant leaf albification (bleaching) starting at apical growing point as a result of chlorophyll destruction. HPPD inhibitors (*isoxaflutole*, *mesotrione*, *tembotrione*, etc.) are used for pre-emergent and also early post-emergent applications in maize stands, some of them also in poppy. PDS inhibitors (*flurochloridone*, *diflufenican*, and *beflubutamid*) are soil applied herbicides for pre-emergent and early post-emergent applications in wide range of crops (cereals, sunflower, potatoes, and others). Metabolic selectivity of these herbicides to crop species is often low and so it is necessary to use deeper sowing which can minimize the risk of phytotoxicity. *Clomazone* is the only active ingredient to inhibit diterpenes synthesis. This active ingredient is used only as a pre-emergent herbicide due to its decreased metabolic selectivity to the majority of crop species. *Clomazone* shows high water solubility and relatively high level of movement in the soil. Intensive rainfall immediately after application, especially on slopes and when higher dose is used, can result in high crop injury, especially in the case of oilseed rape.

Key words: herbicide mode of action, herbicide site of action, HPPD inhibitors, PDS inhibitors, diterpenes inhibitors, sugar beet, phytotoxicity.

Kontaktní adresa – Contact address:

Ing. Miroslav Jursík, Ph. D., Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 Suchdol, Česká republika, e-mail: jursik@af.czu.cz