

Mehanizmi biorazgradnje herbicida

Baćan Peškir, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:848798>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Matea Bačan Peškir

MEHANIZMI BIORAZGRADNJE HERBICIDA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Dragana Vuk

Članovi ispitnog povjerenstva: doc.dr. sc. Dragana Vuk

prof.dr.sc. Marija Vuković Domanovac

prof.dr.sc. Zvezdana Findrik Blažević

Zagreb, rujan 2020.

Sažetak

Herbicidi su najučinkovitiji i financijski najisplativiji način borbe protiv korova. Unatoč razvoju korova koji su otporni na herbicide, industrija herbicida se razvija, a upotreba povećava. Međutim, prilikom uporabe važno je održati sigurnosne uvijete kako ne bi došlo do zdravstvenih problema kod ljudi ili zagađenja okoliša. Nakon što herbicid dospije u biljku, dio se troši, a dio se razgrađuje. Razgradnja može biti biološka, odnosno mikrobiološka, kemijska ili uz pomoć svjetlosnih zraka UV i vidljivog zračenja. U ovom radu prikazane su i objašnjene sheme biorazgradnje najčešće upotrebljivanih herbicida.

Ključne riječi: herbicidi, mehanizam razgradnje, biorazgradnja, mikroorganizmi

Summary

Herbicides are the most effective and economical way to control weeds. Despite the development of herbicide-resistant weeds, herbicide industry is evolving and its use is increasing. During their use it is important to maintain safety conditions so not to cause health problems to people or pollute the environment. After the herbicide gets into the plant, a part of it is spent, and the rest is decomposed. The decomposition can be biological, that is to say, microbiological, chemical or with the help of UV light rays or from the visible spectra. In this paper biodegradation schemes of the most commonly used herbicides are presented and explained.

Key words: herbicides, degradation mechanism, biodegradation, microorganisms

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Dragani Vuk na pomoći, strpljenju i stručnom vodstvu.

Zahvaljujem i svojoj obitelji i prijateljima koji su mi bili potpora tijekom studiranja. Hvala na strpljenju i ohrabrenju.

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1.TEORIJSKI DIO.....	2
1.1.Herbicidi.....	2
1.2.Povijesni pregled herbicida.....	5
1.3.Podjela herbicida.....	7
1.3.1 Podjela prema selektivnosti.....	7
1.3.2 Podjela prema vremenu korištenja.....	8
1.3.3.Podjela prema strukturi i toksičnosti.....	8
1.3.3.1. Derivati fenoksi kiselina.....	9
1.3.3.2. Derivati bipiridila.....	9
1.3.3.3. Uree i tiouree.....	10
1.3.3.4. Fosfonometil aminokiseline ili inhibitori biosinteze aromatskih kiselina.....	10
1.3.3.5. Inhibitori protoporfirinogen oksidaze.....	11
1.3.3.6. Triazini i triazoli.....	11
1.4.Mehanizam djelovanja herbicida.....	13
1.6.Kombinacije herbicida.....	16
1.7.Bioherbicidi.....	17
2.REZULTATI I RASPRAVA.....	19
2.1.Uvod.....	19
2.2.Uvjeti razgradnje herbicida.....	20
2.2.1.Tlo.....	20
2.2.2.Klima.....	20
2.2.3.Svojstva herbicida.....	21
2.3.Kemijska razgradnja herbicida.....	21
2.4.Fotokemijska razgradnja herbicida.....	22
2.5.Biološka razgradnja herbicida.....	23
2.6. Mehanizmi biorazgradnje herbicida.....	24
2.6.1.Klordinafop propargil.....	26
2.6. 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina.....	27
2.6.3.Atrazin.....	28
2.6.4.Metaklor.....	30
2.6.5.Diuron.....	31

2.6.6.Glifosat	32
2.6.7.Imazapir	33
2.6.8.Pendimentalin	34
2.6.9.Parakvat	36
3.ZAKLJUČAK	37
4.POPIS LITERATURE	38
5.ŽIVOTOPIS	41

UVOD

Herbicidi su vrsta kemijskih spojeva koji su otrovni za biljke, posebno one neželjene. U suvremenoj poljoprivredi ljudi se jako oslanjaju na herbicide, a oni omogućavaju maksimalnu količinu usjeva.¹

Korov zbog raznih mutacija postaje sve otporniji na herbicide, a to potiče poljoprivrednike da koriste više vrsta i veće količine herbicida.¹ Do selektivnosti herbicida dolazi zato što se razmnožavala biljka koja ima mutirani enzim te herbicid u tom slučaju ne zaustavlja reakciju ili zato što korov toliko brzo probavi herbicid da on ne stigne djelovati.²

Zbog prekomjerne upotrebe herbicida javlja se sve veća briga o zagađenju okoliša. Ovakvo zagađenje može dovesti do onečišćenja tla i vode što dovodi do smanjenja bioraznolikosti. Tek mali dio herbicida dospijeva u ciljani organizam što dovodi do utjecaja zaostalog herbicida na žive organizme, biljke, životinje i ljude. Kemijska svojstva i količina herbicida određuju njihovu toksičnost i postojanost u okolišu¹

Nakon primjene i apsorpcije herbicidi su izloženi učinku raznih kemijskih reaktivnih vrsta, oksida, peroksida i singletnog oksida ili učinku mikroorganizama, enzima, biljaka i životinja. Zbog takvih utjecaja oni se razgrađuju. Razgradnja, može biti biološka, kemijska ili fotoliza. Vrsta razgradnje i stupanj razgradnje ovise o prisutnosti enzima i reaktivnih vrsta kao i o tlu i klimi.³

Uobičajeno korišteni herbicidi štetni su za žive organizme čak i u maloj količini te se zato trenutno razvija strategija kako na ekonomičan i prihvatljiv način dobiti netoksične proizvode.¹

Cilj ovog rada je navesti, prikazati i objasniti kemijske reakcije koje se događaju prilikom biorazgradnje herbicida. Mehanizmi biorazgradnje i njihovi produkti prikazani su na primjeru sljedećih herbicida, klordinafop-propargil, 2,4-diklorofenoksiocetna kiselina, atrazin, metolaklor, diuron, glifosat, imazapir, pendimetalin, parakvat.

1. TEORIJSKI DIO

1.1. Herbicidi

Herbicidi su kemijski spojevi koji se koriste kako bi se kontrolirao ili zaustavio rast korova.⁴ Upotreba herbicida čini 48% svjetske upotrebe svih pesticida. Kako herbicide čine mnogi kemijski spojevi, potrebno je paziti kakav će utjecaj imati na zdravlje ljudi i životinja. Neodgovorna i pretjerana upotreba ostavljaju štetne posljedice na zdravlje, a probleme izaziva i neodgovorno odlaganje ambalaže u kojoj su bili pesticidi. U zadnje vrijeme sve veću zabrinutost izaziva i činjenica da herbicidi putem tla ulaze u vodu koja se koristi za piće.⁵ Zbog zagađenja može doći do ekoloških gubitaka, a oni mogu rezultirati ekonomskim i estetskim problemima kao i društveno važnim problemima. Zagađivači uzrokuju probleme prijenosom toksina kroz biosustave ili konzumiranjem hrane koja je adsorbirala toksine, što zatim uzrokuje probleme i mutacije na razini stanice.⁶

Izloženost herbicidima dovodi do stvaranja reaktivnih oksidativnih vrsta, odnosno slobodnih radikala s nesparenim elektronima kao što su superoksidni anion i hidroksilni radikal. Prisutnost nesparenih elektrona čini molekulu jako reaktivnom. U normalnim situacijama slobodni radikali su neutralizirani antioksidansima, no prilikom ovakvog poremećaja ravnoteže dolazi do oksidativnog stresa, a on uzrokuje razne bolesti kao što su rak, dijabetes, respiratorne bolesti i hipertenzija.⁷

U idealnom slučaju herbicidi su stvoreni kako bi uništavali samo neželjene biljke i korove. Svaki dobavljač herbicida dužan je korisniku pružiti sve sigurnosne propise i upute za korištenje, a korisnik je dužan pridržavati ih se kako nitko ne bi bio doveden u opasnost. Problem sigurnosti i ispravnosti korištenja nisu vezani samo uz konačnog potrošača proizvoda već i uz farmere, poljoprivrednike kao i osobe koje uzgajaju neku kulturu za osobnu upotrebu. Svjetski problem je i utjecaj herbicida na pitku vodu. Javljaju se sve veća ograničenja prilikom korištenja, a prisutne su i zabrane. Ono što bi pomoglo je razvoj biorazgradivog herbicida koji bi ostavljao minimalne tragove u okolišu.⁴

Utjecaj herbicida kod osoba koje ih koriste ovisi o uvjetima, no kod prevelike koncentracije on može biti smrtonosan, stoga je važno držati se svih uputa te ljude koji rade s herbicidima redovito obrazovati o sigurnosnim mjerama. Opremu je potrebno često pregledavati, a potrebno

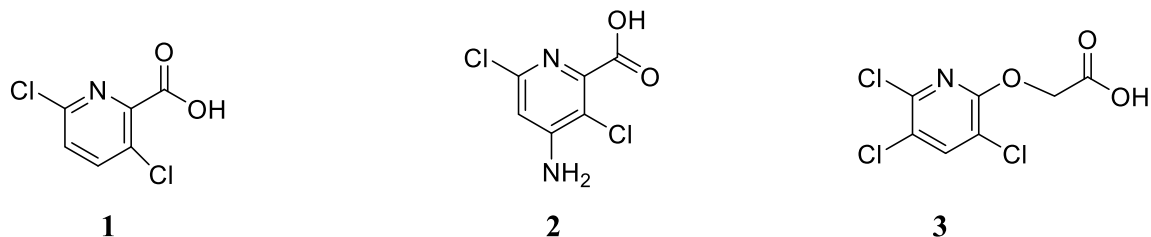
je i znati što učiniti u slučaju trovanja kako bi osoba dobila pravovremenu pomoć. Dišni putevi trebaju biti zaštićeni kao i koža ako postoji mogućnost da dođe do apsorpcije preko kože. U slučaju prolijevanja potrebno je obaviti ispravnu dekontaminaciju površina.⁴

Prilikom primjene prevelike količine ili koncentracije herbicida može doći do pojave fitotoksičnosti. Primjena pogrešne doze ili koncentracije može biti posljedica nepravilne pripreme, lošeg miješanja u rezervoaru prskalice te primjena neispravnog uređaja za prskanje, no najčešće je rezultat ljudske nepažnje. Fitotoksičnost predstavlja negativan utjecaj herbicida na fiziološke procese u biljkama. Veliki broj ovih sredstava može izazvati neželjene promjene nakon primjene. Oštećenja, kao što su sušenje dijelova biljaka, neke deformacije, opadanje listova, pjege te opekotine, vidljive su na lišću, cvjetovima, plodovima ili cijelim biljkama. Oštećenja koja su nastala mogu biti prolazna ili trajna, a oštećene mogu biti biljke koje će kasnije biti uzgajane na istom tlu, susjedne biljke do kojih će herbicid donijeti vjetar te biljke koje tretiramo. Do pojave oštećenja na biljci koju tretiramo doći će usred takozvanog predoziranja biljke. Prilikom vjetrovitog vremena može doći do raznošenja herbicida na susjednu površinu pri čemu herbicid može doći na kulturu kod koje se ta vrsta ne smije koristiti. Najveća brzina vjetra pri nanošenju ovakve vrste zaštite biljaka smije biti $2,6 \text{ ms}^{-1}$, a herbicidi koji su jako hlapivi mogu se nanositi samo kada nema vjetra. Isto tako, fitotoksičnost se može javiti prilikom primjene kod temperatura iznad 25°C . Ukoliko se sredstva primjenjuju u pogrešnom trenutku životnog ciklusa biljke također može doći do oštećenja. Ne smiju se kombinirati dva sredstva za zaštitu, a do problema može doći i ukoliko kiša ispere herbicid sa biljke i dovede ga u tlo.⁸

Prilikom primjene herbicida važno je paziti da se oni koriste precizno i ujednačeno na cijelom prostoru.⁴ Postoje u nekoliko oblika, a mogu se primjenjivati kao otopine, emulzije, suspenzije suhe tvari i granule. Odluka o tome kako će biti formuliran aktivan sastojak herbicida temelji se na njegovoj topivosti u različitim nosačima, odnosno otapalima. U idealnom slučaju aktivni sastojak bio bi topiv u vodi što bi omogućilo lako miješanje i primjenu. Međutim nisu svi aktivni sastojci topivi u vodi. Aktivni sastojci se dijele na tri kategorije, topive u vodi, topive u ulju te netopive, a mogu biti svrstani u više kategorija.⁹

Pravom otopinom smatra se kada je otopina bistra, bez vidljivih čestica. Jedna kemikalija potpuno se topi u drugoj. Čestice se ne mogu izdvojiti kemijskim ili fizikalnim metodama. Primjeri su selektivni herbicidi, klopirald(1) i aminopirald(2).⁹ Klopirald je učinkovit kod kontrole jednogodišnjih i višegodišnjih širokolisnih korova, kao i kod određenih vrsta

grmolikih biljaka na planinskim površinama i pašnjacima.¹⁰ Aminopirialid se koristi kod kontrole korova na pašnjacima, u dolinama, a dobro kontrolira i mnoge širokolisne korove.¹¹



SLIKA 1.1. Klopipirid, aminopirialid i triklorpir

Kod emulzija se radi o linearnim molekulama s hidrofilnom glavom i lipofilnim repom. Zbog njihovog položaja događa se zadržavanje kapljica koje se raspršuju kroz tekućinu te ona ima mliječan izgled. Primjer je triklorpir(3).⁹ On se često koristi za kontrolu raznih jednogodišnjih i višegodišnjih širokolisnih korova nakon nicanja te za kontrolu drvenastih biljnih vrsta.¹²

Kod suhih herbicida aktivni sastojak pomiješan je sa suhim inertnim česticama poput gline. Takve čestice dodaju se vodi te se sve zajedno stavlja u spremnik za raspršivanje kako bi se dobila suspenzija. Ti herbicidi mogu se ravnomjerno rasporediti pomoću mehaničkih uređaja, a potrebno je paziti na stalno miješanje kako se čestice ne bi istaložile.⁹

Općenito postoje tri načina na koja se herbicidi dovode na tlo. To su raspodjela iz zraka (iz aviona ili slično), sa zemlje (traktori) te ručno raspršivanje odnosno postavljanje herbicida. Većina raspršivača može se koristiti i kod metoda sa zemlje i iz zraka, ovisno u vozilu na koji se montira. Kod ručnog načina obično se koriste razne prskalice.⁴

Tekući herbicidi primjenjuju se na način da se neki raspršivač postavi na pokretne jedinice kao što je traktor. Na taj način herbicid se raspoređuje ravnomjerno iznad usjeva te se odjednom može zahvatiti velika površina. Granularni herbicidi primjenjuju se na način da se ispuštaju iz određenog uređaja, raspršuju pomoću centrifuge ili nekog pneumatskog uređaja. Uređaji će kontrolirano ispuštati herbicid kako bi on bio ravnomjerno raspoređen te kako ne bi došlo do lokalne prezasićenosti, kod centrifuge se herbicidi distribuiraju pomoću dva diska. U pneumatskom sustavu granule herbicida čuvaju se u spremniku te se protok kontrolira pogonom spojenim na visokotlačnu struju zraka.⁴

1.2.Povijesni pregled herbicida

U razdoblju od 1895. do 1897. godine kao selektivan herbicid koji je djelovao na biljku *Sinapis arvensis* (slika 1.2.) koristio se bakrov sulfat. Mnogi kemijski spojevi, kao što su sumporna kiselina, arsenov trioksid i natrijev klorat, testirani su ili korišteni prilikom uništavanja korova.¹³



SLIKA 1.2. Sinapis arvensis

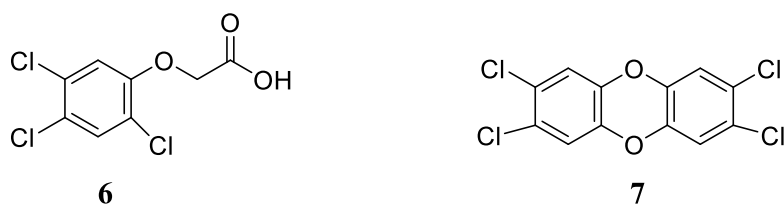
Uskoro se javio sve veći interes za razvijanjem selektivnih herbicida te su zbog toga pokrenuta istraživanja novih spojeva.¹³ Prvo važno otkriće u području selektivne kontrole rasta korova dogodilo se 1933. u Francuskoj. Tada je otkriven 2,4-dinitro-*o*-krezol (**4**). Ovaj herbicid vrlo je toksičan i opasan za sve sisavce. U razdoblju tijekom Drugog svjetskog rata istraživanja su bila usmjerena prema razvitku fenoksi herbicida kao što su 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina(**5**) i 2,4,5-triklorfenoksiocetna kiselina (**6**), a istraživani su i njihovi derivati, kiseline, soli, amini i esteri.¹⁴ Zbog mogućnosti nastajanja neželjenog nusprodukta 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksina(**7**), 2,4,5-triklorfenoksiocetna kiselina je uklonjena iz komercijalne upotrebe u SAD-u.¹⁴ 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin je onečišćivač fenoksi herbicida te je vrlo toksičan za

mnoge životinje, a djeluje i na metabolizam te sintezu i regulaciju reproduktivnih hormona.¹⁵ Bipiridili u koje spadaju parakvat i dikvat otkriveni su 1955., a 1962. postali su komercijalno dostupni. Prvi herbicid koji u svojoj strukturi sadrži ureu predstavljen je 1952. godine. Herbicidi koji inhibiraju protopirogen oksidazu koriste se od 1960-ih godina te predstavljaju veliku grupu herbicida koja se sve češće nalazi na tržištu. Alaklor, herbicid koji spada u grupu supstituiranih anilina, predstavljen je 1967. godine, a inhibitori biosinteze aromatskih kiselina, grupa u koju spada glifosat, razvijeni su u Mosantu 1970. Imidazolini su otkriveni 1970-ih godina, a za ovu grupu dodijeljen je i prvi američki patent 1980. godine.¹⁴ U posljednjim desetljećima proizvodnja i uporaba suvremenih herbicida povećala se brže od proizvodnje bilo koje druge klase pesticida. Svjetska proizvodnja herbicida dvostruko je veća od proizvodnje svih insekticida te trostruko više od proizvodnje fungicida.¹³

Prije 1910. godine nije postojao zakon koji bi osiguravao sigurnost usjeva koji su prskani ili prašeni herbicidima. Tijekom 1950-ih i 1960-ih neprovjereni proizvodi se nisu mogli registrirati i prodavati.¹⁴



SLIKA 1.3. 2,4-dinitro-o-krezol i 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina

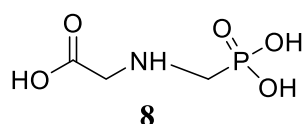


SLIKA 1.4. 2,4,5-triklorfenoksiocetna kiselina i 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin

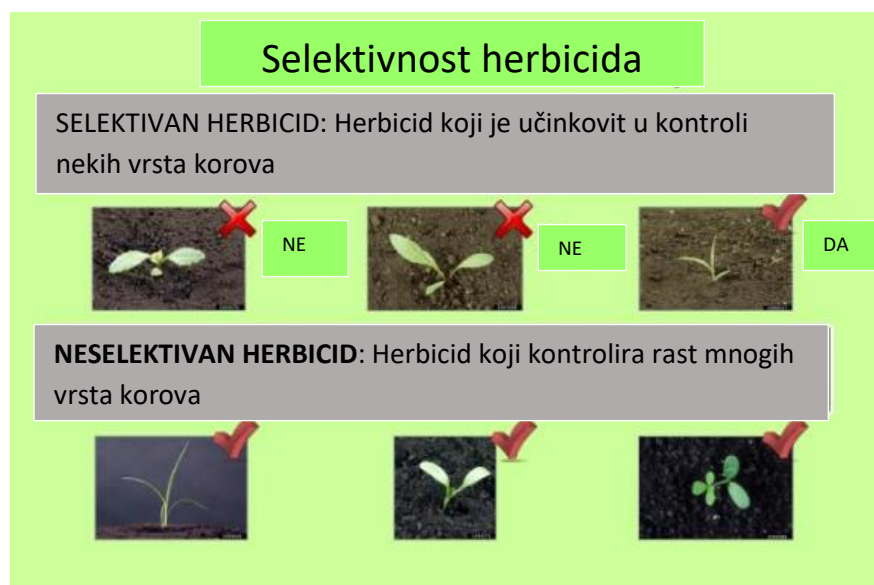
1.3. Podjela herbicida

1.3.1 Podjela prema selektivnosti

Prema načinu primjene herbicidi se dijele na selektivne i neselektivne. Selektivni herbicidi djeluju na određene vrste korova te drugih biljaka. Ovakav princip djelovanja ima temelj u različitom metabolizmu i biokemijskom djelovanju između korova i biljke koja se uzgaja. Djelatna tvar kod posebne vrste selektivnih herbicida, kontaktnih herbicida, se ne translocira, dolazi do oštećenja samo onih dijelova biljke s kojima je otopina došla u kontakt.⁸ Primjer selektivnog herbicida je 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina(5).³ Struktura 2,4-diklorfenoksiocetene kiseline prikazana je na slici 1.3. Neselektivni herbicidi uništavaju sve korove i druge biljke koje se nalaze na površini koja se tretira. Primjenjuju se u raznim situacijama, a kao primjer mogu se navesti priprema tla za sadnju usjeva te korištenje na dječjim igralištima ili nekim kanalima.⁸ Primjer neselektivnog herbicida je glifosat(8).¹⁶



SLIKA 1.5. Glifosat



SLIKA 1.6. Selektivnost herbicida

1.3.2 Podjela prema vremenu korištenja

Prema vremenu korištenja herbicidi se dijele na herbicide koji se koriste prije sadnje, nakon sjetve a prije nicanja te nakon nicanja. Vrste koje se koriste prije sadnje koriste se na način da se tlo tretira te herbicid naknadno ulazi u korov u razdoblju kada on nikne. Nakon sjetve, a prije nicanja herbicid se također može nanositi na tlo, a drugi način primjene je nanošenje na listove korova. Nakon nicanja primjenjuju se herbicidi koji se nanose na određene dijelove korova te mogu djelovati na način da isuše dio na koji se nanesu te tako sprečavaju daljnji rast.⁸

1.3.3. Podjela prema strukturi i toksičnosti

U tablici 1.1. navedene su grupe herbicida i njihovi predstavnici.

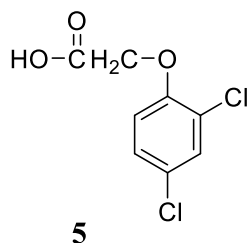
TABLICA 1.1. Podjela herbicida prema strukturi

GRUPA HERBICIDA	PRIMJER
Derivati fenoksi kiseline	2,4-diklorfenoksiocetna kiselina, 2,4,5-triklorfenoksiocetna kiselina
Derivati bipiridila	Parakvat Dikvat
Uree i tiouree	Klorbromuron Diuron
Fosfometil aminokiseline ili inhibitori biosinteze aromatskih kiselina	Glifosat Glufosinat
Inhibitori protoporfirinogen oksidaze	Nitrofen Oksadiazon
Triazini i triazoli	Atrazin Metribuzin

1.3.3.1. Derivati fenoksi kiselina

Klorfenoksi kiseline pokazuju umjerenu toksičnost te izazivaju disfunkciju i slabost mišića (tablica 1.3.), hipotenziju, aritmiju i probleme sa disanjem. Oralna smrtna doza kod ljudi je manja od 6 g.¹³ Visoke doze ove grupe herbicida također izazivaju i smrt kod životinja.¹⁴ Predstavnici ove su 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina i 2,4,5-triklorfenoksiocetna kiselina (tablica 1.1.).

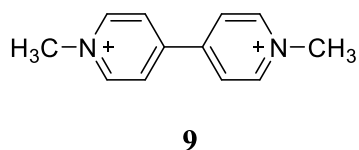
2,4-diklorfenoksiocetna kiselina (5) pripada grupi organskih spojeva poznatih kao klorfenoksiacetati. Klorfenoksiacetati su spojevi koji sadrže fenoksiacetat koji nosi jedan ili više atoma na benzenskom prstenu.¹⁷



SLIKA 1.7. 2,4-diklorfenoksiocetna kiselina

1.3.3.2. Derivati bipiridila

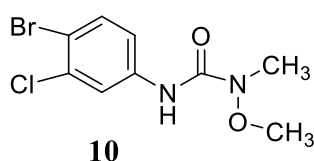
Ova grupa herbicida uključuje parakvat i dikvat. Parakvat (9) je najotrovniji od svih herbicida navedenih u tablici 1.1.¹⁴ Utjecaj parakvata na pluća kod ljudi i životinja opsežno je istražen (tablica 1.3.). Zaključeno je da već kod malih doza dolazi do promjena na plućima. Specifičan utjecaj parakvata na pluća posljedica je njegovog nakupljanja u alveolama.¹³



SLIKA 1.8.. Parakvat

1.3.3.3. Uree i tiouree

Uree su organski spojevi koji sadrže dvije amino skupine spojene sa karbonilnom funkcionalnom skupinom.¹⁸ Uree imaju nizak stupanj toksičnosti te ne uzrokuju probleme sa rastom i reproduktivnim sustavom. Izuzetak su monolinuron, linuron, buturon i tebutijuron. Nakon njihovog utjecaja uočeni su problemi sa razvijem kod životinja. Predstavnici ove skupine su klorbromuron(**10**) i diuron. Diuron se često koristi u SAD-u.¹⁴

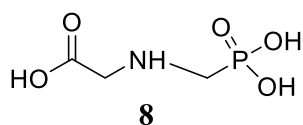


SLIKA 1.9. Klorbromuron

1.3.3.4. Fosfometil aminokiseline ili inhibitori biosinteze aromatskih kiselina

Predstavnici ove grupe herbicida su glifosat (**8**) i glufosinat. Glifosat ima nisku toksičnost i pretpostavlja se da ne predstavlja opasnost kod upotreba u normalnim količinama. Prilikom istraživanja nisu zabilježeni utjecaji na reproduktivni sustav i razvoj kod životinja.¹⁴

Glifosat je fosfonska kiselina koja nastaje oksidativnim spajanjem metilne skupine metilfosfonske kiseline s amino skupinom glicina.¹⁹

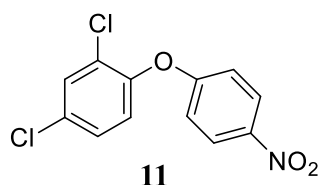


SLIKA 1.10. Glifosat

1.3.3.5. Inhibitori protoporfirinogen oksidaze

Predstavnici ove grupe herbicida su nitrofen i oksadiazon(tablica 1.1.). Nitrofen(**11**) je toksičan te izaziva probleme kod rasta i s dišnim sustavom. Istraživanja su dovela do zaključka da drugačije utječe na svaku vrstu. Novije vrste herbicida ove grupe, kao što je oksidiargil, modificirane su te ne pokazuju toliku toksičnost.¹⁴

Nitrofen, pripada grupi organskih spojeva poznatih kao difenileteri. To su aromatski spojevi koji sadrže dva benzenska prstena međusobno povezana eterskom skupinom.²⁰



SLIKA 1.11. Nitrofen

1.3.3.6. Triazini i triazoli

Ova grupa herbicida koristi se dulje od 40 godina. Mnogo grupa herbicida predstavlja triazine i triazole te su one navedene u tablici 1.2.¹⁴

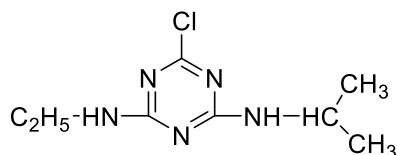
TABLICA 1.2. Triazini i triazoli

VRSTA	PRIMJER
Simetrični triazini	Atrazin
Asimetrični triazini	Metribuzin
Supstituirani anilini	Metolaklor
Amidi i acetamidi	Propanil
Dinitro herbicidi	Dinoterb
Triazolopirimidini	Diklosulam,
Imidazolini	Imazapir

Benzojeva kiselina	Dicamba
Karbamati i tiokarbamati	Klorprofam
Spojevi metil uracila	Bromacil
Policikličke alkanske kiseline	Fentiaprop
Sulfoniluree	Klorsulfuron
Dinitroanilini	Trifluralin
Nitrili	Bromoksinil

Ovi herbicidi imaju nisku toksičnost te se pretpostavlja da kod upotrebe u normalnim količinama ne izazivaju probleme kod ljudi. Izuzetak su atrazin, metribuzin, ametrin i cianazin koji pokazuju umjerenu toksičnost. Najčešće su korišteni atrazin(**12**) i metribuzin (tablica 1.1).¹⁴ Atrazin može imati kancerogeno djelovanje kod životinja i ljudi no prilikom istraživanja se pokazalo da oštećenja endokrinog sustav uz izloženost atrazinu mogu ovisiti i o nekim drugim čimbenicima (razni hormoni) (tablica 1.3.).¹³

Atrazin pripada grupi organskih spojeva poznatih kao klor-s-triazini. To su aromatski spojevi koji sadrže 1, 3, 5-triazinski prsten koji je na položaju 2 supstituiran atomom klora.²¹



12

SLIKA 1.12. Atrazin

U tablici 1.3. sažeto je prikazan toksičan učinak prethodno spomenutih herbicida na organe.

TABLICA 1.3. Organi na koje djeluju pojedini herbicidi

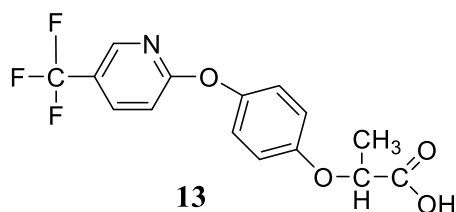
HERBICID	ORGAN
Parakvat	pluća
2,4-D i 2,4,5-T	mišići
TCDD	koža, jetra
Karbamati	živčani sustav
Amidi	koža
Atrazin	endokrini sustav

1.4. Mehanizam djelovanja herbicida

Herbicidi uništavaju biljke ometajući osnovne fiziološke procese kao što su sinteza proteina, rast i razvoj. Važno je dobro znati mehanizam djelovanja herbicida kako bi se on upotrijebio na najbolji mogući način i djelovao na korov bez oštećenja vrste koja se uzgaja.

Djelovanje herbicida na enzim ima dvije posljedice. Tvari koje inače sudjeluju u reakciji skupljaju se na jednom mjestu te mogu izravno ili neizravno prouzročiti štetu. Također, nema produkta reakcije te će rast biljke biti ograničen, hrana potrebna za rast biljke ne nastaje ili ne nastaje spoj koji štiti biljku.

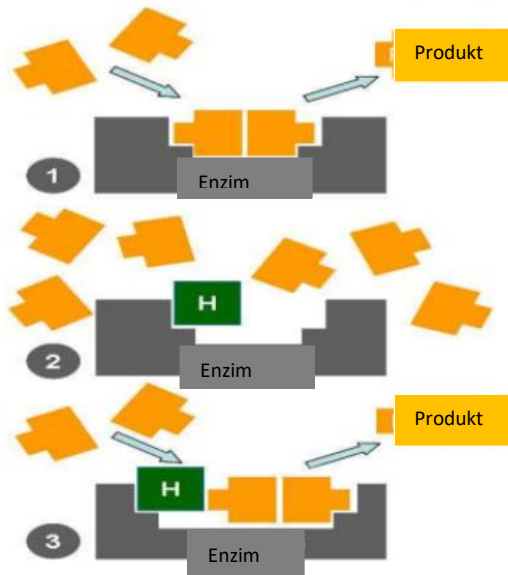
Kako biljke evoluiraju, nastaju male razlike u njihovim sustavima za provođenje fizioloških procesa. Te male promjene neće ometati rast biljaka, no može značiti da će herbicid s određenim mehanizmom djelovanja biti učinkovit samo za određenu vrstu ili skupinu. Tako na primjer herbicid fluazifop-*p*-butil (**13**) inhibira enzim acetilkoenzim A karboksilazu te selektivno kontrolira korov u poljima u kojima se uzgajaju biljke poput soje ili uljane repice. S druge strane, glifosat inhibira enzim koji je fundamentalno važan i vrlo sličan u svim biljkama te je stoga neselektivan herbicid.



SLIKA 1.13. Fluazifop-*p*-butil

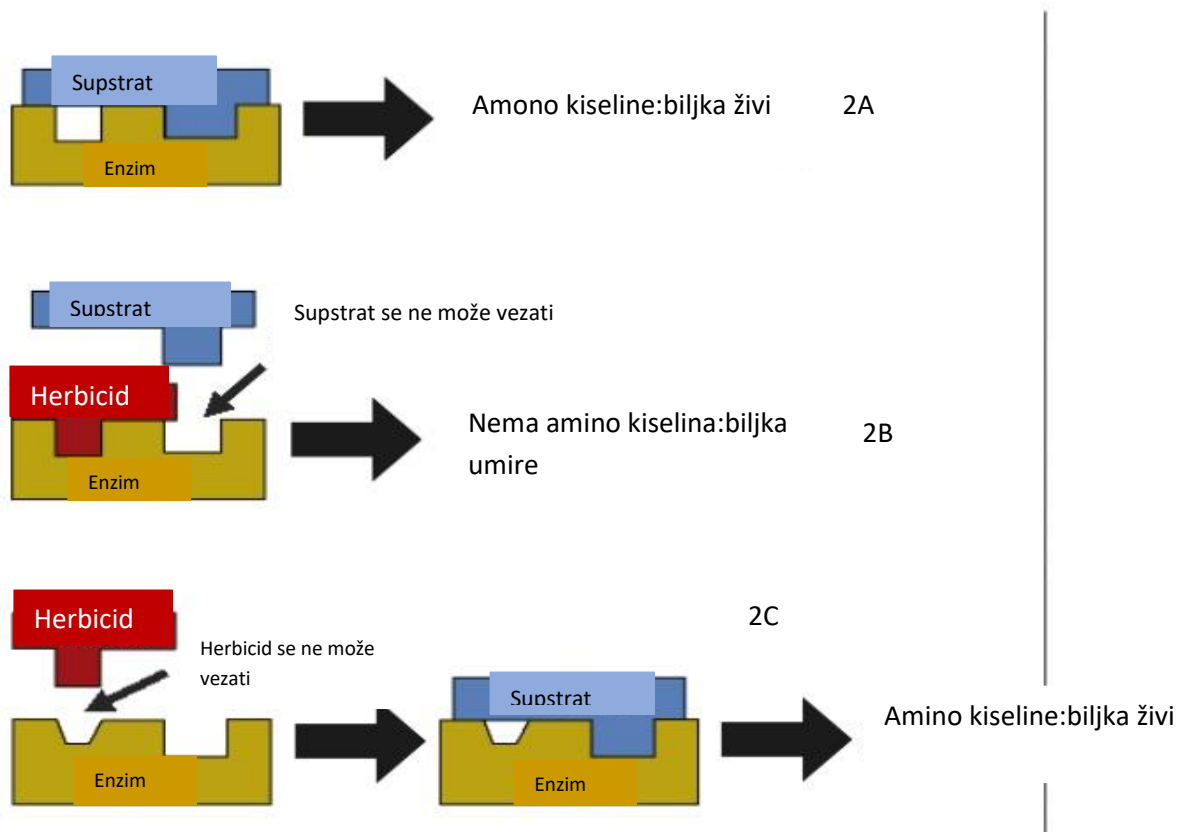
Mutacije su još jedan način na koji korov može postati otporan na herbicid. U pojedinim biljkama može doći do mutacije enzima te stoga herbicid ne djeluje na tu jedinku. (slike 1.14. i 1.15.). Kako bi se spriječilo da takva vrsta prevlada na polju ili sličnoj površini, potrebno je paziti i ne dopustiti da se ta jedinka razmnožava i tako širi populaciju otpornu na herbicid. Upotreba herbicida sa različitim mehanizmom djelovanja isto tako smanjuje mogućnost da vrsta postane otporna na određeni herbicid.

Postoji nekoliko načina na koje herbicidi djeluju na korov. Neki utječu na fotosintezu i na razne načine preusmjeravaju energiju iz sunčeve svjetlosti. Umjesto da se stvaraju zalihe kemijske energije, nastaju destruktivni slobodni radikali na bazi kisika koji uništavaju membrane i suše lišće. Neki herbicidi oponašaju biljne hormone koji kontroliraju rast i razvoj. Postoji i skupina koja utječe na diobu stanica, oni ometaju mehanizam kojim se kromosom dijeli na dva dijela. Zadnja grupa herbicida ima neke općenite kemijske učinke koji se mogu opisati kao poseban mehanizam djelovanja, no teško ih je opisati te se uglavnom radi o proizvodima koji su stariji i zamijenjeni novijim herbicidima.³



SLIKA 1.14. Mehanizam djelovanja herbicida

Na slici 1.14. prikazan je mehanizam djelovanja herbicida. Herbicid može spriječiti reakciju biokemijskih tvari i nastanak produkta reakcije. Zbog toga se u biljci skupljaju tvari koje ju mogu oštetiti. Treći dio slike prikazuje enzim koji je mutirao te se reakcija nastavlja unatoč tome što je herbicid prisutan. Moguće je da herbicid ne djeluje na biljke sa tom vrstom enzima ili se jedinka sa ovom vrstom mutacije razmnožavala i stvorila populaciju otpornu na vezani herbicid.³



SLIKA 1.15. Način djelovanja herbicida

1.6. Kombinacije herbicida

Primjena dvaju ili više herbicida istovremeno vrlo je čest pristup u poljoprivredi. Herbicidi mogu biti komercijalno dostupni u smjesama, ili se miješaju prije primjene. Primjena jednog herbicida može pružiti dobru kontrolu suzbijanja korova, no često se dogodi da je primjena jednog herbicida neodgovarajuća za suzbijanje korova. Mnogi herbicidi imaju uski spektar djelovanja, dok drugi ne pokazuju jednaku djelotvornost protiv svih korova iz vlastitog spektra djelovanja. Obzirom da se flora u ovom slučaju sastoji od više vrsta korova s različitim osjetljivošću na herbicide, potrebno je često primjenjivati više vrsta herbicida što uzrokuje povećanje troškova suzbijanja korova, a samim time i proizvodnje usjeva. Aktivnost primijenjene kombinacije herbicida može se predvidjeti kao zbroj aktivnosti svakog herbicida kada se on koristi zasebno. Međutim, ponekad herbicidi u smjesi mogu međusobno modificirati biološko ponašanje. Te interakcije često rezultiraju smanjenjem ili povećanjem aktivnosti kombiniranih herbicida u usporedbi s aktivnostima kada se svaki od herbicida primjenjuje

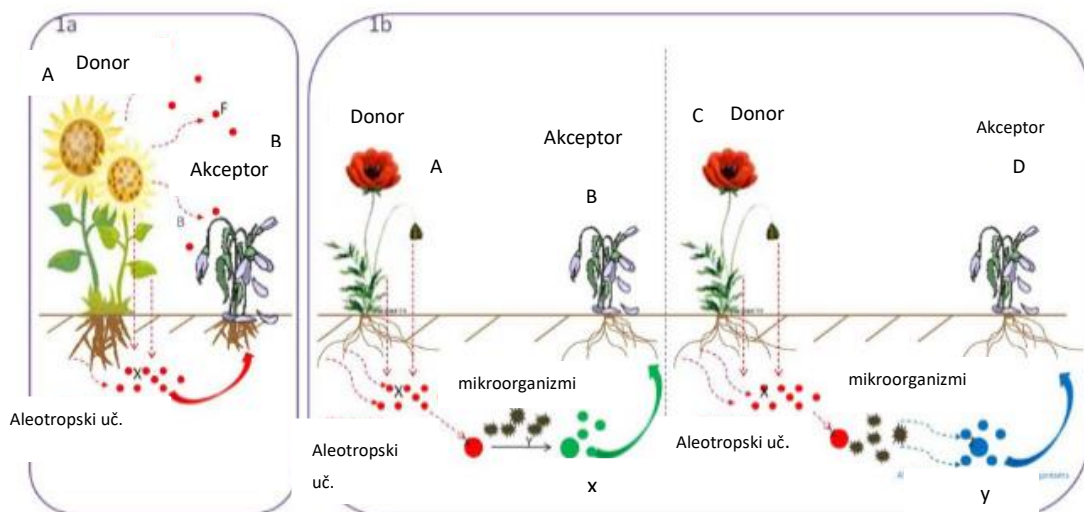
posebno. Optimalne kombinacije herbicida bile bi one koje pokazuju pojačane aktivnosti na ciljanim vrstama korova te smanjenje toksičnosti. To je jako teško postići zato što na ponašanje svakog herbicida utječe prisutnost druge vrste herbicida.³

1.7. Bioherbicidi

Bioherbicidi su biološki utemeljena sredstva za suzbijanje korova. To su spojevi koje se sastoje od mikroorganizama kao što su gljivice, bakterije, virusi, praživotinje ili razni biljni ostaci. Kada su gljivice aktivan sastojak, herbicid se naziva mikoherbicid. Bioherbicidi imaju mnogo manje i blaže učinke na okoliš od klasičnih, odnosno kemijskih herbicida. Također, ne izazivaju zdravstvene probleme kod ljudi. Međutim, ove prednosti ne znače da bioherbicide ne treba kontrolirati i testirati. Primjenjuju se poput kemijskih herbicida, kao tekućina ili u granulama te se moraju primjenjivati više puta.³

Jedan od prvih registriranih bioherbicida bio je DeVine. To je bioherbicid čiji je aktivan sastojak *Phytophthora palmivora*, a razvijen je kako bi se kontrolirao rast korova na Floridi, na područjima gdje se uzgajaju citrusi. Nakon razvitka ovog herbicida, otkriveno je da se mnoge gljivice i bakterije mogu koristiti kao bioherbicidi te na taj način pomoći kod kontrole rasta korova. Kao bioherbicidi mogu se koristiti i prirodni proizvodi. Tako se na primjer, nusproizvod kod prešanja ulja gorušice može koristiti za suzbijanje rasta korova. Razno bilje može biti bogato esencijalnim uljima, koja se uslijed svog aleotropskog učinka mogu koristiti za suzbijanje korova (slika 1.16.). Primjeri biljaka koje sadrže takva ulja su eukaliptus, ružmarin, bijeli cedar i određene vrste čempresa.²²

Istraživanja ovakvih herbicida počela su 1940-ih te su uključivala jednostavna premještanja gljivica između ciljanih korova. Od tada je pokrenuto više od 100 istraživanja širom svijeta vezanih uz bioherbicide, no samo mali postotak rezultirao je komercijalno dostupnim proizvodima.³



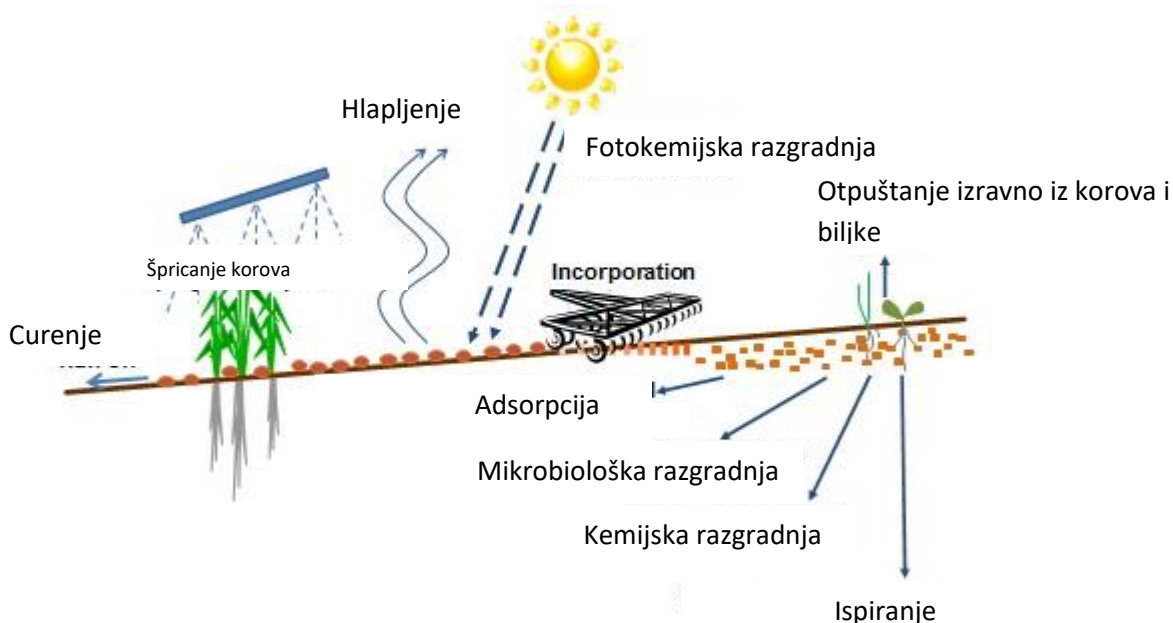
SLIKA 1.16. Aleotropski učinak bioherbicida

Slika 1.16.a prikazuje aleotropski učinak biljke A na biljku B. Slika 1.16.b prikazuje dva slučaja. Biljka A otpušta spoj koji će imati aleotropski učinak, spoj dolazi do mikroorganizama, oni ga modificiraju te zatim spoj(x) utječe na rast biljke B. U drugom slučaju biljka A otpušta spoj koji će imati aleotropski učinak, on zatim dolazi do mikroorganizama te ih potiče da otpuste novi spoj(y) koji zatim utječe na rast biljke D.²³

2.REZULTATI I RASPRAVA

2.1.Uvod

Milijuni tona pesticida primjenjuju se godišnje, no manje od 5% te količine dolazi do ciljanog organizma, a ostatak se taloži u tlu i u drugim organizmima te odlazi u vodu i atmosferu. Herbicidi se uklanjaju iz tla fizičkim uklanjanjem nepromijenjene molekule ili razgradnjom. Razgradnja može biti kemijska, fotorazgradnja ili razgradnja uz pomoć mikroorganizama. Fizičko uklanjanje podrazumijeva adsorpciju na koloidima tla, ispiranje, hlapivosti uklanjanje iz vode koju je biljka koristila.³



SLIKA 2.1. Moguće razgradnje i trošenje herbicida

2.2.Uvjeti razgradnje herbicida

2.2.1.Tlo

Sastav tla utječe na aktivnost herbicida, njegovu adsorpciju te isparavanje. Tla s visokim udjelom gline ili organske tvari bolje prenose herbicid zbog njegovog vezanja uz čestice tla uz smanjenje njegova ispiranja te gubitka isparavanjem. Ovaj način vezanja uzrokuje smanjenje početnog unosa herbicida u biljku te smanjuje njegovu aktivnosti, više ga ostaje u rezervi što dovodi do mogućnosti da se u budućnosti ošteti neka osjetljiva biljka. Općenito, tla sa srednjim i sitnim česticama sa udjelom organske tvari većim od tri posto imaju najveći potencijal vezanja i zadržavanja herbicida, dok je kod onih s većim ili srednjim veličinama čestica s udjelom organske tvari manjim od tri posto manja vjerojatnost za zadržavanje herbicida.

Drugi važan utjecaj tla je pH. On utječe na postojanost herbicida, posebno na triazine te sulfoniluree. Kemijski i mikrobiološki raspad herbicida često je sporiji u tlu u kojem je viši pH. Kada je pH iznad 7,0 ove dvije vrste herbicida sve se sporije razgrađuju. Manja količina herbicida veže se za čestice tla te iz tog razloga veća količina ulazi u biljku. S druge strane, kada pH padne ispod 6,0 razgradnja je ubrzana. U kiselom tlu, herbicidi kao što je atrazin, vežu se za čestice tla te ne djeluju na korove, ali se i brže razgrađuju. Suprotno svemu navedenom, nizak pH povećava otpornost herbicida koji spadaju u imidazoline. Oni se vežu ili adsorbiraju na čestice tla što smanjuje njihovu dostupnost mikroorganizmima.

Razgradnja uz pomoć mikroorganizama iz tla jedan je od najvažnijih načina raspada herbicida. Vrsta, kao i broj mikroorganizama određuju koliko brzo će doći do razgradnje. Toplo, prozračno tlo s gotovo neutralnim pH najoptimalnije je za rast ove vrste organizama, a prema tome i razgradnju herbicida.²⁴

2.2.2.Klima

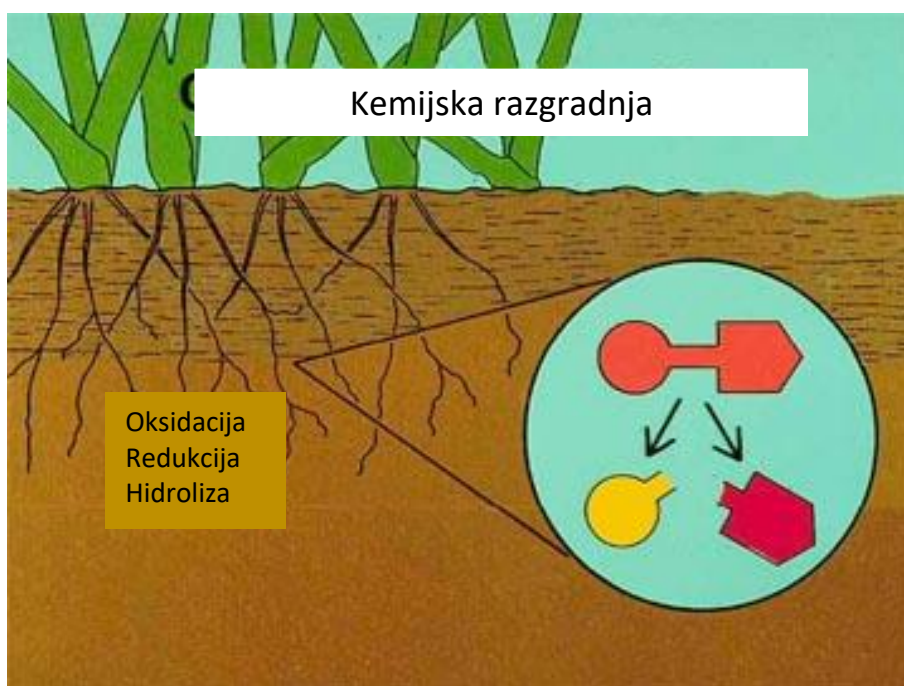
Na raspad herbicida utječu temperature i vlage. Njihovim porastom ubrzavaju se kemijska i mikrobiološka razgradnja. Također, primijećeno je da postoji i utjecaj sunčeve svjetlosti. Može uzrokovati razgradnju kod nekih vrsta, na primjer pendimentalina i trifluralin.²⁴

2.2.3.Svojstva herbicida

Neka kemijska svojstva herbicida utječu na njegovu postojanost. To su topljivost u vodi, tlak para te osjetljivost molekula na kemijske i mikrobiološke utjecaje. Topljivost herbicida u vodi određuje koliko će on biti ispran iz tla. Što se herbicid više ispire, prolazit će dublje kroz profil tla te se udaljavati od zone klijanja, odnosno od usjeva i korova. Tlak para odredit će koliko će herbicida ispariti. Isparavanje je postupak u kojem herbicid iz krutog ili tekućeg agregatnog stanja prelazi u plinovito. Hlapivi herbicidi, a to su oni s višim tlakom pare, raspadat će se brže od herbicida s nižim tlakom pare. Isparavanje je brže kako se povećavaju temperatura i vlaga. Kemijska struktura herbicida određuje način razgradnje u tlu. Neki herbicidi se vrlo brzo razgrađuju mikroorganizmima, ako su mikroorganizmi prisutni u odgovarajućem broju i uz povoljne uvjete. S druge strane, neki herbicidi skloniji su kemijskim reakcijama raspada dok su u trećoj grupi oni koji se razgrađuju na oba načina.²⁴

2.3.Kemijska razgradnja herbicida

Kemijska razgradnja herbicida odnosi se na njegov raspad pod kemijskim utjecajem. Najvažnija reakcija je hidroliza, reakcija kojoj podliježu mnogi organski spojevi nakon doticaja s vodom. Čak i kada je tlo suho, u njemu postoji dovoljno vlage da dođe do reakcije hidrolize. Hidroliza se ubrzava na toplim, vlažnim mjestima s mnogo svjetla kao i u tlima s niskim pH.²

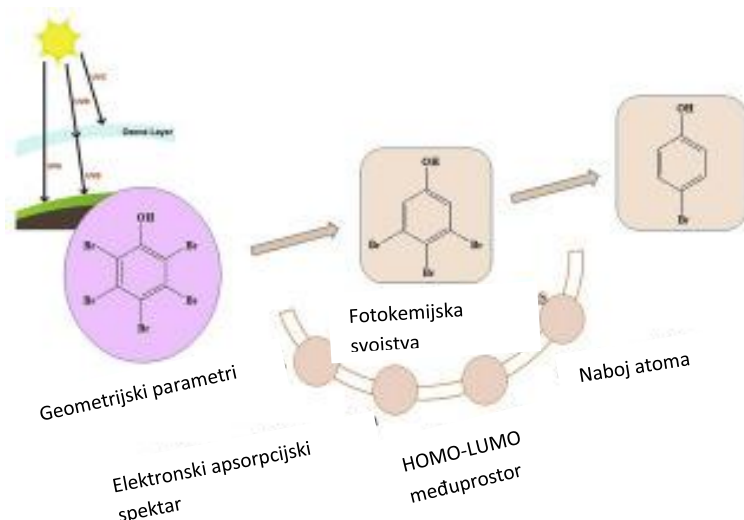


SLIKA 2.2. Kemijska razgradnja herbicida

2.4. Fotokemijska razgradnja herbicida

Na Zemljinu površinu dolaze ultraljubičaste zrake (290nm-400 nm). U organskim molekulama koje mogu apsorbirati zračenje tih valnih duljina, kao što su herbicidi, dolazi do pucanja postojećih veza te stvaranja novih. Elektron prelazi iz osnovnog stanja u pobuđeno, pri čemu se prvo nalazi u singletnom obliku, nakon čega prelazi u tripletno. Fotokemijske reakcije događaju se prilikom izravne i neizravne apsorpcije svjetlosti. Molekule herbicida apsorbiraju svjetlost čija je valna duljina u UV i vidljivoj području nakon čega dolazi do procesa izravne fotolize. Kod neizravne fotolize svjetlost apsorbiraju drugi elementi okoliša, na primjer voda i tlo. Pobuđeni element tada ili prenosi energiju do molekule ili dolazi do stvaranja reaktivnih vrsta što izaziva niz reakcija.

Fotoliza se može događati u nekom vodenom mediju, u tlu ili na površini lista. Iako su neka istraživanja pokazala da u vodenom mediju dominira izravna fotoliza, neizravna fotoliza također ima bitnu ulogu. Klorfenoli i anilini apsorbiraju samo ultraljubičasto zračenje te se događa izravna fotoliza. Spojevi su podvrgnuti reakcijama izomerizacije, oksidacije, dehalogenacije, hidrolize, dehidrohalogenacije i dimerizacije. Herbicidi koji su podložni neizravnoj fotolizi također mogu biti povrgnuti mnogim reakcijama, uslijed dolaska energija preko senzora, odnosno prijenosnika energije. Tla koja imaju važnu ulogu u poljoprivredi sadrže mnogo organskih spojeva, uključujući i komponente humusa. Tijekom prolaska sunčevih zraka dolazi do stvaranja singletnog oblika kisika, hidroksila, superoksida, a i organske komponente tla već sadrže razne radikale. Zbog toga lako dolazi do fotorazgradnje. Međutim, neki elementi humusa mogu imati zaštitno djelovanje te zaustaviti raspad. Herbicid u nekim slučajevima prvo dolazi na list biljke, gdje se na vosku koji prekriva list događa fotoliza. Na fotolizu u ovom slučaju utječu dvije stvari, funkcionalne grupe te zračenje sunčeve svjetlosti.²

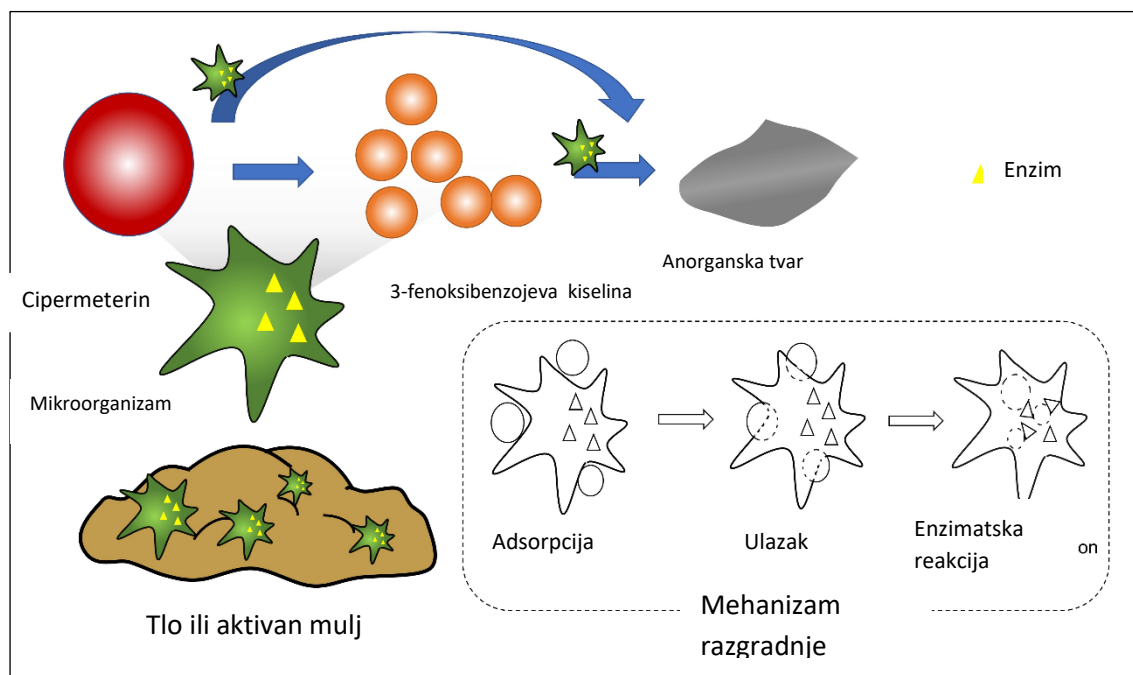


SLIKA 2.3. Fotokemijska razgradnja herbicida

2.5. Biološka razgradnja herbicida

Biološka razgradnja, odnosno raspad herbicida, smatra se osnovnim načinom razgradnje herbicida.²⁵ Tlo je složena mješavina minerala, organskih ostataka biljaka i životinja, a sadrži razne biljke, životinje i mikroorganizme. Brojnost i aktivnost mikroorganizama ovisi o zalihama hrane, temperaturi, vlazi, količini kisika i pH tla. Herbicidi mogu poslužiti kao izvor hrane i energije za rast mikroorganizama ako su izvor ugljika, dušika i sumpora.² Mikroorganizmi imaju sposobnost lakog prilagođavanja situaciji i okolišu, a i lako mutiraju, sposobni su rasti u anaerobnim uvjetima kao i fermentirati ugljikohidrate.²⁵ Neki herbicidi mogu biti razgrađeni, ali neće poslužiti kao izvor hrane za organizme koji se nalaze u tlu. Takvi herbicidi često su vrlo stabilni.² U biološku razgradnju uključeno je pet procesa. To su biorazgradnja u kojoj herbicid može poslužiti kao supstrat za rast. Zatim, kometabolizam u kojem je herbicid transformiran metaboličkim reakcijama, no još uvijek ne služi kao izvor energije za mikroorganizme. Idući proces je polimerizacija ili konjugacija, u kojem se molekule herbicida povezuju s drugim herbicidima ili s nekim spojevima koji se javljaju u prirodi. Slijedi akumulacija gdje se herbicid ugrađuje u mikroorganizam. Peti proces je sekundarni učinak mikrobne aktivnosti, a herbicid se mijenja zbog promjene uvjeta kao što su pH, redoks uvjeti, okruženje i slično. Osnovne reakcije biorazgradnje herbicida su oksidacija, redukcija, hidroliza te sintetske reakcije. Oksidacijske reakcije najvažnije su reakcije kod biorazgradnje herbicida. Enzimi koji su uključeni su peroksidaze, lakaze i oksidaze mješovite

funkcije. Redukcijske reakcije podrazumijevaju prijelaz nitro skupine u amino, prijelaz sulfoksida u sulfid, zasićenje dvostruke veze, redukcija aldehida u alkohole i redukcija određenih metala. Hidrolitičke reakcije su dosta česte. Herbicid se razgrađuje na način da mu se dodaje voda. Enzimi koji su uključeni u ove reakcije su esteraza, akrilomidaza, fosfataza, hidrolaza i liaza. U sintetskim reakcijama herbicidi ili njihovi međuproducti povezani su međusobno ili s drugim spojevima. Vezanje se odvija preko funkcionalnih skupina, a rezultat ovih reakcija je nastajanje većih spojeva.²⁵



SLIKA 2.4. Biološka razgradnja herbicida

2.6. Mehanizmi biorazgradnje herbicida

Tablica 2.1. prikazuje popis mikroorganizama, koji su se pokazali pogodni za razgrađivanje nekih herbicida te će u nastavku ovoga rada biti detaljno opisana njihova biološka razgradnja.

TABLICA 2.1. Popis mikroorganizmi koji razrađuju herbicide

HERBICID	MIKROORGANIZAM
Atrazin	<i>Agrobacterium radiobacter J14a</i> <i>Klebsiella sp. A1</i> <i>Comamonas sp.</i>

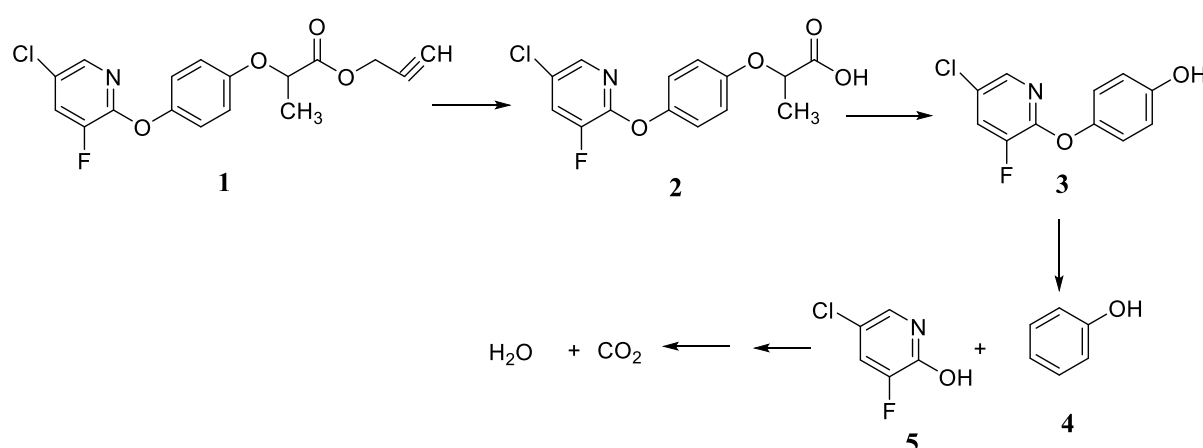
	<p><i>Arthrobacter sp. strain DNS10</i></p> <p><i>Rhodococcus sp. strain MB-P1</i></p> <p><i>Arthrobacter sp. strain HB-5</i></p> <p><i>Pseudomonas strain YAYA6</i></p> <p><i>Arthrobacter sp. strain DAT1</i></p> <p><i>Arthrobacter sp. TES6</i></p>
2,4-diklorfenoksioktana kiselina	<p><i>Bradyrhizobium sp. strain HW13</i></p> <p><i>Serratia marcescens</i></p> <p><i>Penicillium sp</i></p> <p><i>Alcaligenes eutrophus</i></p> <p><i>Ralstonia eutropha JMP134</i></p>
Glifosat	<p><i>Ochrobactrum anthropi GPK3</i></p> <p><i>Achromobacter sp.</i></p> <p><i>Trichoderma viride strain FRP3</i></p> <p><i>Pseudomonas sp.</i></p> <p><i>Flavobacterium species</i></p>
Diuron	<p><i>Arthrobacter strains D47</i></p> <p><i>Variovorax sp.</i></p> <p><i>B. bassiana, C. elegans</i></p> <p><i>Micrococcus sp. strain PS-1</i></p>
Parakvat	<p><i>Aspergillus niger sp</i></p> <p><i>Pseudomonas sp</i></p> <p><i>Lipomyces starkeyi</i></p>
Pendimentalin	<p><i>Fusarium oxysporum</i></p> <p><i>Aspergillus oryzae</i></p> <p><i>Lentinula edodes</i></p>

	<i>Penicillium brevicompactum</i> <i>Lecanicillium saksena</i>
Metaklor	<i>Fusarium sp.</i> <i>M. racemosus</i> <i>Azotobacter sp. strain SSB81</i>
Klordinafop-propargil	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> <i>Pseudomonas sp. strain B2</i>

2.6.1. Klordinafop-propargil

Klordinafop-propargil je herbicid koji se koristi za kontrolu jednogodišnjeg korova u poljima žitarica. Raširena upotreba rezultirala je ispuštanjem velike količine spoja u okoliš, a samim time spoj dolazi i u biosferu. Apsorbira se na području lista, a djelovanje je usmjereno na enzim acetil koenzim-A-karboksilazu koji je bitan za biosintezu lipida. Klordinafop-propargil i njegovi derivati toksični su i kancerogeni za ljude i druge žive organizme. Nije postojan i vrijeme poluživota u tlu mu je otprilike 5 dana, a ovisi o vrsti tla i pH tla.

Razgradnja aerobnim bakterijama uključuje aktivnost esteraza, pri čemu kao metabolit nastaje fenol (**4**). Mehanizam razgradnje prikazan je na shemi 1.



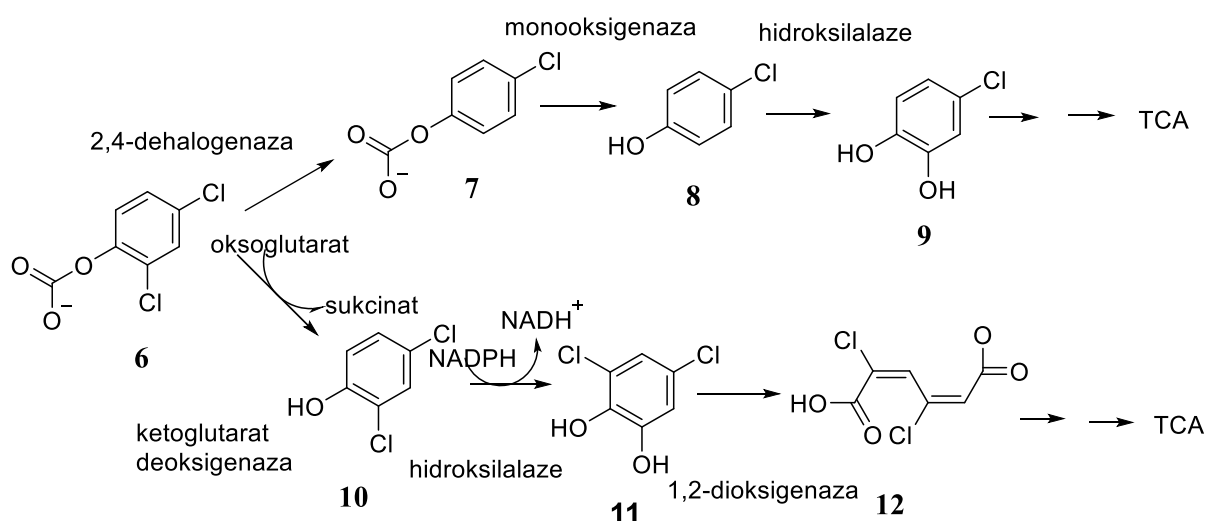
HEMA 2.1. Mehanizam biorazgradnje klordinafop-propargila aerobnim bakterijama

Hou je istraživao razgradnju uz soj *Rhodococcus sp.* T1. *Rhodococcus sp.* T1 razgrađuje 97,9% klordinafop-propargila, kojeg koristi kao izvor energije. Međutim, metaboliti nisu identificirani. Singh je u svom istraživanju razgrađivao klordinafop-propargil sojem *Pseudomonas sp.* strain B2. 87.14% herbicida je bilo razgrađeno. Prilikom razgradnje ovom bakterijom metaboliti, klordinafop-kiselina i 4-(4-klor-2-fluorfenoksi)-fenol, nastaju 9 sati nakon početka razgradnje. O razgradnji ovoga herbicida ne postoji mnogo informacija uslijed njegove nestabilnosti i brzog nestajanja iz tla.¹

2.6. 2,4-diklorfenoksiocetena kiselina

2,4 diklorfenoksiocetena kiselina selektivan je herbicid koji se koristi za suzbijanje širokolisnih korova. Apsorbira se kroz lišće i korijenje, a zatim se širi u sve dijelove biljaka. Djeluje na način da održava visoku koncentraciju biljnog hormona auksina što rezultira prekomjernim rastom biljke te u konačnici i njenom smrću. Toksičan je za ljude i životinje te izaziva kancerogene, neurotoksične, imunosupresivne i citotoksične učinke. Ljudi su izloženi zbog udisanja, gutanja ili kontakta s kožom.

Vrste koje najčešće razgrađuju ovaj herbicid su *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Ralstonia*, *Delftia*, *Arthrobacter* and *Burkholderia*. Većina navedenih vrsta razgrađuje 2,4-diklorfenoksiocetenu kiselinu tako da mehanizam razgradnje započinje oksidativnim cijepanjem esterske veze. Nakon toga događa se hidroksilacija klorfenola (**8**) te zatim slijedi modificirano orto-cijepanje klorkatekola.(shema 2.2.)¹



SHEMA 2.2. Mehanizam biorazgradnje 2,4-diklorfenoksiocetene kiseline

2.6.3. Atrazin

Atrazin je selektivan herbicid koji se zbog svoje česte primjene i dobre pokretljivosti u tlu često nalazi u podzemnim i površinskim vodama u količini većoj od dopuštene. Inhibira fotosintezu i necikličku fosforilaciju u višim biljkama. Ovaj herbicid pokazuje relativno visoku toksičnost, a kod ljudi i životinja napada endokrilni sustav. Kancerogen je te utječe na živčani, reproduktivni i imunološki sustav te kardiovaskularne funkcije.

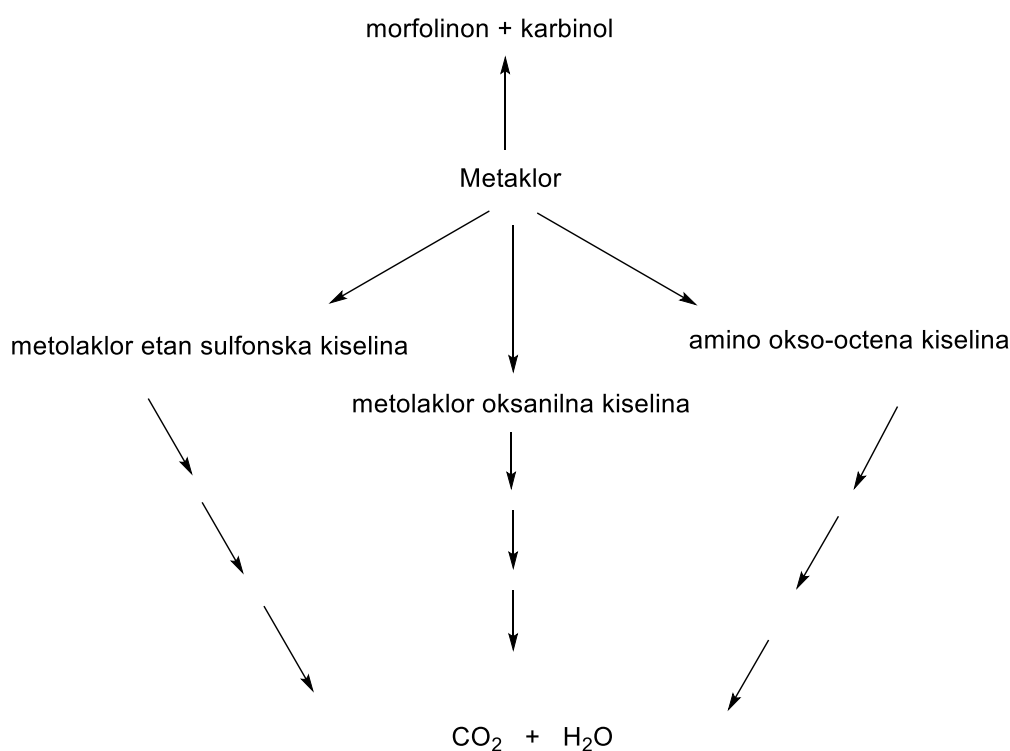
Razgradnja mikroorganizmima najvažniji je način razgradnje atrazina. Istraživanja su pokazala da postoji veliki broj mikroorganizama s različitom učinkovitošću koji razgrađuju atrazin. Bakterija *Pseudomonas sp.* jedna je od najpoznatijih bakterija koje razgrađuju atrazin, a konačni produkti razgradnje su NH_3 i CO_2 . Bakterija *Arthrobacter aurescens* razgrađuje atrazin do cijanurne kiseline. U obje razgradnje sudjeluju i enzimi naznačeni na shemi 2.3.

Prilikom razgradnje dolazi do *N*-dealkilacije, dekloriranja te otvaranja prstena. Razgradnja kod nekih bakterija započinje *N*-dealkilacijom bočnih lanaca pri čemu nastaje deetilatrazin(**14**) ili deizopropilatrazin(**17**). Najčešće bakterije započinju biorazgradnju hidrolitičkom deklorinacijom kataliziranu enzimom koji se zove atrazin klorohidrolaza (AtzA). Nakon toga slijede dvije reakcije hidrolitičke deaminacije katalizirane enzimima hidroksiatrazin etilaminohidrolazom (AtzB) i *N*-izopropilamelid izopropilamino-hidrolazom (AtzC). Oni će atrazin pretvoriti u cijanurnu kiselinu(**22**) koja će tada biti potpuno demineralizirana do CO_2 i NH_3 . U reakcijama će sudjelovati još tri hidrolaze.¹

2.6.4. Metaklor

Metaklor je selektivan herbicid koji se koristi za suzbijanje širokolisnih jednogodišnjih korova u poljima kukuruza, soje, kikirikija i krumpira. U Americi se koristi u velikim količinama, posebno na područjima gdje se uzgajaju veće količine kukuruza i soje. Apsorbira se kroz korijenje i djeluje kao inhibitor rasta suzbijajući sintezu klorofila, proteina, masnih kiselina i lipida. Istraživanja su pokazala da metaklor utječe na rast stanica te već i mala količina uzrokuje citotoksične učinke u limfocitima.

Metaklor se u tlu razgrađuje utjecajem aerobnih i anaerobnih mikroorganizama. U prvom stupnju razgradnje nastaju metolaklor etan sulfonska kiselina i metolaklor oksanilna kiselina. Kiseline se enzimatski razgrađuju te kao krajnji produkti nastaju voda i ugljikov dioksid. (shema 2.4.)¹

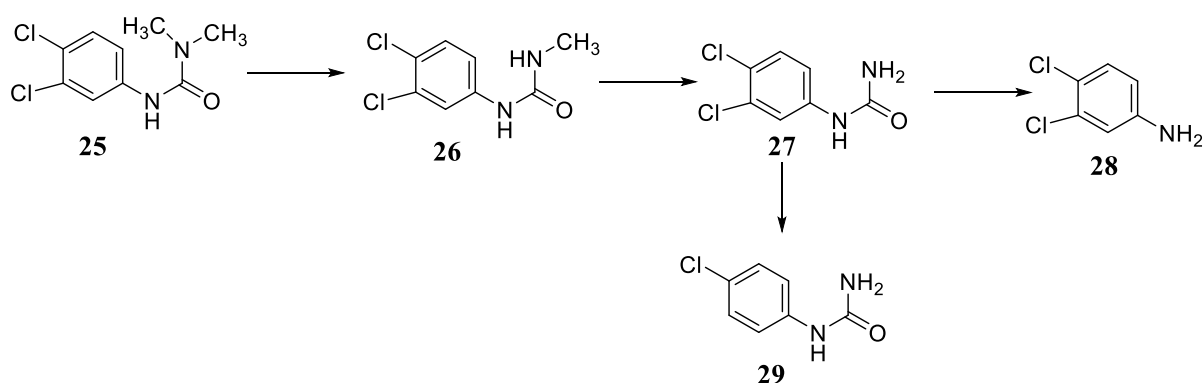


HEMA 2.4. Mehanizam biorazgradnje metaklora aerobnim i anaerobnim mikroorganizama

2.6.5. Diuron

Diuron je herbicid širokog spektra djelovanja koji se koristi za suzbijanje korova na poljoprivrednim usjevima i površinama bez usjeva. Koristi se i u ukrasnim ribnjacima, fontanama i akvarijima za sprječavanje rasta algi. Može se koristiti samostalno ili u kombinaciji s drugim herbicidima kao što su bromacil, parakvat, bakrov sulfat. Dostupan je u tekućem i granularnom obliku. Diuron je vrlo toksičan za vodene organizme. Uzrokuje mutacije, probleme sa reproduktivnim sustavom te pokazuje kancerogeni učinak.

Ovaj herbicid može biti razgrađen mikroorganizmima iz tla i vodenim mikroorganizmima iz ribnjaka. Pri tome kao glavni metabolit nastaje 3,4-dikloranilin(28). Mehanizam razgradnje prikazan je shemi 2.5.¹



HEMA 2.5. Mehanizam biorazgradnje diurona mikroorganizmima iz tla i ribnjaka

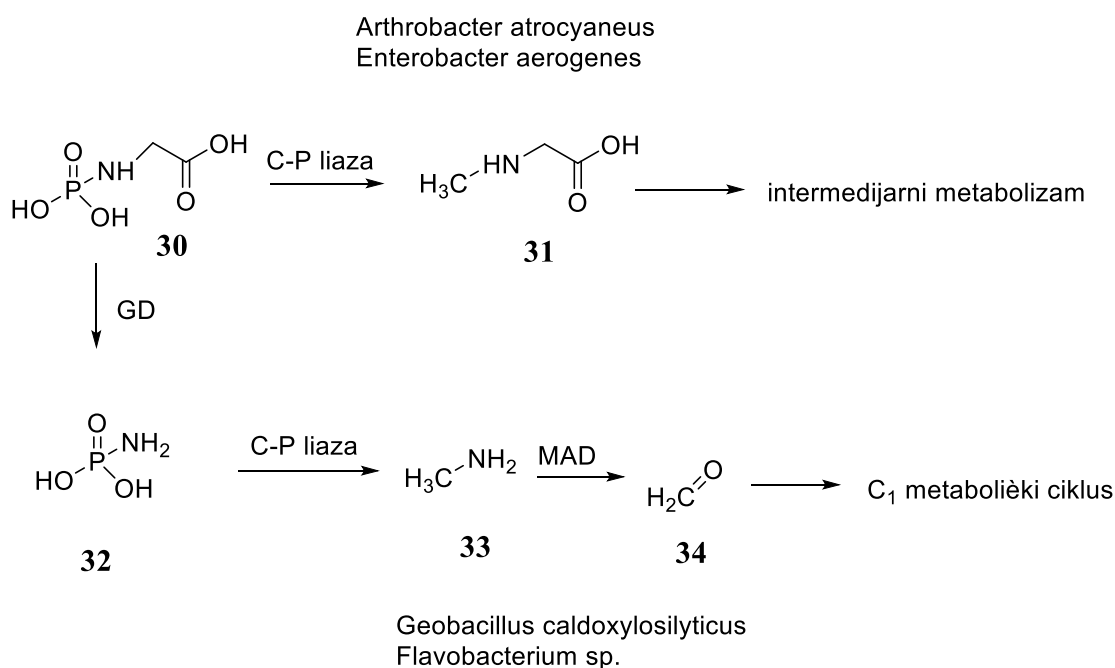
Gljivice razgrađuju diuron, ali ne u potpunosti. 4 soja gljivica koje razgrađuju ovaj herbicid više od 50% 7 dana nakon početka razgradnje su *Beauveria bassiana*, *Caenorhabditis elegans*, *Phanerochaete chrysosporium* i *Mordellistena isabellina*. Kod razgradnje gljivicama nastaju demetilirani produkti. To su *N*-(3,4-diklorofenil)-*N*-metilurea i *N*-3,4-diklorfenilurea.

Navedeni produkti pokazuju tri puta veću toksičnost od diurona. Nakon toga slijedi uklanjanje uree te nastaju 3,4-dikloranilin, amonijak i ugljikov dioksid.¹

2.6.6. Glifosat

Glifosat je neselektivan herbicid koji se može koristiti za suzbijanje većine jednogodišnjih i višegodišnjih korova. Koristi se u poljoprivredi, šumarstvu, voćarstvu, vinogradarstvu i industriji. Primjena ovog herbicida uzrokuje žutilo i propadanje lišća unutar 5-10 dana. Navedeno se događa zato što glifosat prekida sintezu aromatskih amino kiselina. Korov umire brzo zato što se glifosat prenosi kroz cijelu biljku sve dok ni jedan dio ne preživi. Glifosat je postojan u tlu i u sedimentima zato što se adsorbira na čestice gline kao i na organske tvari u tlu. Proizvodi koji sadrže glifosat izuzetno su toksični za životinje.

Mikroorganizmi koji razgrađuju glifosat su *Pseudomonas sp.*, *Arthrobacter atrocyaneus* and *Flavobacterium sp.* Primarni metabolit razgradnje je aminometilfosfonska kiselina(**32**) koja nije toksična. Ona se razgrađuje u drugom stupnju, no ta razgradnja je nešto sporija. Razgradnja je prikazana na shemi 2.6., a mikroorganizmi su također naznačeni na shemi. ¹

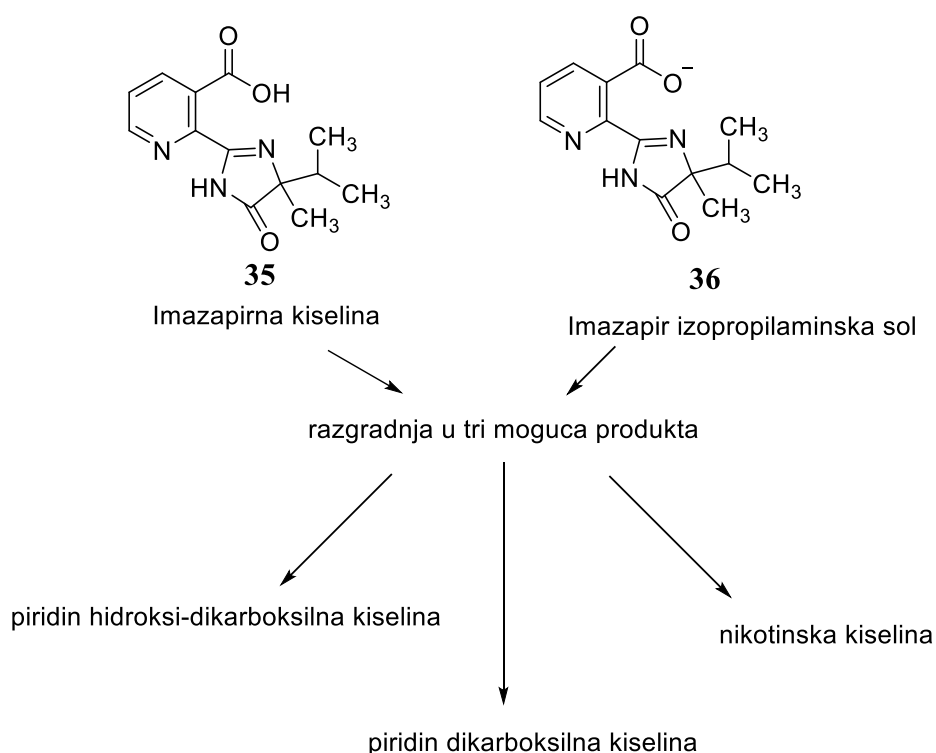


SHEMA 2.6. Mehanizam biorgradnje glifosata

2.6.7. Imazapir

Imazapir je neselektivni herbicid širokog spektra djelovanja koji se koristi za kontrolu jednogodišnjih i višegodišnjih korova i grmolikih biljaka. U biljku se apsorbira preko lišća i korijena, brzo prelazi u ksilem i floem te se nakuplja i uzrokuje poremećaje sinteze proteina što ometa rast i razvoj stanice i sintezu DNA. Rezultat takvog djelovanja je smrt biljke. Djeluje na spojeve kao što su amino kiseline sa tri razgranata lanca, koje životinje same ne sintetiziraju već ih uzimaju izravno iz biljaka. Ovaj herbicid zato se pokazao netoksičnim za životinje, no nadražuje oči i može izazvati osip, crvenilo i oteklinu na mjestu izlaganja.

Iz tla su izolirane dvije bakterijske vrste koje razgrađuju ovaj herbicid, to su *Pseudomonas* i *Bacillus*. One su razgradile imazapir više od 70% 48 sati nakon početka razgradnje. Kako bi se saznao detaljan mehanizam biorazgradnje ovog herbicida potrebno je provesti daljnja istraživanja.¹



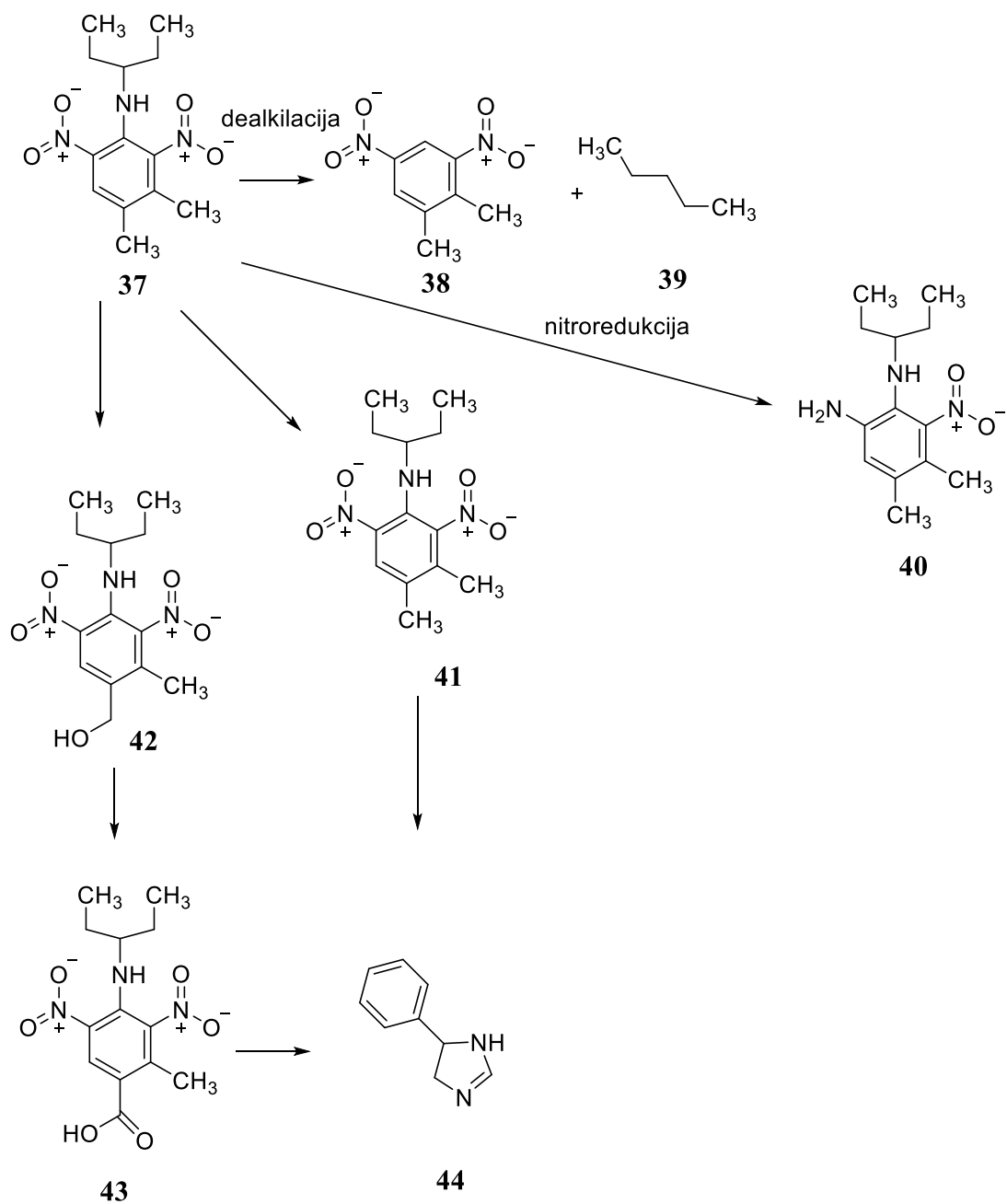
HEMA 2.7. Mogući mehanizam biorazgradnje imazapira

2.6.8. Pendimentalin

Pendimentalin se koristi za suzbijanje većine jednogodišnjih travnatih i širokolisnih korova na poljima. Zbog svoje hidrofobne prirode dobro se apsorbira na organsku tvar i glinu te se zato dugo zadržava u tlu. Brže se razgrađuje u anaerobnim uvjetima. U biljkama inhibira mitotsku diobu stanice. Niske je akutne toksičnosti, no otrovan je za ribe i vodene beskralježnjake.

Istraživanja su pokazala da se pendimentalin razgrađuje u tlu pod aerobnim i anaerobnim uvjetima utjecajem bakterija i gljivica u raznim vrstama tla. Nastaju 4 metabolita. Reakcije koje su bile uključene u ovaj mehanizam su hidroliza 2-metilnih skupina, oksidacija amino skupine i hidroksilacija propilnih skupina. (shema 2.8.)¹

Pendimentalin može biti razgrađen djelovanjem bakterije *Paracoccus* sp. P13. Ova bakterija izolirana je iz tla u području u kojem se uzgajalo voće. Bakterija pendimentalin koristi kao izvor ugljika za rast stanica. Najbolji uvjeti postignuti su kod pH 7 i kod temperature od 30 °C. Mehanizam pokazuje da je dobiven samo jedan međuprodukt. On je alkan, a nastao je oksidacijskim cijepanjem prstena. Naziv tog međuprodukta je 1,3-dinitro-2-(pentan-3-ilamino)butan-1,4-diol. Slijedi niz enzimatskih reakcija te kao konačni produkti nastaju voda i ugljikov dioksid.²⁶



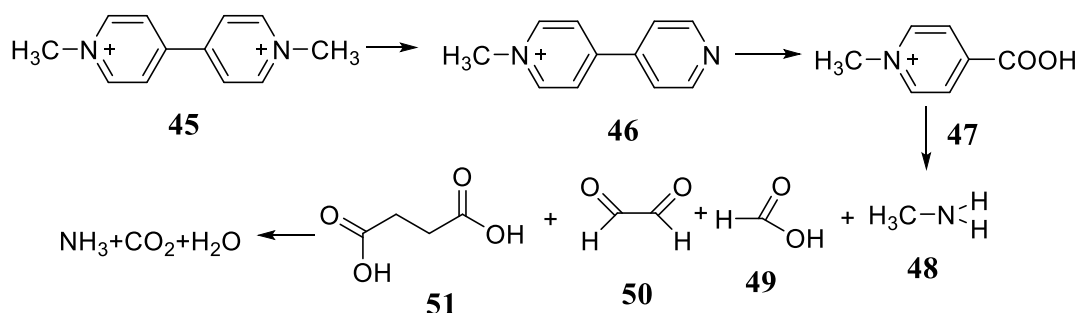
SHEMA 2.8. Mehanizam biorazgradnje pendimentalina

2.6.9. Parakvat

Parakvat je neselektivan herbicid koji se koristi za suzbijanje širokolisnih korova. On ometa fotosintezu i njegov utjecaj dovodi do pucanja stanične membrane što omogućuje izlazak vode iz stanice i dovodi do brzog isušivanja lišća. Dosta dobro se veže za glinu i organske tvari u tlu te je zbog toga postojan. Toksičan je za sve žive organizme. Prilikom laboratorijskih istraživanja smješten je u kategoriju najveće toksičnosti. Apsorbira se praktički svim putevima, kroz kožu, sluznicu i pluća.

Nekoliko vrsta bakterija i gljivica koje su nađene u tlu i otpadnim vodama razgrađuju parakvat. Neke od njih su *Corynebacterium fascians* Dows, *Lipomyces starkeyi* Loo and Rij, *Aspergillus niger* van Teigh, *Penicillium frequentans* West, *Fusarium* sp and *Pseudomonas* sp. Kada parakvat uđe u tlo brzo se veže za glinu i organski materijal. Istraživanja su pokazala da je razgradnja parakvata dosta promjenjiva te da se uz CO₂ javlja još jedan produkt.¹

Prvi korak u pretvorbi je demetilacija kako bi se dobio monokvat(46). Ovaj korak postiže se aktivnošću mikroorganizama. U sljedećem koraku cijepa se oksidni prsten i nastaje 4-karboksi-1-metilpiridin ion (47). Ugljici piridinskog prstena izaći će iz sustava u obliku ugljikova dioksida, a sami ion se uz pomoć mikroorganizama razgrađuje do metilamina i ugljikova dioksida. Metilamin se koristi kao izvor dušika i ugljika za rast mikroorganizama. Nastali produkti su tri karboksilne kiseline, formilna(49), oksalna(50) i sukcinna(51). Iz njih ,kao konačni produkti, nastaju ugljikov dioksid i metilamin. Mehanizam razgradnje prikazan je na shemi 2.9.²⁷



SHEMA 2.9. Mehanizam biorazgradnje parakvata

3.ZAKLJUČAK

Herbicidi mogu biti korisni, no važno ih je koristiti na odgovoran i pravilan način. Mogu se koristiti u različito vrijeme i u različitoj količini, a svaki ima određeni učinak. Herbicidi se mogu razgraditi na tri načina, biološkim putem, kemijskim putem ili fotolizom. Svaka razgradnja je različita te herbicidi nisu jednako podložni nekoj od njih.

Mikroorganizmi razgrađuju herbicide kako bi ih iskoristili kao izvor ugljika i dušika potrebnih za rast i razvoj. Brojnost mikroorganizama ovisit će o raznim uvjetima u tlu, To su temperatura, pH i vlaga. Herbicidi se brojnim mehanizmima biološki razgrađuju, iz velikih, toksičnih molekula nastaju male, jednostavne i netoksične molekule. Najčešće kao konačni produkti nastaju voda, ugljikov dioksid i amonijak. Kako bi se biološka razgradnja mogla proučavati, potrebno je da herbicid bude postojan neko dulje vrijeme u tlu..

Zbog pretjerane upotrebe herbicida ekosustavi su izloženi zagađenju. Mikroorganizmi imaju važnu ulogu u obnovi herbicida te sanaciji zagađenih područja. Omogućuju nova saznanja o putevima razgradnje, interakciji između vrsta te njihovim odgovorima na dodatak herbicida. Te informacije pomažu znanstvenicima kako bi predvidjeli kako će se herbicidi razgraditi. Nove saznanja o mikroorganizmima sa područja koja su bila izložena herbicidima vode ka otkrićima koja će omogućiti nova saznanja i informacije o manje poznatim mehanizmima biorazgradnje herbicida.

4.POPIS LITERATURE

- 1- B. Singh ,K. Singh-Microbial degradation of herbicides. *Critical Reviews in Microbiology*, **42**, 245-261 (2014.)
- 2- Choudhury P.P. -Transformation of Herbicides in the Environment. U: Sondhia S., Choudhury P., Sharma A. (eds) *Herbicide Residue Research in India. Environmental Chemistry for a Sustainable World*, vol 12. Springer, Singapore (2019)
- 3- Rana S.S.,Rana M.C.-Principles and Practices of Weed Management,Department of Agronomy, College of Agriculture, 28-70(2016.)
- 4- Au A.M Pesticides and herbicides ,Types, uses, and determination of herbicides. U: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. 4483–4487 (2003)
- 5- P.K.Gupta- Herbicides and fungicides, *Biomarkers in Toxicology*, Chapter 24, 409-431 (2014.)
- 6- Dizdari, A. M., Kopliku, D., & Golemi, S. ,The use of Higher Plants as Bio-Indicators of Environmental Pollution – A New Approach for Toxicity Screening in Albania. *Mediterranean Journal of Social Sciences*, **3**, 241 (2012.)
- 7- K. Kaur, R.Kaur-Occupational Pesticide Exposure, Impaired DNA Repair, and Diseases,*Indian Journal of Occupational & Environmental Medicine*,**22**, 74-81 (2018.)
- 8- Baličević, R., Ravlić, M. ,Herbicidi u zaštiti bilja. Priručnik, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku. (2014.)
- 9- C.Duncan-Introduction to Herbicide Formulations,TechLine Invasive Plant News(2019.)
- 10- D.V.Šojić,V.B.Anderluh,D.Z.Orčić,B.F.Abramović- Photodegradation of clopyralid in TiO₂ suspensions: Identification of intermediates and reaction pathways, *Journal of Hazardous Materials*,**168**, 94-101 (2009.)
- 11- S.F.Enloe, R.G. Lym, R.Wilson, P. Westra, S.Nissen, G.Beck, M. Moechnig, V.Peterson, R. A. Masters, M.Halstvedt- Canada Thistle (*Cirsium Arvense*) Control with Aminopyralid in Range, Pasture, and Noncrop Areas, *Weed Technology*,**21**, 890-894 (2007.)

- 12-I. Poullos , M. Kositzi, A. Kouras- Photocatalytic decomposition of triclopyr over aqueous semiconductor suspensions, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **115**, 175-183 (1998.)
- 13- M. Manno- Herbicides, *Human Toxicology*, Chapter 21, 551-560 (1996.)
- 14- P.K.Gupta- Herbicides and fungicides, *Reproductive and Developmental Toxicology*, Chapter 39, 503-521 (2011.)
- 15- M.A. Gallo, E.J. Hesse, G.J. Macdonald, T.H. Umbreit- Interactive effects of estradiol and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on hepatic cytochrome p-450 and mouse uterus, *Toxicology Letters*, **32**, 123-132 (1986.)
- 16- S.O. Duke, F.E. Dayan- *Herbicides*, ed. S. O. Duke. John Wiley & Sons, 1-9 (2018.)
- 17- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1486> (14.9.2020.)
- 18- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1176> (14.9.2020.)
- 19- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3496> (14.9.2020.)
- 20 - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15787> (14.9.2020.)
- 21- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2256> (14.9.2020.)
- 22- Cai, X.; Gu, M. Bioherbicides in Organic Horticulture. *Horticulturae* **2**, 3., (2016)
- 23- D. Soltys, U. Krasuska, R. Bogatek , A. Gniazdowska- Allelochemicals as Bioherbicides- Present and Perspectives, *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*, Chapter 20 (2013)
- 24- W.S. Curran- Persistence of Herbicides in Soil, *Crops & Soils*, **49**, 16-21 (2001)
- 25- J.-M. Bollag, S.-Y. Liu- Biological Transformation Processes of Pesticides, *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling*, Volume 2, Chapter 6 (1990.)
- 26- Ni, H., Li, N., Qiu, J. et al. Biodegradation of Pendimethalin by *Paracoccus* sp. P13. , *Current Microbiology*, **75**, 1077–1083 (2018).

27-Y.Huang,H.Zhan,P.Bhatt,S.Chen-Paraquat Degradation From Contaminated Environments:Current Achievements and Perspectives, Front Microbiol, **10**, 1754 (2019.)

