الفصل الخامس

السمية النباتية لمبيدات الحشائش

السمية النباتية لمبيدات الحشائش

١ـ مقدمة

التأثيرات السامة لمبيدات الحشائش من المجالات الواسعة والمعقدة، وتزداد الصعوبة في حالة المبيدات التي لها تأثيرات مختلفة على أكثر من موضع أو عدة مواقع فسيولوجية، وأيضاً فإنه من الصعب تحديد التأثير الأولي والذي يبدأ بإحداث العمليات غير العكسية بالنبات في اتجاه موته، وفي الحقيقة فإنه يصعب اختبار تأثير كل مبيد أو مجموعة متشابهة من المبيدات على كل عملية فسيولوجية متوقعة خاصة إذا كانت المعلومات المتعلقة بالمركبات محل الإهتمام غير كاملة أوناقصة لحد ما، وكما هو معروف فإن لكل مبيد موضع تاثير أو أكثر داخل النبات يتفاعل معه مؤديا لحدوث التأثير السام، وغالبا فإنها تشمل التأثيرات المثبطة لعمل الإنزيمات، وبناء الأحماض النووية والأمينية، وتخليق البروتين وغيرها من العمليات الأساسية اللازمة لنمو وتطور النبات. وعلي سبيل المثال، فإن الأميدات تتداخل مع عملية الإنقسام الخلوى مؤدية لتثبيط النمو والخلايا المرستيمية بالجذور، وتثبط مركبات الفينوكسي وأيضا بعض المبيدات سداسية الحلقة (Cyclohexanediones) المرافق الإنزيمي للأسيتايل كاربوكسيلاز (ACC ase) Acetyl- CoA carboxylase وهو أحد الإنزيمات اللازمة لبناء الأحماض الدهنية، والتي يؤدي عدم تكوينها لمنع نموالخلايا الحديثة، كما تثبط بعض مشتقات البنزوات إنزيم أسيتولاكتات (ALS) Acetolactate synthase والمعروف أيضا باسم (AHAS) Acetohydroxylated synthase وهو إنزيم أساسي لبناء عدد من الأحماض الأمينية متفرعة السلسلة، ومنها الأيسوليسين، ليوسين، والفالين. وأيضا فإن هناك عدد كبير من مبيدات الحشائش التابعة للأترازينات ومشتقات اليوريا الإستبدالية التي تحد تأثيرها السام عن طريق تثبيط عملية التخليق الضوئي.

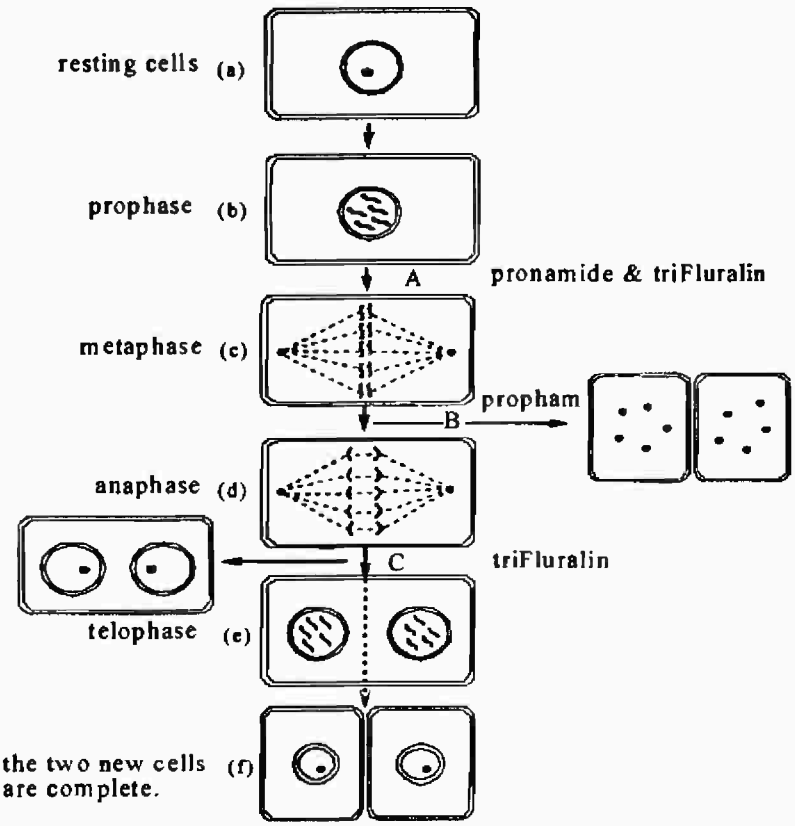
٢- السمية بالملامسة Contact Toxicity

تقتل كثير من مبيدات الحشائش أنسجة النباتات الحية بسرعة ويرجع هذا إلى التأثير الملامس السام للمبيدات على الأنسجة المختلفة، ومن هذه المبيدات أرسنات الصوديوم ، الفلوروديفين (بريفوران) ، البروماسيل ، الإندوثال ، الأوكسينيل ، بروموأوكسينيل ، النيتروفين ، بنتاكلوروفينول ، الباراكوات والديكوات، وربما يحدث انتقال للمبيد تحت ظروف معينة خلال الأنسجة غير الحية الناقلة في النبات ولكن هذا الانتقال عادة يكون ضعيفاً، وتقتل خلايا النبات الحية بسرعة في مناطق التلامس بعد نفاذ المبيد من الكيوتيكل أو بعد امتصاص الجذر للمبيد وبصفة عامة فإنه لا يحدث انتقال للمبيد ويرجع فعل مبيدات الحشائش الملامسة إلى قدرتها على تحطيم غشاء الخلايا بالكامل، كما يشمل تأثيرها حدوث انفصال سريع للروابط الموجودة بين الأغشية البروتينية وكذلك بين الفوسفوليبيدات، وبالإضافة للمبيدات السابقة فهناك مبيدات أخرى مثل 2,4-D لا تعتبر مبيدات ملامسة ولكن استخدامها بالتركيزات العالية يؤدي إلى نفس التأثير السريع السابق على النبات، وعادة فإن التأثيرات المبكرة لمبيدات الحشائش الملامسة تشمل الهدم السريع للون الأخضر نتيجة لتسرب Leakage الخلايا ويلي ذلك تلون الورقة باللون البني وتبرقش كل الأنسجة المعرضة خلال ٢- ٣ أيام، ونظراً لأنه لا يحدث انتقال للمبيد لأسفل فإن الجذور غير المعرضة للنباتات المعمرة لا تتأثر وبالتالي فإن الأشطاء الجديدة تخرج بسهولة من البراعم الموجودة تحت الأرض.

٣- المثبطات الميتوزية Mitotic inhibitors

يحدث النمو النشط في النباتات بالمناطق المرستيمية في قمة الجذور والأوراق الصغيرة والبراعم القمية أو الجانبية وكذلك في الكامبيوم الوعائي للساق والجذور وقد

يحدث النمو الشاذ أو نقص معدل النمو أو حتى موت النبات إذا وصل التسمم الميتوزي للمرستيمات أو لأماكن النمو بتركيزات كافية لتثبيط النمو العادي. ومن المعروف أن لكثير من مبيدات الحشائش تأثير سام تجاه الانقسام الميتوزي، ومن أهم هذه المبيدات الداي نيترو انيلين، البنزالين، البروماسيل، البروناميد، البروفام، الكلوربروفام، البربان، الفيرنولات (الفرنام) والبيوتيلات. وحيث أنه تختلف تأثيرات هذه المركبات فإنه يمكن مشاهدة هذه التأثيرات والأعراض المصاحبة لها بالاختبارات الميكروسكوبية. ويوضح شكل (١) تأثير مبيدات الحشائش على الانقسام الميتوزي في المراحل المختلفة، وعموماً فإن مبيدات الحشائش تسبب وقف انقسام الخلايا سواء في مرحلة البروفيس أو التيلوفيس Prophase or telophase مما ينتج عنه ارتفاع معدل الانقسام الميتوزي وهذا التأثير يمكن مشاهدته في النباتات المعاملة بالبروناميد أو التريفلان ، ويسبب البروفام تمزيق الخيوط المغزلية مما يؤدي لهجرة الكروموسومات الفردية إلى كثير من النويات الدقيقة، وتؤدي أيضاً المعاملة بالبروناميد والتريفلان إلى تكوين كثير من النويات والأنوية بالخلية كنتيجة لانقسام الخلايا بدون تكوين جدار جديد للخلية، وتستخدم كثير من مثبطات الانقسام الميتوزي لمعاملة التربة حيث تؤثر على انقسام الخلايا والنمو في جذور وسيقان البادرات النامية.



شكل (١): تأثير مبيدات الحشائش على الانقسام الميتوزي، تشمل مراحل الانقسام العادية للخلايا (عن Mc Ewen& Stehpenson, 1979) : (a) مرحلة الراحة (b) مرحلة البروفيس- وفيها يتجمع الكروماتين في شكل خيوط طويلة مزدوجة. (c) مرحلة الميتافيس- وفيها تنتظم الخيوط المغزلية في مستوى خط استواء الخلية وتتصل الخيوط المغزلية بالقطبين. (d) مرحلة الانافيس- وفيها تنفصل الكروموسومات بجهاز كامل ويتجه كل منها ناحية القطب (e) مرحلة التيلوفيس- وفيها تتجمع الكروموسومات في شكل شبكة كروماتينية عند كل قطب ويحيط بها غشاء نووي جديد وتظهر النوية (f) مرحلة اكتمال تكوين الخليتين الجديدتين. ويشمل التثبيط ببعض مبيدات الحشائش النقاط التالية :

(A) يؤدي كل من مبيدي بروناميد وتريفلان إلى جعل الخلية ساكنة في مرحلة البروفيس.

(B) يعوق مبيد بروفام التكوين الطبيعي للمغزل وكل كروموسوم فردي يهاجر إلى الخلية الوليده مكونا نويات كثيرة.

(C) يعوق مبيد تريفلان تكوين جدر الخلايا الجديدة مما ينتج عنه تكون خلايا متعددة الأنوية.

٤- مثبطات التمثيل الضوئي

يتم خلال عملية التمثيل الضوئي تحويل الطاقة الضوئية (الفوتونات) بواسطة جزيئات الكلورفيل واعطاء مركبات فوسفاتية غنية بالطاقة ATP وجزيئات البيريدين نيكلوتيد المختزلة NADPH والتي تقود تفاعل إختزال ثاني أكسيد الكربون لتكوين الكربوهيدرات، والتأثير الأساسي لهذه العملية هو أن الطاقة الضوئية تحتجز أولاً ثم تحول إلى طاقة كيماوية في شكل جلوكوز وتوضح المعادلات المبسطة التالية تفاعل الضوء والظلام:

Light Reaction :

$$H_2O + ADP + Pi + NADP \xrightarrow[\text{Chlorophyll}]{\text{Light energy}} O_2\uparrow + ATP + H^+ + NADPH$$

Dark Reaction

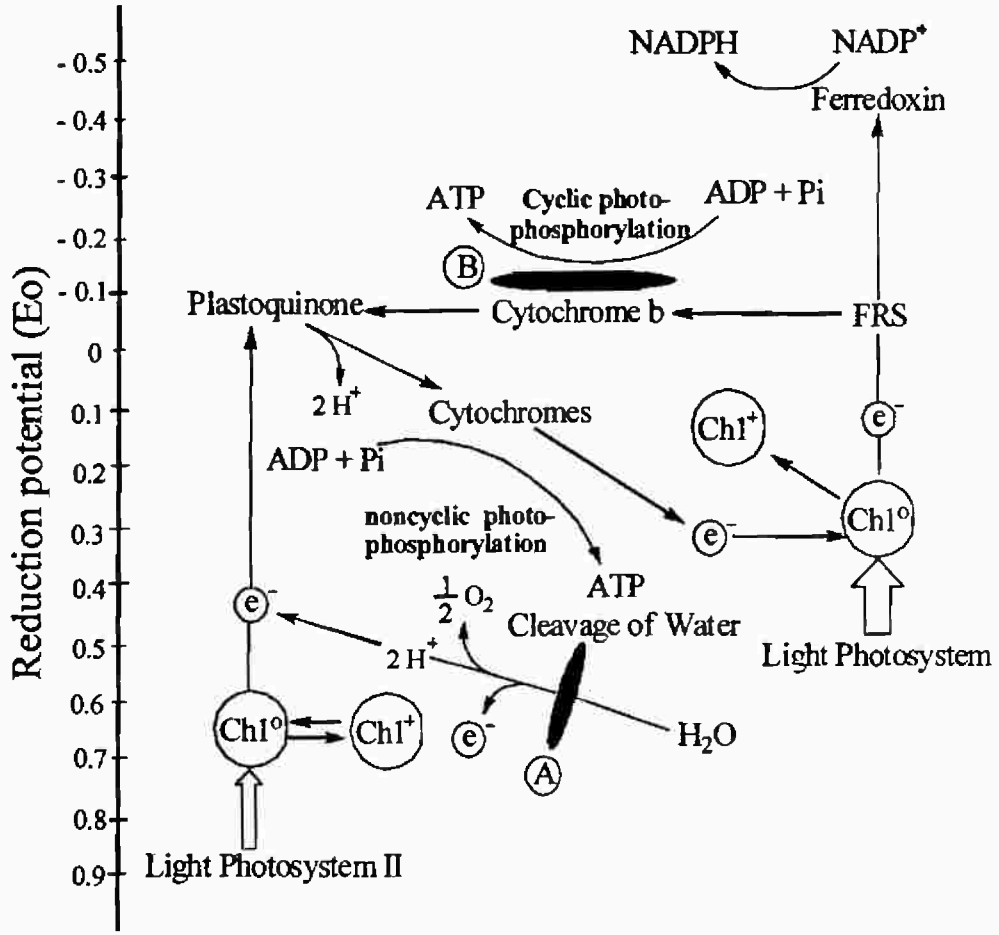
$$CO_2 + ATP + NADPH + H^+ \longrightarrow CH_2O + ADP + Pi + NADP$$

ADP Adenosine DiPhosphate	NADPH Reduced Pyridine Nucleotide
ATP Adenosine TriPhosphate	CH_2O Carbohydrates or Sugar
NAD Pyridine Nucleotide	Pi Inorganic phosphate

وتعبر هذه العملية عن الوسائل الأولية لتحويل الطاقة الشمسية في شكل طاقة يمكن استخدامها في محيطنا الحيوي، وتجرى عملية التمثيل الضوئي في أعضاء تحت خلوية صغيرة جدا تسمى الكلوروبلاست وذلك في منطقة منه ذات حزمة كثيفة من الأغشية تسمى جرانا grana حيث تتركز صبغات الكلوروفيل، ويوجد حول الأغشية والجرانا سائل أمي يسمى بالإستروما يحدث به تفاعل الظلام في التمثيل الضوئي.

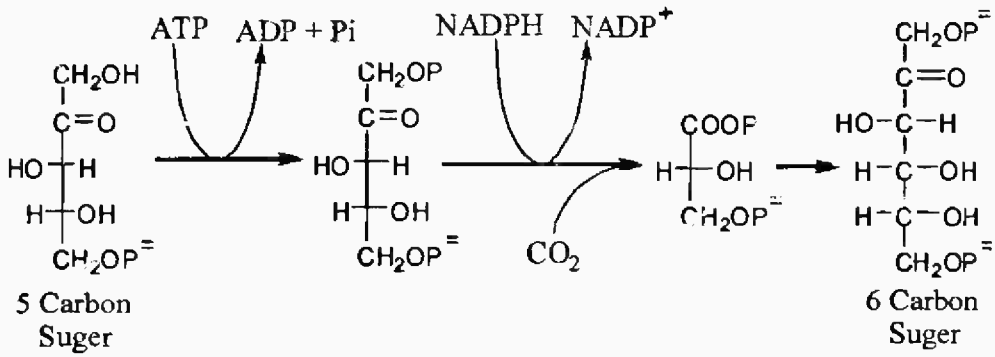
ويوجد نوعين من الكلوروفيل يختصا بتفاعل الضوء أحدهما مسئول عن النظام الضوئي الأول والأخر مسئول عن النظام الضوئي الثاني. ويوضح شكل (٢) هذه العملية. وفي النظام الضوئي الثاني تستقبل جزيئات الكلوروفيل الفوتون الضوئي فتتحول الطاقة الضوئية إلى إلكترون مثار وتنبعث من جزيء الكلوروفيل تاركة خلفها كلوروفيل مؤكسد والذي يستقبل الإلكترون الآتي من انشقاق جزيء الماء وانطلاق الأكسجين، ويفقد الإلكترون المنطلق طاقته خلال سلسلة من التفاعلات تسمى بالانتقال الإلكتروني أو النظام السيتوكرومي والتي يحدث فيها تفاعلات جانبية مزدوجة لتكوين مركبات غنية بالطاقة ATP، وبعد سلسلة من تفاعلات الفسفرة فإن الإلكترون يكون قادراً على اختزال النوع الثاني من جزيئات الكلوروفيل والذي حمل من قبل فوتون الضوء ويقذف بالإلكترون المثار إلى النظام الضوئي الأول، وبعد استقبال الإلكترون بالفيرودوكسين المختزل والذي يختزل $NADP^+$ إلى NADPH ذو الطاقة العالية، والطريق الثاني لهذا إن يذهب الإلكترون إلى نوع ثاني من السيتوكروم (سيتوكروم b) والذي يتكون فيه ATP وهذه العملية الأخيرة دائرية، وبالتالي يمكن عودة الإلكترون إلى نفس جزيئات الكلوروفيل التي أنطلق منها.

وبالنسبة لتفاعل الظلام في عملية التمثيل الضوئي فإنه يحدث أولاً فسفرة لجزيء سكر خماسي الكربون في تفاعل يستخدم فيه جزيء ATP من التمثيل الضوئي ويشمل هذا التفاعل مركبات مختزلة غنية بالطاقة NADPH، ويختزل جزيء ثاني أكسيد الكربون ويتحد مع السكر الخماسي الكربون ليتكون جزيئين من سكر ثلاثي الكربون وبعد عملية الفسفرة تتحد هذه الجزيئات مكونة جزيء واحد من السكر السداسي، ويمكن تقدير عملية التمثيل الضوئي كمياً بحساب معدل تثبيت ثاني أكسيد الكربون أو الأكسجين المنطلق من النباتات في الضوء.



شكل (٢): الفسفرة الضوئية- تفاعلات الضوء بعملية البناء الضوئي. تثبط كثير من مبيدات الحشائش هذه العملية بمنع انشطار الماء عند النقطة (عن Mc Ewen& Stehpenson, 1979) (A)، وبعضها يفصل الفسفرة الضوئية الدائرية من العملية بالتفاعل عند النقطة (B).

وكثير من مبيدات الحشائش المتاح استخدامها لها تأثير تثبيطي على عملية التمثيل الضوئي، وحيث أن عملية التمثيل الضوئي خاصة بالنباتات الخضراء ذات الكلورفيل، ولذا فإن هذه المبيدات غير سامة نسبياً للحيوانات الثديية والكائنات غير المستهدفة، ومعظم المبيدات المعروف عنها أنها مثبطة للتمثيل الضوئي تمنع الانتقال الالكتروني من النظام الضوئي الثاني والذي يتم فيه استخدام الماء كمانح للإلكترون، ويوضح الشكل التالي تثبيت CO_2 في تفاعل الظلام:



تثبيت ثاني أكسيد الكربون : تفاعلات الظلام لعملية البناء الضوئي.

ومن أمثلة مبيدات الحشائش المثبطة لانتقال الإلكترون في النظام الضوئي الثاني بعملية التمثيل الضوئي مركبات فينيل يوريا الكلورنية، اليوراسيل، الترايازين الكلورينية، الكربامبت bis-Carbamates ، بيريدازينون pyridazinones، داي فينيل إيثير diphenyl ether، سيكلو بروبان cyclopropane، إيثايل انيليد ethyl anilides و بعض الترايازينات 1,2,4-triazinones، azido-s-triazines و الكربوكسي اميدات carboxamides. وبالنسبة لمبيدي باراكوات ودايكوات فإنهما لا يمنعان من انطلاق الإلكترون ولكن يتنافسان مع مادة الفيرودوكسين المختزلة (FRS)

لاستقبال الإلكترون من النظام الضوئي الأول، بينما يعرف عن مبيد بيرفليودان perfluidane أنه يفصل الفسفرة الضوئية الدائرية وحتى اليوم لم يعرف عن أي مبيد يستخدم تجارياً أنه مثبط لإنزيمات تفاعل الظلام في التمثيل الضوئي، وأول ما عرف عن المبيدات المثبطة للتمثيل الضوئي كانت مركبات فينيل يوريا و فينيل كرباميت. ولهذا يستخدم علماء الكيمياء الحيوية النباتية الدايرون كنموذج لمعرفة أساس ميكانيكية التمثيل الضوئي، ويعتقد أن الدايرون والاترازين وأيضاً بعض مثبطات النظام الضوئي الثاني تعطل النظام الإنزيمي المسئول عن انشقاق جزيء الماء ولذا فإنه بدون حدوث إحلال أو استبدال الإلكترون الآتي من الماء فإن انطلاق الإلكترون كمرحلة وسيطة يمكن أن يحدث فقط حتى تتأكسد كل جزيئات الكلورفيل في النظام الضوئي الثاني، وبعد هذا تتوقف عملية الفسفرة الضوئية (إنتاج ATP) واختزال جزيئات الكلورفيل في النظام الضوئي الأول والفسفرة الضوئية الدائرية وإنتاج NADPH، وحتى فإن عملية اختزال (تثبيت) ثاني أكسيد الكربون في تفاعل الظلام يحدث لها توقف.

ويستخدم تفاعل هل Hill غالباً لقياس نشاط مثبطات النظام الضوئي الثاني والذي توضحه المعادلة التالية :

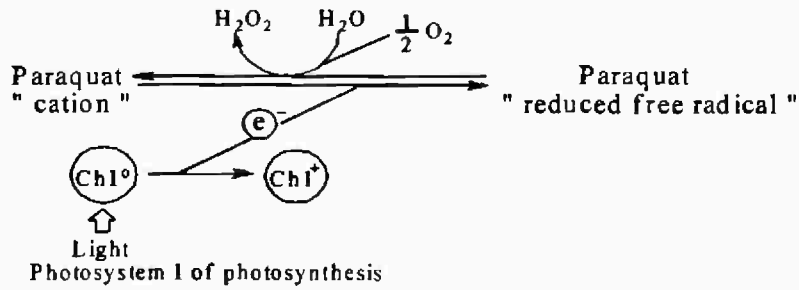
$$2H_2O + \underset{\text{Oxidized}}{2DPIP} \xrightarrow[\text{chloroplasts}]{\text{light}} O_2\uparrow + \underset{\text{reduced}}{2\ DPIP}$$

وفي هذا التفاعل فإنه يتم إحداث إثارة لمعلق من الكلوروبلاست المعزولة والمزودة بمادة مستقبلة للإلكترون (عادة تكون صبغة مثل DPIP و داي كلوروفينول اندوفينول) كبديل NADP وبدون وجود مثبط فإن الصبغة المستقبلة للإلكترون تختزل بواسطة الإلكترون الآتي من الكلوروبلاست المعرضة للضوء مع تغيير الضوء من الأزرق المظلم إلى ضوء اللون الأزرق، وهذه التغيرات يمكن قياسها بسهولة بواسطة

الطرق الأسبكتروفوتومترية، وفي وجود الدايرون (أو أي مثبط للنظام الضوئي الثاني) فإن معدل تحلل الماء واختزال DPIP يحدث له تثبيط بدرجات مختلفة تتفاوت على حسب قوة وتركيز مبيد الحشائش.

ويمكن قياس مثبطات النظام الضوئي الثاني بمعرفة معدل انطلاق الأكسجين أو معدل امتصاص ثاني أكسيد الكربون بواسطة الكلوروبلاست المفصولة أو الأقراص الورقية أو النبات الكامل المعرض للضوء، وباستخدام أحد فاصلات الفسفرة الضوئية الدائرية مثل بيرفليودان Perfluidane فإن انحلال الماء وانطلاق الإلكترون خلال نظام السيتوكروم أو إلي NADP فإنه لم يحدث له تثبيط، ولكن هذه العملية يحدث لها انفصال عن عملية إنتاج ATP، ومن الصعب تمييز المركبات من هذا النوع باستثناء حساب تثبيت ثاني أكسيد الكربون لكل وحدة أكسجين منطلق يمكن أن تختزل.

وتؤدي مبيدات الحشائش من مجموعة البيريديليوم مثل الدايكوات والباراكوات تأثيرها السام في النباتات بالتنافس مع مادة الفيرودوكسين المختزلة (FRS) لاستقبال الإلكترون الآتي من النظام الضوئي الأول، ويوضح شكل (٣) تكوين الشق الحر للباراكوات عن طريق الإلكترون المنطلق من التمثيل الضوئي وإعادة أكسدته بالأكسجين والماء ليتكون في المحصلة مادة مؤكسدة عالية السمية (H_2O_2).



شكل (٣): تكوين الشق الحر للباراكوات عن طريق الإلكترون المنطلق من التمثيل الضوئي وإعادة أكسدته بالأكسجين والماء ليتكون في المحصلة مادة مؤكسدة عالية السمية (H_2O_2).

وإيقاف الدايكوات والباراكوات للإلكترون يمنع اختزال NADP إلى NADPH ولكنه لا يؤثر على الفسفرة الضوئية الدائرية وغير الدائرية، وعند استخدام مادة مختزلة لـ NADPH فإن النباتات المعاملة بالدايكوات أو الباراكوات يمكن أن يكون لها قدرة على تثبيت ثاني أكسيد الكربون فقط. وبينما ثبت هذا فإن هذه المبيدات لها أيضاً سمية سريعة بالملامسة لدرجة أنه لا يمكن تفسيرها بتثبيط تثبيت CO_2 فقط، وعموماً فإنه من المتوقع أن مركبات البريديليوم المستخدمة على النبات في صورة كاتيونات عندما تختزل بواسطة الإلكترون المنطلق من النظام الضوئي الأول وتصبح شق حر، و هذا الشق الحر المختزل يعاد أكسدته بواسطة جزيء أكسجين ثم يختزل بالماء ليكون فوق أكسيد الهيدروجين، وذلك كما هو موضح في شكل (٣). وفوق أكسيد الأيدروجين مادة مؤكسدة عالية السمية قد تسبب سمية سريعة يمكن ملاحظتها مع الباراكوات والدايكوات بزيادة نفاذية أغشية الخلية مما ينتج عنه تمزيق كامل للتكوين الخلوي، ولذا فإنه دائماً يهتم بمبيدي الباراكوات والدايكوات في مناقشات مبيدات الحشائش والتمثيل الضوئي. حيث أن هذين المبيدين يعتمدان على جزيء الأكسجين والإلكترون المنطلق في التمثيل الضوئي في تأثيرهما السام السريع للنبات، وأيضاً فإن سمية الباراكوات والدايكوات يمكن أن تصاحب الإلكترون المنطلق من التنفس وهذا النظام لم يظهر أنه عكسي، ولذا فإن أعراض السمية الضوئية تظهر ويحدث موت للنباتات ولكن ببطء في الظلام.

٥- التأثير على التنفس

يصاحب تثبيط التمثيل الضوئي احتجاز الطاقة وتثبيط عمليات التخزين في النبات ونفس الشيء فإن الكيماويات التي تقلل التنفس يمكن أن تعمل كمثبطات للطاقة المنطلقة والطاقة المستخدمة ، وهذه المركبات تمنع العمليات التي تتحول فيها الطاقة الكيماوية (كربوهيدرات ، لبيدات) إلى جزيئات فوسفات غنية بالطاقة (ATP) ،

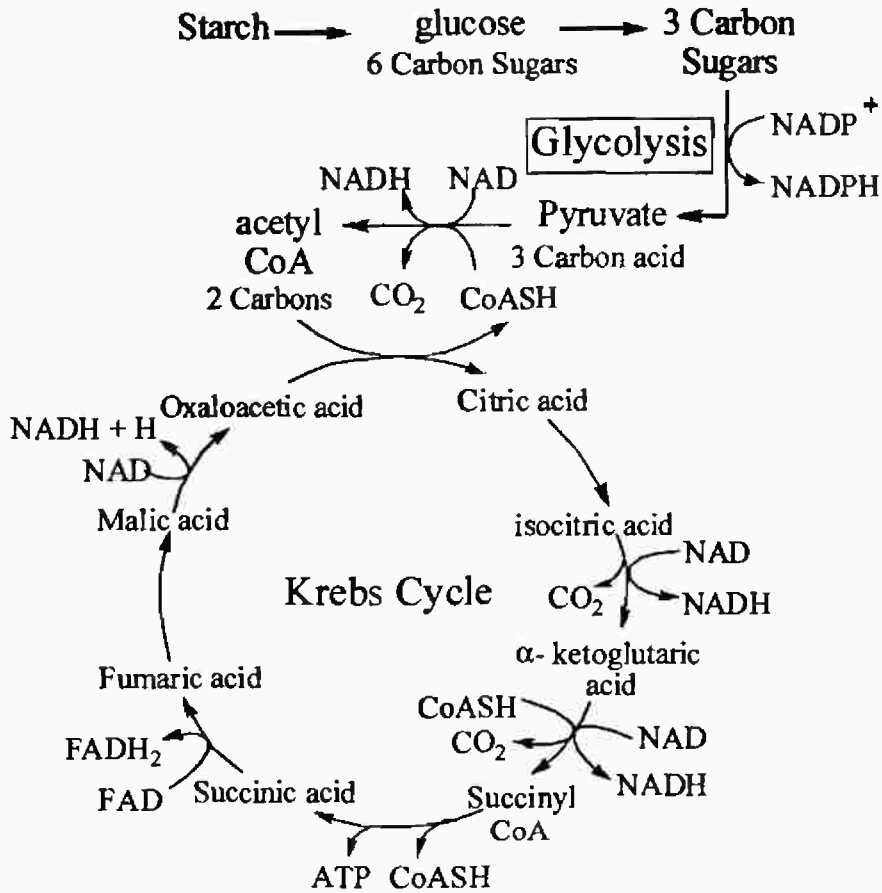
وبيريدين نيكلوتيدات (NADPH) ، وثاني أكسيد الكربون ، والماء ، والحرارة ، وحيث أن عملية التنفس تتشابه في أساسها في كثير من الكائنات الحية ولذا فأنه ليس من المستغرب أن مبيدات الحشائش أو مبيدات الآفات التي تثبط التنفس تكون سامة للثدييات وكذلك الكائنات غير المستهدفة ومن المعروف إن هناك ثلاث عمليات أساسية يتم خلالها التنفس وفيها تتحول النشا إلى سكريات.

٥-١- الجلكزة

تجرى عملية الجلكزة في السيتوبلازم وفيها يتحلل النشا إلى سكر ثم يكسر ويتأكسد إلى حمض بيروفيك ثلاثي الكربون، ويستخدم الإلكترون المنطلق بواسطة عملية فقد الهيدروجين في إنتاج NADPH شكل (٤).

٥-٢- دورة كربس

تتم على سطح الغشاء الداخلي للميتاكوندريا (كرستيا) وهي عبارة عن سلسلة دائرية من تفاعلات البناء والتي تتحول فيها أحماض عضوية مختلفة من شكل لآخر، وأحد وظائفها استعادة الطاقة من الكربوهيدرات المخزنة أو الليبدات. وحمض البيروفيك الناتج النهائي لعملية الجلكزة يكون أول المركبات التي تدخل في تفاعل داي هيدروجينيز الذي يشمل المرافق الإنزيمي ASH والذي ينطلق فيه CO_2 ، NADH بالإضافة إلى أستيل CoA الذي ينتج أيضاً، ويحدث تداخل أو اشتراك بين المرافق الإنزيمي أو حامض أكسالوأسيتيك ليدخلا في دورة كربس الفعلية وفي سلسلة من التحولات الداخلية من حمض الكربوكسيلك فإنه يحدث تجديد لحمض أكسالوأسيتيك لتستمر دورة كربس. وفي هذه العملية تحدث تفاعلات داي هيدروجينيز والتي ينتج فيها NADH ، $FADH_2$ أو ATP وكذلك فإن ذرتي الكربون التي دخلت الدورة كأسيتات (في أسيتل CoA) ينطلقا مرة ثانية في صورة جزيئين من ثاني أكسيد الكربون.

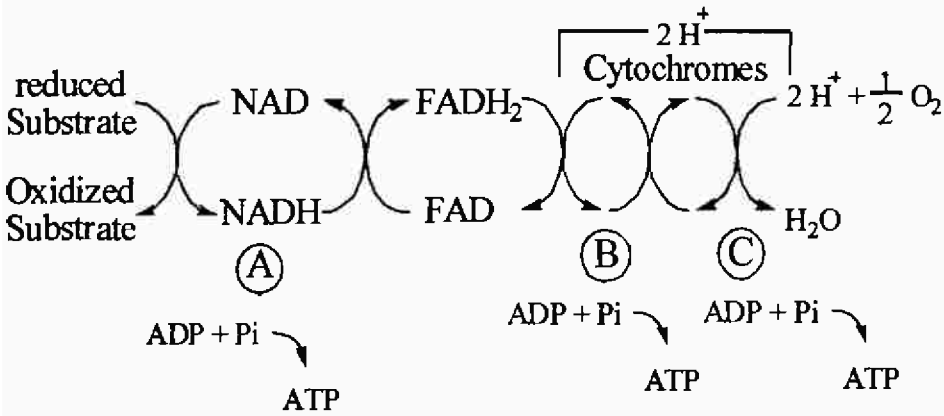


شكل (٤): أكسدة الكربوهيدرات والأحماض العضوية إلى ثاني أكسيد الكربون بالجلكزة ودورة كربس ويثبط حمض البنزويك والبيكولينك استخدام حامض السيكسينك والفاكيتوجلوتاريك بهذه الدورة (عن Foy and Penner, 1965).

٥-٣- انتقال الإلكترون والفسفرة التأكسدية

تتم داخل الكرستيا (الميتوكوندريا) وفيها يمكن استخدام جزيئات البيريدين نيكلوتيدات المختزلة مثل NADH، $FADH_2$ الناتجة من دورة كربس في تفاعلات بنائية أخرى في الخلية لإنتاج مركبات فوسفاتية غنية بالطاقة ATP، وينتقل الهيدروجين والإلكترون عن طريقين إما عن طريق نظام السيتوكروم أو نظام نقل

الإلكترونات حيث يقوم الأكسجين بدور المستقبل الأساسي للإلكترون لتكوين الماء، وتحدث الفسفرة كتفاعل من خلال ثلاث نقط في نظام نقل الإلكترون حيث تمسك بواسطة وسيطات لعملية الأكسدة وانتقال الإلكترون شكل (٥).



شكل (٥): الإلكترون المنطلق عن طريق التنفس وامتصاص الأكسجين وإنتاج الماء وتفاعلات الفسفرة المصاحبة وفصل الأكسدة الفوسفورية عن طريق فصل الأكسدة والإلكترون المنطلق من الفسفرة بإنتاج مركبات وسيطة غير مناسبة عند النقط (A)، (B)، (عن Mc Ewen& Stehpenson, 1979) (C).

وعند انتقال زوج من الإلكترونات إلى نظام السيتوكروم فإنه إذا تم الانتقال عن طريق NADH أو عن طريق $FADH_2$ فإنه يتكون في الحالة الأولى جزيئين ATP وفي الحالة الثانية ثلاثة جزيئات ATP من كل ذرة أكسجين مختزلة ولهذا فإن نظام الميتاكوندريا ذو الالتصاق أو التماسك الشديد لها معدل P/O مابين ٢ إلى ٣، ولقد درست عملية التنفس باهتمام شديد. ويمكن تقسيم مبيدات الحشائش حسب تأثيرها على عملية التنفس في الميتاكوندريا إلى مثبطات أو مبيدات تفصل تفاعلي الأكسدة والفسفرة. ويوضح جدول (١١) هذا التقسيم.

جدول (١١): فاصلات الأكسدة الفوسفورية و مثبطات التنفس.

فاصلات الأكسدة الفوسفورية	مثبطات التنفس
الفينولات الإستبدالية (دينوسيب Dinoseb، PCP، DNOC، DNP)	أحماض البنزويك (ديكامبا Dicamba، أمبين Amben، 2,3,6-TBA)
هيدروكسي بنزونيتريلات (أوكسونيل، بروموأكسونيل)	أحماض البيكولينيك (بيكلورام)
الفينوكسي (2,4,5-T، 2,4-D)	الأميدات (بروبانيل، Allidochlor)

٥-٤- مثبطات التنفس والفاصلات

٥-٤-١- مثبطات التنفس

تقلل المركبات التي تعمل كمثبطات للتنفس كل من كمية الأكسجين الممتص والفسفرة (إنتاج ATP) في الميتاكوندريا، وتعمل مبيدات الحشائش من مجموعة حمض البنزويك وحمض البيكولينك على تثبيط واحد من تفاعلات دورة كربس، وقد وجد عند إمداد الميتاكوندريا المفصولة من الخيار بحمض السكسنيك كمادة أولية وحيدة أن هذه المبيدات تثبط الأكسجين الممتص والفسفرة عندما تستخدم الفا- كيتوجلوتاريت α-Ketoglutarate كمادة أساسية فانه يحتاج إلى تركيزات عالية من مبيدات الحشائش للتثبيط ومع ذلك فإنه لم يمكن تحديد الخطوة التي يتم فيها التثبيط في دورة كربس وتثبيط أي خطوة سوف يقلل من المادة الأساسية للتفاعلات التالية وبالتالي تقلل أو توقف الدورة بأكملها، ويتمثل التأثير النهائي في نقص انطلاق CO_2 وتكوين ATP و

NADH والأكسجين الممتص وذلك لأن انتقال الإلكترون والفسفرة يعتمدا على NADH و $FADH_2$ المتولد من دورة كربس.

٥-٤-٢- الفاصلات

عند تعريض نظام التنفس للكيماويات الفاصلة فإن عملية التأكسد تستمر ولكن عملية الانفصال تتم عند عملية الفسفرة وإنتاج ATP، وتستمر دورة كربس ويتصاعد CO_2 ويتكون NADH و $FADH_2$ ويحدث انتقال للإلكترون من خلال نظام السيتوكروم ويمتص الأكسجين وينتج ماء. ولكن تفاعلات الفسفرة تحدث بمعدل منخفض، والفينولات الاستبدالية أكثر المركبات لها قدرة على إحداث هذا التأثير وتشبه كثيراً المركبات الفاصلة حيث أنهما غالباً يعملان على تشجيع نشاط دورة كربس وامتصاص الأكسجين. ومن المحتمل إنهما يفصلا هذه العملية عن الفسفرة، ويستخدم مركب DNP (داي نيتروفينول) كنموذج كيميائي حيوي متفق عليه لإنتاج نظام تنفسي غير متصل في تجهيزات الميتاكوندريا، وإذا كان الأكسجين المنطلق من قطاعات النسيج الحي أو الميتاكوندريا المفصولة قد تم حثه ببعض المركبات التجريبية، ولا يمكن زيادة حثه بمعالجة إضافية بالداي نيتروفينول لأن حساسية الداي نيتروفينول قد تعني أن النظام أصبح مفصول وأن هذه المواد التجريبية يمكن أن تكون فاصلات، وحيث أن الفسفرة قد قلت وأن انطلاق الأكسجين قد تم إثارته فإن الإثبات الكيميائي الحيوي المتفق عليه هو أن المركب الذي يعمل كفاصل هو الذي يقلل معدل P/O، وإذا كان النظام المنفصل ينتج أقل من جزيئين ATP لكل جزيء أكسجين مختزل بالمقارنة بالنظام المتصل العادي يكون معدل P/O أقرب إلى ٣.

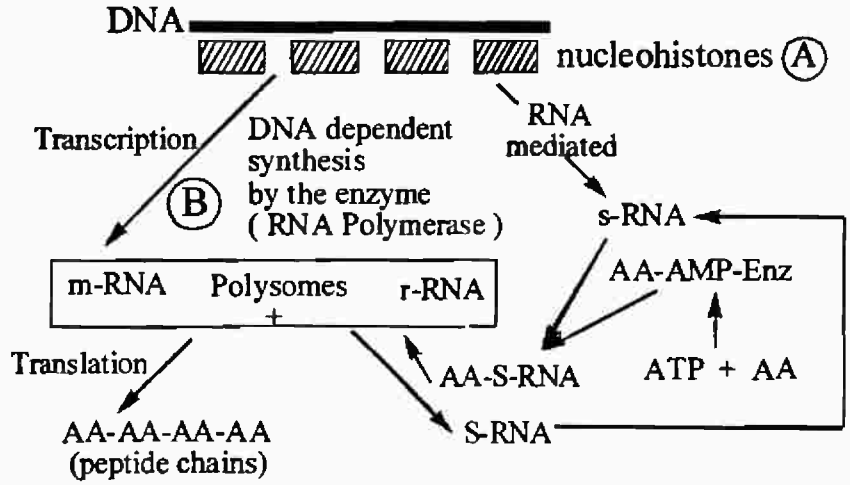
٦- التأثير على بناء الأحماض النووية وتخليق البروتين

يبدو أن DNA الموجود بكروماتين الخلية أو النواة يحجب بالبروتين النووي أثناء عملية تخليق البروتين وأن للبروتين النووي دوراً في تقدير مواقع DNA الناسخة للـ RNA وتخليق البروتين، ويعتقد أيضاً أن إنزيم RNA بوليمريز له دور هام داخل النواة في بلمرة الأحماض النووية لتخليق RNA، وفي عملية النسخ يتكون على الأقل ثلاثة أنواع من RNA وهي حامل الرسالة (mRNA) الذي يصبح نسخه سيتوبلازمية لشفرة DNA، وريبوسوم RNA (rRNA) والذي يشترك مع (mRNA) لتكوين قالب البروتين المخلق، وRNA الذائب (sRNA) أو المنتقل والذي يشترك مع الأحماض الأمينية النشطة. (aa-AMP-enzyme complex) ويشمل جزء الترجمة في العملية حركة الأحماض الأمينية في شكل جزيئات نشطة من aminoacyl-sRNA إلى بوليسوم نشط (mRNA + ribosome complex)، ونظام تجميع هذه الأحماض الأمينية في سلسلة متوالية من قوالب mRNA والتوافق بين الأحماض الأمينية لتكوين سلسلة ببتيدية من البروتين يشمل العامل السيتوبلازمي أو الهرمونات الطبيعية أو الجزيئات الغريبة مثل مبيدات الحشائش أو مبيدات الآفات الأخرى والتي يمكن أن تؤثر على تخليق البروتين بعدة طرق مختلفة أهمها:

١- أن هذه المركبات يمكن أن تدخل النواة وترسب أو تزيل بعض حوائل الهستوين ولهذا ينكشف جزء من شفرة DNA للنسخ.

٢- يمكن أن ينشط العامل السيتوبلازمي إنزيم بوليمريز RNA وبالتالي يدخل النواة وتبدأ عملية النسخ وتخليق RNA، وهناك ميكانيكية أخرى وهي احتمال أن العامل السيتوبلازمي يمكن أن يحدث تخليق البروتين بالتأثير على sRNA أو الريبوسومات ويتداخل مع جزئ الترجمة في العملية.

ويوضح شكل (٦) رسم تخطيطي لتخليق البروتين، ويعتقد أن 2,4-D والمبيدات الشبيهة تزيد من انتاج RNA بالتأثير على النيكلوهيستونات (A) أو إنزيم بلمرة RNA (B).



شكل (٦): تخليق البروتين ودور مبيد 2,4-D ومبيدات الحشائش القريبة له في زيادة إنتاج RNA بالتأثير على فعل الهستوين النووي أو على RNA بوليمريز (عن Mc Ewen& Stehpenson, 1979).

بصفة عامة فإن مبيد الحشائش 2,4-D يعتبر من أكثر المبيدات التي درست بتوسع بالنسبة لتأثيره على الحمض النووي وتخليق البروتين في النبات، ومن المسلم به أنه يعمل في النبات بطريقة مشابه للأكسين الطبيعي الموجود في النبات وهو أندول حمض الخليك وهذا المركب يؤثر على تخليق البروتين، وقد ترجع السمية العالية لمركبات 2,4-D والأكسينات المختلفة (مثل 2,4,5-T ، ديكامبا ، بيكلوران ..... الخ) إلى حقيقة أن هذه المركبات لا تتأكسد بسهولة كبيرة أو يقف نشاطها بالنبات أكثر من الأكسين الطبيعي، ومن أهم مبيدات الحشائش التي تؤثر على تخليق الأحماض النووية

والبروتين أحماض الفينوكسي (2,4-D ، 2,4,5-T)، أحماض البنزويك (ديكامبا) وأحماض البيكولينيك (بيكلورام).

ولقد لوحظ في دراسة على 2,4-D أنه يسبب زيادة واضحة في كمية RNA المختلفة في النباتات الحساسة، كما وجد أيضاً أن المركبات السابقة تزيد من كمية DNA و RNA ومن كمية البروتين في القمح المقاوم وفي جذور نباتات الخيار الحساسة، ولوحظ أيضاً أنه عند زيادة مستوى مبيدات الحشائش لحد السمية أن تخليق RNA لكل وحدة DNA يزيد في نباتات الخيار الحساسة ولكن يقل في نباتات القمح المقاومة، وأكثر من ذلك فإن نباتات الخيار الحساسة المعاملة يقل بها معدل تخليق البروتين لكل وحدة RNA بشدة، ويقترح أن إضافة RNA للنبات الحساس يكون غير فعال، وفي دراسات أخرى وجد أن كل من الديكامبا و 2,4-D يقلل من عدد بروتينات الهيستوين النووي المستخلصة من القمح، واقترح أن مبيد الحشائش يؤثر على البروتين المخلق بتفاعله مع مستوى هيستوين DNA، ولقد لخص تأثير مبيدات الحشائش الأوكسينية والهرمونات المحتمل وجودها طبيعيا على البروتين المخلق بالتفاعل أو بالعمل في عملية نسخ RNA-DNA واقترح أن مبيدات الحشائش أو الهرمونات تتفاعل أولاً مع العامل الستوبلازمي (المستقبل الهرموني) الذي يلتحق بالنواة ويبدأ عملية النسخ بتأثيره سواء على الهيستوين أو بوليمرز RNA أو الاثنين معاً، ومازالت العلاقة بين تأثير 2,4-D عند هذا الحد وموت النبات غير واضحة، ومن المعروف أنه بالرغم من أنه بعد نفاذية المبيد بالرش عند معاملة المجموع الخضري فإن 2,4-D لا يتوزع خلال الأنسجة الحية وهذا يعتمد على التركيز ومن المحتمل أن 2,4-D قد يثبط أو يشجع نمو النبات. وبالإضافة لذلك فإنه لا يتشابه مع الأكسين الطبيعي حيث أن تركيز 2,4-D في خلايا النبات أو في الأنسجة لا يمكن التحكم فيه بسهولة، كما أنه قد يشجع أو يحفز نمو بعض الخلايا أو الأنسجة بينما يثبط نمو بعضها الآخر وتكون

النتيجة حدوث نمو غير طبيعي وتشويه صفات النمو بالتورم وانحناء الساق وأعناق الأوراق مع تغير في شكل الورقة بثني وإلتواء الساق واستنزاف الاوراق والتي تعرف بتأثير التقوس، ويمكن ملاحظة تمزيق وهدم اللحاء وانسداد الخشب ميكروسكوبيا. وأكثر الاحتمالات هو أنة يحدث اختلال في النظام وهدم التركيب لعملية انتقال وامتصاص الأنسجة (الخشب واللحاء والأوراق) والتي تؤدى في النهاية إلى موت النبات.