

# Sintetički auksini kao herbicidi

---

**Kovačević, Jelena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:181:219148>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



**ODJEL ZA  
BIOLOGIJU**  
Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

ODJEL ZA BIOLOGIJU

Preddiplomski studij biologije

Jelena Kovačević

## **Sintetički auksini kao herbicidi**

Završni rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Janja Horvatić

Neposredni voditelj: dr. sc. Martina Varga

Osijek, 2017.

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Odjel za biologiju**

**Završni rad**

**Preddiplomski studij biologije**

**Znanstveno područje: Prirodne znanosti**

**Znanstveno polje: Biologija**

Sintetički auksini kao herbicidi

Jelena Kovačević

**Rad je izrađen:** Zavod za biokemiju i ekofiziologiju biljaka, Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Janja Horvatić

**Neposredni voditelj:** dr. sc. Martina Varga

**Sažetak:** Sintetički auksini, poput 2,4-D i Dikamba, su selektivni herbicidi za kontrolu širokolisnog korova koji aktivno ometaju ravnotežu biokemijskih procesa u ciljanim biljkama. U biljnim stanicama oponašaju djelovanje prirodnog auksina IAA. Sintetički auksini djeluju u tri etape koje obuhvaćaju aktivaciju metaboličkih procesa, abnormalni rast, inhibiciju rasta korijena i izdanka, senescenciju listova, klorozu i nekrozu biljnog tkiva te naposljetku smrt. Osim na biljne organizme, ovi herbicidi imaju i potencijalne toksične efekte na ostale pripadnike biocenoze, odnosno životinje mijenjajući njihov metabolizam stimulacijom ili inhibicijom enzima.

**Broj stranica:** 21

**Broj slika:** 6

**Broj literaturnih navoda:** 51

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** auksin, IAA, 2,4-D, herbicidi, selektivno djelovanje, ABP 1

**Rad je pohranjen u:** knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek Bachelor's thesis Department of Biology  
Undergraduate studies in Biology**

**Scientific Area: Natural science**

**Scientific Field: Biology**

Synthetic auxins as herbicides

Jelena Kovačević

**Thesis performed at** Subdepartment of plant ecophysiology and biochemistry, Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

**Supervisor:** Janja Horvatić, Associate Professor

**Assistant in charge:** PhD Martina Varga

**Abstract:** The common auxin herbicides, such as 2,4-D and Dicamba, are selective broadleaf weeds herbicides that affect the targeted plants by disrupting the fine balance of biochemical processes in plant cells. Synthetic auxins mimic naturally-occurring plant hormone IAA. They act in three phases including activation of metabolic pathways, abnormal growth, root growth inhibition, leaf senescence, chlorosis and necrosis leading to tissue and plant death. Herbicides can have potential toxic effect on animals as well, altering their metabolism by stimulation or inhibition of enzymes.

**Number of pages:** 21

**Number of figures:** 6

**Number of references:** 51

**Original in:** Croatian

**Keywords:** auxin, IAA, 2,4-D, herbicides, selectivity, ABP 1

**Thesis deposited in:** Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Osnovni dio .....	3
2.1 Struktura i klasifikacija auksinskih herbicida.....	3
2.2 Mehanizam djelovanja auksinskih herbicida.....	5
2.3 Biljne vrste otporne na djelovanje auksinskih herbicida .....	10
2.4 Utjecaj auksinskih herbicida na animalnu stanicu.....	12
3. Zaključak .....	16
4. Literatura .....	17

## 1. Uvod

Tijekom uzgoja, poljoprivredne kulture se za vodu, nutrijente, sunčevu svjetlost, ugljikov dioksid i prostor za rast bore s neželjenim korovima. Herbicidi su kemikalije rabljene za kontrolu rasta neželjenih korova s ciljem povećanja produkcije poljoprivrednih kultura. Većina herbicida su male molekule, koje inhibiraju specifična ciljana mjesta u važnim biokemijskim i fiziološkim putevima u biljnim stanicama. Ovakva inhibicija obično rezultira katastrofalnim i često smrtnim posljedicama za biljku. Herbicidi se generalno klasificiraju kao selektivni i neselektivni. Neselektivni herbicidi koriste se za oštećenje i uništavanje svih vrsta trava na nekom području pa se često koriste u čišćenju većih i jako zaraslih područja. S druge strane, selektivni herbicidi koriste se za kontrolu rasta određenih vrsta trava i obično djeluju kroz nekakav oblik narušavanja hormonske ravnoteže. Sintetički auksini se ubrajaju u selektivne herbicide i danas su skupina najvažnijih herbicida za kontrolu korova pri uzgoju žitarica. Auksinski herbicidi otvorili su novu eru kontrole korova zahvaljujući njihovoj selektivnosti. U biljkama imitiraju djelovanje prirodnog auksina, indol-3-octene kiseline (Romano i sur., 1993). Međutim, zahvaljujući većoj stabilnosti u biljnim tkivima zadržavaju se duže nego prirodni auksini pa na biljke imaju izraženije djelovanje. Nadalje, sintetički auksini djeluju u više etapa koje obuhvaćaju aktivaciju metaboličkih procesa poput biosinteze etilena i apscizinske kiseline, abnormalni rast, inhibiciju rasta korijena i izdanka, senescenciju listova, klorozu te naposljetku nekrozu biljnog tkiva (Grossmann, 2009). Ovakav učinak im omogućavaju efektivno djelovanje na ekspanziju stanice opuštanjem stanične stijenke, modifikaciju citoskeleta i veću produkciju reaktivnih kisikovih jedinki.

Sveprisutna je i opasnost stvaranja rezistencije biljnih vrsta na ovaj tip herbicida. Uzrok i kontrola otpornosti leže u jednom ili dva glavna gena, jednom alelu ili jednom recesivnom genu. No, čak i kroz duži vremenski period primjene sintetičkih auksina, relativno mala brojnost rezistentnih vrsta je zabilježena, vrlo vjerojatno zbog letalnih mutacija koje stvaraju ovu otpornost (Mithila i sur., 2011). Osim prethodno navedene potencijalne prijetnje, istraživanjem komponenti djelovanja izvan okvira biljne stanice, stvorila su se novootvorena pitanja o indirektnom učinku auksinskih herbicida na animalnu stanicu. Najčešće su istraživani modeli ponašanja i metaboličke promjene kukaca (Bohnenblust i sur., 2013), ali sve češće se pridonosi značaju odvedenijih zajednica kralježnjaka, primjerice riba (Braga da Fonseca i sur., 2007; Oruc i Uner, 1999).

Cilj ovog rada je objasniti mehanizam djelovanja sintetičkih auksina, zbog kojeg su u širokoj uporabi kao najučinkovitiji selektivni herbicidi. Također je važno ukazati na negativne strane ovih auksinskih herbicida, poput zahvaćanja neciljanih biljnih vrsta tijekom eliminacije korova na zajedničkom staništu te postoje li modifikacije metabolizma životinjskih vrsta povezanih hranidbenom mrežom s biljnim vrstama tretiranih sintetičkim auksinima.

## 2. Osnovni dio

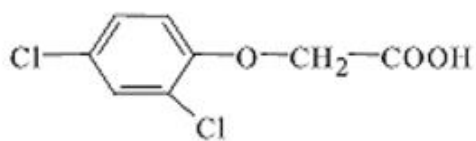
### 2.1 Struktura i klasifikacija auksinskih herbicida

Sintetički auksini po svojoj strukturi slični su indol-3-octenoj kiselini (IAA). Prema položaju karboksilne skupine i tipa aromatske grupe Ashton i Crafts (1981) podijelili su auksinske herbicide u tri skupine (slika 1):

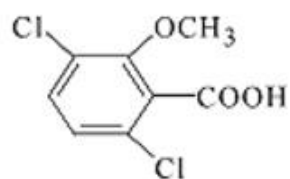
1. Fenoksil octene kiseline su tipovi selektivnih auksinskih herbicida. Rabe se za kontroliranje rasta biljnih vrsta poput pšenice, zobi, raži, riže, šećerne trske i slično. Nakon apsorpcije u vršnim dijelovima biljke, transportiraju se simplastom, uključujući i floem, te se akumuliraju u korijenju. U ovu skupinu ubrajaju se 2,4-diklorofenoksiocetna kiselina (2,4-D) i 2-metil-4-klorofenoksiocetna kiselina (MCPA).
2. Benzojeve kiseline su selektivni herbicidi koji su mobilni u tlu, ali se i brzo u tlu raspadaju. Pri djelovanju na neke biljne vrste, na primjer soju, utvrđena je veća biološka aktivnost u usporedbi s 2,4-D, dok je pri djelovanju na pamuk utvrđen slabiji učinak. U ovu skupinu ubrajaju se, na primjer Dikamba (3,6-dikloro-2-metoksibenzojeva kiselina) i Kloramben (3-amino-2,5-diklorobenzojeva kiselina).
3. Piridin karboksilne kiseline upotrebljavaju se u kontroli rasta velikog broja vrsta širokolisnih trava uz značajno veću uspješnost u usporedbi s 2,4-D (Bezdicek i sur., 2011). Ova skupina obuhvaća herbicide kao što su Pikloram (4-amino-3,5,6-trikloropiridin-2-karboksilna kiselina), Triklopir (3,5,6-trikloro-2-piridiloksiocetna kiselina) i Fluoksipir (4-amino-3,5-dikloro-6-fluoro-2-piridinoctena kiselina).

Naknadno su razvijeni i herbicidi kinolin karboksilne kiseline, koji se također ubrajaju u auksinske herbicide (Grossmann, 2010). U ovu skupinu ubrajaju se 7-kloro-3-metilkinolin-8-karboksilna kiselina (Quinmerac) i 3,7-diklorokinolin-8-karboksilna kiselina (Quinclorac).

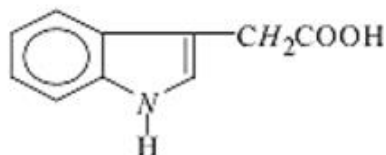




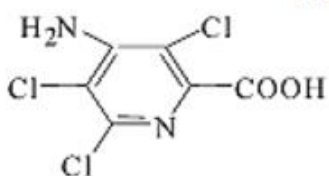
**Fenoksil octena kiselina - 2,4-D**



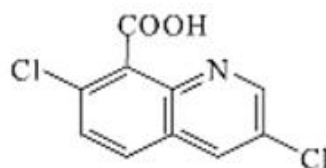
**Benzojeva kiselina - Dikamba**



**Indol-3-octena kiselina (IAA)**



**Piridin karboksilna kiselina - Pikloram**



**Kinolin karboksilna kiselina - Qinclorac**

**Slika 1.** Kemijske strukture i klasifikacija auksinskih herbicida i indol-3-octene kiseline (IAA) (prilagođeno prema Mithila i sur., 2011).

## 2.2 Mehanizam djelovanja auksinskih herbicida

Kada se primjenjuju kao herbicidi, sintetički auksini izazivaju iste posljedice poput konstantnog djelovanja visokih koncentracija IAA (Romano i sur., 1993). Djelovanje visokih koncentracija egzogenih auksina dovodi do neravnoteže auksina te poremećaja u interakcijama s drugim hormonima prisutnim u biljnim stanicama. Ova pojava opisana je kao „predoziranje auksinima“<sup>1</sup> (Grossmann, 2009). Uočene anomalije u rastu biljaka i posljedični smrtni ishod ukazuju na dovođenje auksinskih herbicida do pojave da se ciljane biljke pretjeranim rastom iscrpljuju do smrti. S obzirom da su auksinski herbicidi stabilniji u biljkama u usporedbi s IAA, kontinuiranom stimulacijom biljnog metabolizma uzrokuju nepravilne diobe i rast stanica, što dovodi do narušavanja cijelog procesa rasta biljke (Grossmann, 2000).

Djelovanje auksinskih herbicida na rast ciljane biljke može se razdvojiti u tri etape, što je prikazano na slici 2 i primjeru broćike *Galium aparine* L. (Grossmann, 2009).

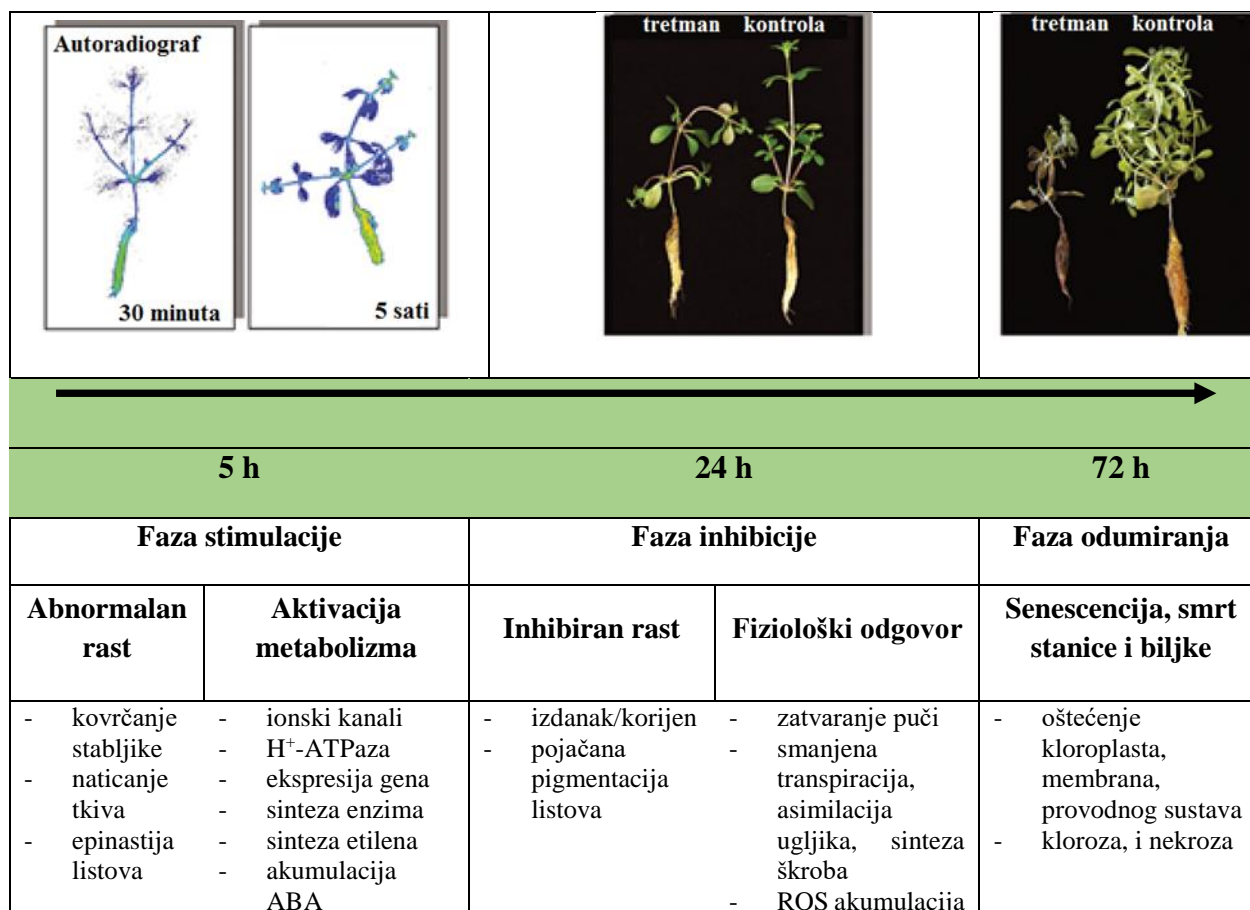
Prva etapa, do koje dolazi unutar nekoliko sati od aplikacije herbicida, nazvana je faza stimulacije. Ova etapa obuhvaća aktivaciju metaboličkih procesa: nakon jedan do dva sata od aplikacije dolazi do stimulacije biosinteze etilena kroz indukciju aktivnosti enzima sintetaze 1-aminociklopropan-1-karboksilne kiseline (ACC sintetaza) u tkivu izdanka, dok se nakon tri do četiri sata od aplikacije mogu primijetiti simptomi abnormalnog rasta uključujući epinastiju listova, naticanje tkiva i početni stadij kovrčanja stabljike. U procesu elongacije stanica važnu ulogu ima brza aktivacija membranskih ionskih kanala i H<sup>+</sup>-ATPaze u plazmalemi. Nakon pet do osam sati od aplikacije u tkivu izdanka dolazi do nakupljanja abscizinske kiseline (ABA).

Druga etapa, do koje dolazi unutar 24 sata od početka djelovanja auksinskih herbicida na biljke, obuhvaća inhibiciju rasta korijena te nastavak inhibicije rasta izdanka, ali i povećanu pigmentaciju listova. Paralelno s tim, utvrđeno je zatvaranje puči, što za posljedicu ima smanjenu stopu transpiracije i asimilacije ugljika te sinteze škroba, a utvrđena je i povećana produkcija reaktivnih kisikovih čestica (eng. reactive oxygen species, ROS) i pojava oksidacijskog stresa.

U trećoj etapi dolazi do ubrzane senescencije listova koju karakterizira oštećenje kloroplasta i progresivna kloroza te narušavanje integriteta, kako samih membrana, tako i jelog provodnog sustava, što rezultira venućem, nekrozom i konačno smrti biljke.

---

<sup>1</sup> eng. auxin overdose



**Slika 2.** Tri faze djelovanja auksinskih herbicida na broćiku *Galium aparine* L. nakon primanja preko korijena i distribucije u biljci (prilagođeno prema Grossmann, 2009).

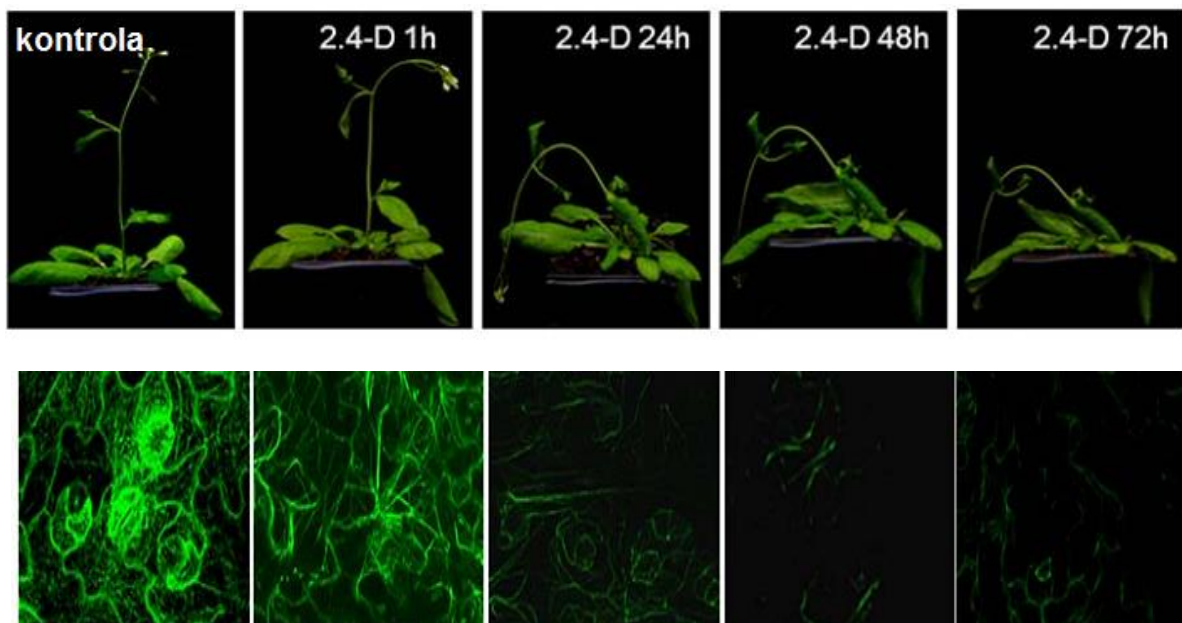
S obzirom da sintetički auksinski herbicidi oponašaju djelovanje prirodnih biljnih hormona, za razumijevanje mehanizma njihovog djelovanja u biljnim stanicama važno je istraživanje i poznavanje molekularnih mehanizama samih prirodnih auksina. To uključuje identifikaciju auksinskih receptora, modeliranje procesa regulacije meristemskih funkcija ovisnih o auksinima, razumijevanje regulacije transporta auksina te otkrivanje novih putova biosinteze auksina (Sieburth i Lee, 2010).

Djelovanje auksina na stanicu počinje njihovim vezanjem za specifični receptor na plazma membrani ABP<sup>1</sup> čime se pokreću brze metaboličke promjene unutar stanice (Napier i sur., 2002). Vezanjem na ABP 1 receptor, auksini uzrokuju hiperaktivnost protonskih pumpi, odgovornih za održavanje pH gradijenta između apoplasta i simplasta. Kada dođe do

<sup>2</sup> eng. Auxin-binding protein 1

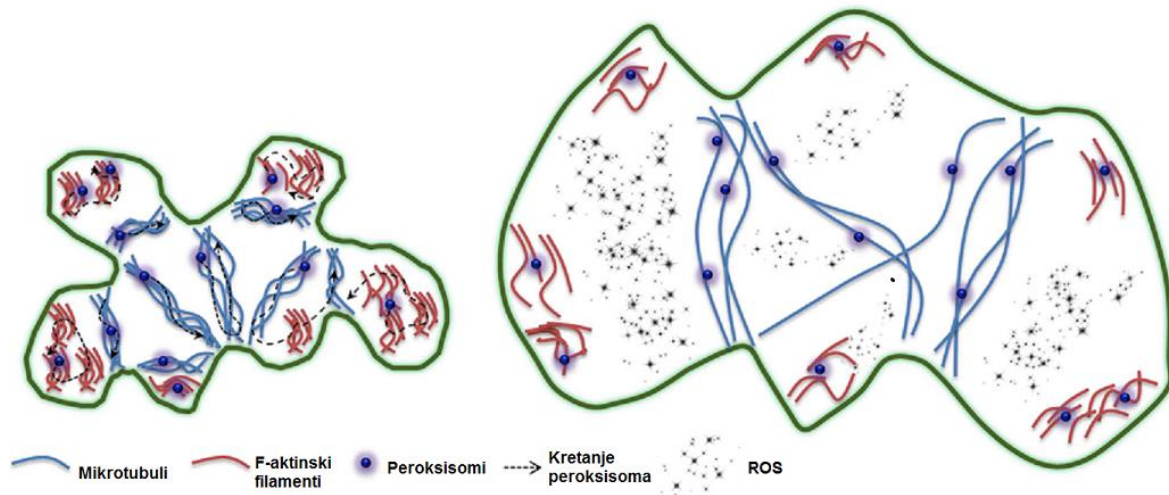
akumulacije protona izvan stanice, smanjuje se pH vrijednost izvanstaničnog prostora. Narušavanje ove ravnoteže dovodi do otvaranja kanala za kalijeve ione i njihovo pumpanje u stanicu. Povećanje koncentracije kalijevih iona u stanici za posljedicu ima ulazak vode preko akvaporina te povećanje turgescencije stanice (Maeshima, 2001). Zakiseljavanje apoplasta aktivira proteine ekspanzine u staničnoj stjenici, koji prekidaju nekovalentne veze između celuloze i hemiceluloze te uzrokuju opuštanje stanične stijenke, ulazak vode u stanicu te širenje stanice (Wolf i sur., 2012).

Vežanjem na ABP1, auksini aktiviraju i male G proteine, koji imaju važnu ulogu u aktivaciji signalnih kaskada uključenih u rast i razvoj (Barken i Wittinghofer, 2008). Aktivacijom ovih proteina auksini djeluju na proces organizacije aktinskih filamenata i mikrotubula u citoskeletu (Xu i sur., 2010). Rodríguez-Serrano i sur. (2014) pokazali su da promjena strukture citoskeleta u stanicama *Arabidopsis thaliana* pod utjecajem herbicida 2,4-D, utječe na pokretljivost, ali i metabolizam peroksisoma i mitohondrija u stanici (slika 3). Uočene promjene citoskeleta nisu posljedica degradacije aktina, nego postranslacijskih modifikacija strukture, koji onemogućavaju polimerizaciju F-aktina.



**Slika 3.** Utjecaj 2,4-D na vrstu *Arabidopsis thaliana* ovisno o vremenu izloženosti. Biljke su herbicidom koncentracije 23  $\mu$ M tretirane jednom preko lista. Fotografirana je ista biljka u različitim vremenima tretmana (0-72h). Fotografije prikazane u drugom redu predstavljaju vizualizaciju djelovanja herbicida 2,4-D na citoskelet epidermalnih stanica listova *A. thaliana*. Tijekom eksperimenta utvrđena je značajna redukcija vezanja i polimerizacije aktina pod utjecajem 2,4-D auksinskog herbicida (fotografije iz Rodríguez-Serrano i sur., 2014).

Promjene u metabolizmu peroksisoma i mitohondrija dovode do veće produkcije reaktivnih kisikovih jedinki i smanjene sposobnosti uklanjanja ROS-a u peroksisomima (slika 4) te u stanici dolazi do pojave intenzivnog oksidacijskog stresa (Cristoffoleti i sur., 2015).



**Slika 4.** Shematska slika lijevo predstavlja normalnu aktivnost peroksisoma koji s dinamičkim kretanjem uklanja ROS iz različitih dijelova stanice. Kada se tretira visokim koncentracijama auksina (desno) struktura i raspored aktinskih filamenata i mikrotubula rezultira ograničenim dometom i usporenim kretanjem peroksisoma, što vodi do jakog oksidativnog stresa i smrti stanice (prilagođeno prema Cristoffoleti i sur., 2014).

Važan faktor za inhibiciju rasta i toksičnost auksina je i povećana produkcija etilena i apscizinske kiseline. Etilen je biljni hormon, koji ima važnu ulogu u velikom broju fizioloških reakcija uključenih u rast i razvoj te odgovor na stresno djelovanje iz okoliša (Bleecker i Kende, 2000). Istraživanja su pokazala da biljke pod utjecajem 2,4-D sintetiziraju značajno veće koncentracije etilena u usporedbi s djelovanjem prirodnog auksina IAA (Abeles i sur., 1992). Mijenjanjem orijentacije mikrotubula, etilen stimulira lateralnu ekspanziju stanica, što dovodi do naticanja tkiva stabljike i korijena. Iako točna uloga povećane produkcije etilena u molekularnom mehanizmu djelovanja auksinskih herbicida još nije u potpunosti istražena, može se zaključiti da je sinteza etilena sekundarni odgovor na djelovanje auksinskih herbicida.

Kao posljedica povećane sinteze etilena dolazi i do akumulacije apscizinske kiseline (Kraft i sur., 2007). Povećana akumulacija apscizinske kiseline utvrđena je u brojnim vrstama

dvosupnica pri djelovanju različitih skupina auksinskih herbicida i IAA. Auksini izazivaju *de novo* biosintezu apscizinske kiseline isključivo u tkivu izdanka kroz povećanu razgradnju ksantofila i produkciju ksantoksina, prekursora za sintezu ABA (Hansen i Grossmann, 2000). Akumulacija apscizinske kiseline u korelaciji s inhibicijom rasta utvrđena je u brojnim vrstama dvosupnica iz porodica *Rubiaceae*, *Solanaceae*, *Umbelliferae*, *Fabaceae*, *Scrophulariaceae* i *Convolvulaceae* pri djelovanju različitih auksinskih herbicida (Grossmann i Kwiatkowski, 1996; Hansen i Grossmann, 2000). Apscizinska kiselina je važan biljni hormon, koji potiče scenescenciju i utječe na rast biljaka kroz kontrolu otvorenosti puči i staničnu diobu. Povećanje koncentracije apscizinske kiseline u biljkama u značajnoj je korelaciji sa zatvaranjem puči i posljedičnom inhibicijom transpiracije, asimilacije ugljika i pojavom oštećenja listova. Zbog zatvaranja puči dolazi do smanjenja fotosintetske aktivnosti i produkcije ROS-a.

Kod biljaka graška, izlaganih auksinskom herbicidu 2,4-D, došlo je do pojave simptoma karakterističnih pri akumulaciji visokih koncentracija vodikovog peroksida, što su peroksidacija lipida, oksidacija proteina i indukcija proteolize (Romero-Puertas i sur., 2004). Akumulacija vodikovog peroksida može biti posljedica povećane aktivnosti NADPH oksidaze inducirane apscizinskom kiselinom, kao i povećane koncentracije Cu/Zn superoksid dismutaze u stanicama (Grossmann i sur., 2001).

Istraživanja djelovanja selektivnog auksinskog herbicida Quinclorac-a na trave pokazala su da za izazivanje simptoma, kao što su progresivna kloroza listova i konačno nekroza cijelog izdanka, nije dovoljna samo herbicidom izazvana povećana koncentracija ABA-e i vodikovog peroksida (Abdallah i sur., 2006; Grossmann, 2003). Moguće je da u izazivanju oštećenja u biljnim tkivima ulogu ima i cijanid, koji nastaje kao nusprodukt sinteze etilena (Tittle i sur., 1990). Koncentracije cijanida u tkivu tretiranih biljaka povećaju se s približno 5  $\mu\text{M}$  do 18  $\mu\text{M}$  nakon 53 h te čak do 50  $\mu\text{M}$  nakon 96 h tretmana herbicidom (Grossmann i Kwiatkowski, 1996). Akumulacija cijanida ovisi, ne samo o koncentraciji herbicida, nego i vremenu izloženosti te je u visokoj korelaciji s pojavom simptoma kao što su inhibicija rasta, smanjenje koncentracije klorofila i redukcija asimilacije ugljika (Grossman 2003; Grossmann i Kwiatkowski, 1996).

## 2.3 Biljne vrste otporne na djelovanje auksinskih herbicida

Kontinuiranom primjenom auksinskih herbicida zabilježen je i porast broja vrsta otpornih na njihovo djelovanje. Smatra se da je upravo sve veća i raširenija upotreba u poljoprivredi i konstantan pritisak herbicidima glavni pokretač evolucije biotipova otpornih na herbicide, uključujući i sintetske auksine (Devine i Shukla, 2000). Otpornost na djelovanje auksinskih herbicida u usporedbi s drugim tipovima herbicida relativno je rijetka pojava, s obzirom da je zabilježena kod samo 29 vrsta korova (Mithila i sur., 2011). Godine 1957. u Kanadi je otkrivena prva vrsta rezistentna na auksinske herbicide, divlja mrkva, *Daucus carota* L.

Za razumijevanje evolucije rezistencije biljnih vrsta na djelovanje auksinskih herbicida potrebno je istražiti proces nasljeđivanja ove osobine. Za razliku od poljoprivredno važnih kultura, kod kojih je nasljeđivanje željenih osobina široko istraživano, mali je broj istraživanja koji u fokusu imaju nasljeđivanje rezistentnosti na herbicide kod različitih vrsta trava i korova. Međutim, poznato je da je osobina otpornosti na većinu tipova herbicida, uključujući i auksinske herbicide, kontrolirana jednim genom ili u vrlo malom broju slučajeva s dva glavna gena (Preston i Mallory-Smith, 2001). To je potvrđeno istraživanjem nasljeđivanja otpornosti na 2,4-D, Dikamba i Pikloram kod vrste *Sinapis arvensis* L., koje je pokazalo kontrolu otpornost jednim dominantnim genom (Jugulam i sur., 2005). Preston i suradnici (2009) pokazali su da je i kod vrste *Kochia scoparia* L. otpornost na Dikamba herbicid kontrolirana jednim alelom, koji ima visok stupanj dominantnosti. S druge strane, kod vrsta *Centaurea solstitialis* L. i *Galium sourium* L. otpornost na auksinske herbicide kontrolirana je jednim recesivnim genom (Sabba i sur., 2003; Van Eerd i sur., 2005). Unatoč dugom periodu upotrebe ovih herbicida, relativno mali broj vrsta otpornih na njihovo djelovanje, kao i nemogućnost njihove evolucije i širenja, može biti posljedica iznimno rijetkog pojavljivanja rezistentnih jedinki (i rezistentnih gena) ili činjenice da mutacije, koje daju rezistentnost, mogu biti letalne pa se ni ne nasljeđivati u populaciji (Mithila i sur., 2011). Prirodne mutacije, koje dovode do rezistencije na djelovanje auksinskih herbicida, mogu biti posljedica vezanja gena za rezistentnost uz jedan ili više drugih gena i zajedničko nasljeđivanje (Mithila i sur., 2011).

Među biljnim vrstama otpornih na djelovanje auksinskih herbicida najbolje je istražen mehanizam rezistencije kod vrste *Sinapis arvensis* L. (Hall i sur., 1996; Zheng i Hall, 2001). Na temelju usporedbe odgovora osjetljivih i otpornih biotipova može se zaključiti da rezistencija kod gorušice nije rezultat promjena u primanju, translokaciji ili metabolizmu samog

auksinskog herbicida unutar biljke. Primijećeno je da osjetljivi biotipovi sintetiziraju znatno veće koncentracije etilena nego rezistentni (Hall i sur., 1993), što je pripisano razlikama u primarnom mjestu djelovanja, odnosno receptoru na plazma membrani. Receptor ABP 1 kod osjetljivih biotipova ima vezno mjesto visokog i niskog afiniteta, dok kod otpornih biotipova ima samo vezno mjesto niskog afiniteta za vezanje auksina. Stoga su odgovori na djelovanje auksina u razini membrane bili slabiji kod otpornog biotipa, uključujući i slabiju staničnu ekspanziju u odsustvu auksina (Webb i Hall, 1995). S druge strane, kod vrste *Galeopsis tetrahit* L. otpornost na djelovanje MCPA herbicida posljedica je smanjene translokacije herbicida u izdanak i više stope metaboličke razgradnje u korijenu (Weinberg i sur., 2006).

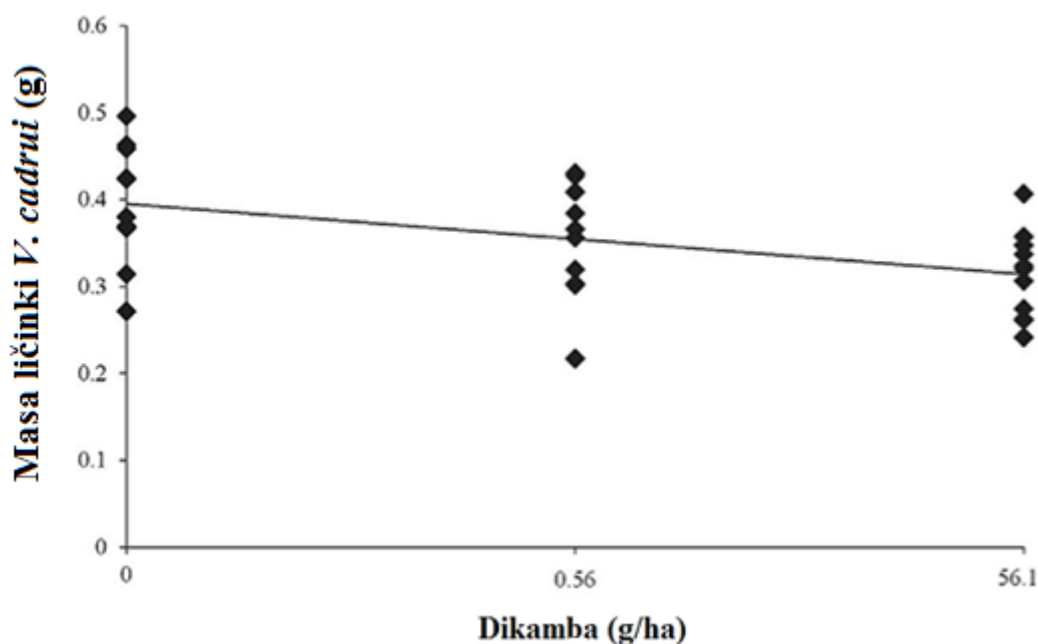
Kod vrsta otpornih na djelovanje 2,4-D utvrđeno je nekoliko različitih gena, koji omogućavaju otpornost. Istraživanja profesora Yutaka Ohno i suradnika (Biswas i sur., 2007) doprinijela su otkriću nekoliko gena specifično zahvaćenih djelovanjem ovog herbicida. Do značajnih otkrića došli su proučavanjem novih anti-auksin otpornih mutanti (zvanih *aar*) unutar roda *Arabidopsis* i provjeravanjem rasta korijenja pri djelovanju p-klorofenoksimaslačne kiseline (PCIB), koja inhibira djelovanje auksina interferirajući s uzvodnim događajima signalnog puta auksina. Kod tih mutanti uočena je specifična rezistencija na 2,4-D, bez ikakvih promjena u transportu ili metabolizmu samog herbicida, što implicira da biljke imaju djelomično različite nizvodne odgovore na 2,4-D (Rahman i sur., 2006). Otpornost na djelovanje auksina kod proučavanja rasta korijenja obično se povezuje s transportom ili signalnim putem auksina i pretpostavlja se da je gravitacijski odgovor korijenja čvrsto reguliran polarnim auksin-transportnim sustavom i svaka nepogodnost tog sustava rezultira poremećajima u korijenu (Marchant i sur., 1999). Nekoliko istraživanja na *arr* tipovima pokazalo je prisutnost većih poremećaja u auksin vezanoj signalizaciji nego pri transportu auksina. Normalan gravitacijski odgovor korijenja *aar* mutanti potvrđuje da mutacije ne zahvaćaju transport auksina (Biswas i sur., 2007).



## 2.4 Utjecaj auksinskih herbicida na animalnu stanicu

Upotreba herbicida indirektna je ekotoksikološka prijetnja faunističkoj zajednici, s obzirom da herbicidi direktno djeluju na izvor hrane za životinje. Sintetički auksini, 2,4-D i Dikamba, sklone su prijenosu para i čestica kao posljedica strujanja zraka, što dovodi do oštećenja neciljanih obližnjih usjeva ili drugih biljnih vrsta na okolnom području (Andersen i sur., 2004). Izlaganje biljaka herbicidima, dovodi i do promjena u dinamici prehranbenih mreža, mijenjajući gustoću populacije herbivornih insekata i njihovih predatora. Tako je, na primjer, tretiranjem riže i kukuruza subletalnim koncentracijama herbicida 2,4-D došlo do većeg rasta ličinačkog stadija vrste *Chilo suppressalis* Walker (Ishii i Hirano, 1963). Nasuprot tome, kod ličinskog stadija vrsta bubamara iz porodice *Coccinellidae*, primjećeni su odgađanje razvoja i visoka smrtnost (Michaud i Vargas, 2010).

Rezultati istraživanja djelovanja sintetičkog auksina Dikamba, ne upućuju na direktnu toksičnost ovog herbicida. Promatrajući posljedice djelovanja ovog herbicida na vrste *Helicoverpa zea* Boddie i *Vanessa cardui* L., nisu uočena direktna toksična svojstva niti ograničen rast ranih stadija životnog ciklusa navedenih vrsta (Bohnenblust i sur., 2013). Važno je naglasiti da su obje vrste prilagođene širokom rasponu ekoloških čimbenika te potencijalno mogu metabolizirati više različitih toksina prisutnih u njihovom staništu (Ballhorn i sur., 2010). No, na vrsti *V. cardui* L. su uočene indirektno posljedice djelovanja herbicida Dikamba, kada se upotrebljava za kontrolu rasta cvjetnica, poput *Cardueae*. Pri povišenim dozama ovog herbicida, gusjenice su konzumirale gotovo cijelu bazalnu rozetu, sugerirajući nemogućnost brze obnove i rasta oštećenih mladih trajnica. Ovakva pojava dovodi do nemogućnosti nadoknade izvora hrane za herbivore. Ličinke vrste *V. cardui* L. hranile su se manjim tretiranim biljkama i bile su generalno manje u odnosu na one jedinke čija se prehrana bazirala na zdravim, netretiranim biljkama (slika 5). Posljedično, reducirani rast dovodi do smanjene obrane u kompeticijskom odnosu mužjaka i negativnih posljedica na razmnožavanje pripadnika porodice Lepidoptera (Boggs i Freeman, 2005.). Nadalje, primijećeno je da visoke doze sintetičkog auksina Dikamba smanjuju koncentraciju dušika u biljkama, stoga su gusjenice izolirane na oštećenim biljkama konzumirale više biljnog tkiva pokušavajući time nadoknaditi nedostatak dušika (Bezemer i Jones, 1998). S druge strane, konzumacijom većih biljaka, nisu detektirane promjene niti indirektni utjecaj herbicida na kukce. Stoga se iz prethodnog navoda zaključuje da svaki efekt primjene ovog herbicida ovisi o veličini, starosti i otpornosti samog organizma na stres.

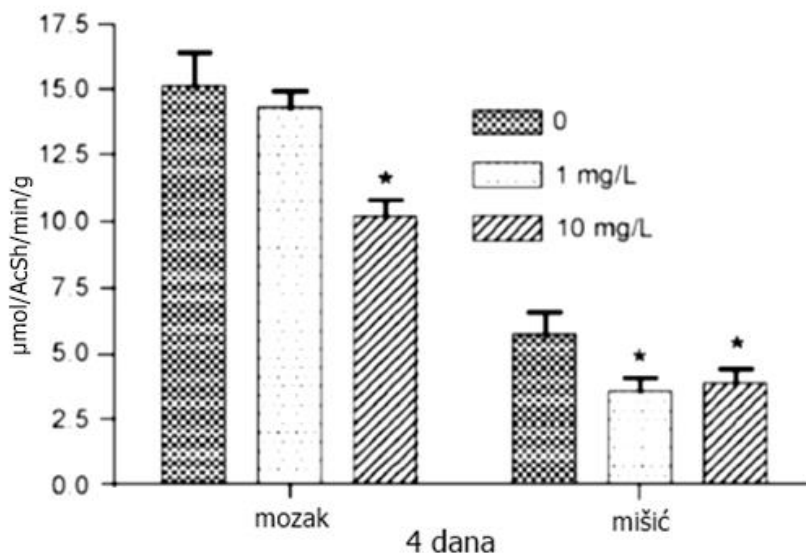


**Slika 5.** Linearlna ovisnost mase ličinačkog stadija vrste *V. cardui* i koncentracije herbicida Dicamba u eksperimentu s malim biljkama *Carduae nutans* (prilagođeno prema Bohnenblust i sur., 2013).

Slično istraživanje provedeno je na vrsti leptira *Apodemia mormo langei* Comstock (Stark i sur., 2011). Ovaj leptir samo je jedna od 15 podvrsta zaštićene vrste *Apodemia mormo* u Kaliforniji. Zaštićenom je postala zbog invazivnog djelovanja egzotičnih trava, čije širenje eliminira staništa heljde, točnije vrste *Eriogonum nudum* var. *auriculatum*. Ova biljka je osnova prehrane navedenih vrsta leptira. Jedan od načina rješavanja nastalog problema je uporaba herbicida. Uobičajeno se primjenjuju Triklopir, Setoksidim i Imazapir (Stark i sur., 2011). Triklopir je piridinski, selektivni herbicid te oponaša djelovanje biljnih hormona za kontrolu drvenastih i širokolisnih bilja. Setoksidim je također selektivni herbicid koji služi za suzbijanje jednogodišnjih i višegodišnjih trava. Inhibira lipidnu biosintezu preko acetil- CoA karboksilaze (Stark i sur., 2011). Imazapir je sustavni herbicid, čije djelovanje ometa sintezu proteina. Rezultati istraživanja primjene ovih herbicida na invanzivne egzotične trave je znatno smanjilo pojavu odraslih pripadnika *A. mormo langei* Comstock. Važno je napomenuti da bi se ove jedinke vjerojatno razvile do odraslog stadija, da su uspjele dostići fazu kukuljice, odnosno fazu između larve i odraslog oblika imaga. Dakle, izlaganje herbicidima je smanjilo broj individua u fazi kukuljice. Nagada se da inhibicija razvoja kukaca do odrasle faze nije posljedica

djelovanja aktivnih sastojaka herbicida, nego inertnih komponenti ili kombinacije inertnih komponenti koje su sastavni dio formule herbicida (Stark i sur., 2011).

Uporaba herbicida ne djeluje indirektno samo na manje beskralježnjake, odnosno kukce, nego i druge životinjske vrste. Herbicid 2,4-D široko je rabljen u svijetu zbog svoje niske cijene i visoke selektivnosti. Ovaj se herbicid generalno smatra netoksičnim za ribe pri niskim koncentracijama (Gallagher i Di Giulio, 1991). Istraživanje posljedica djelovanja ovog herbicida na acetilkolinesterazu te metaboličke promjene kod slatkovodne južnoameričke ribe iz reda *Characiformes* pod nazivom *Leporinus obtusidens* Valenciennes ipak ukazuje na njegovu toksičnost (Braga da Fonseca i sur., 2007). Točnije, u ovom istraživanju parametri, poput glukoze, glikogena, laktata i proteina, procjenjuju moguću prisutnost stresa uzrokovanog 2,4-D herbicidom. Rezultati istraživanja jasno su pokazali inhibiciju aktivnosti acetilkolinesteraze u mišićnom tkivu vrste *L. obtusidens*, dok je u moždanom tkivu ribe zabilježena inhibicija aktivnosti samo pri većim koncentracijama 2,4-D (slika 6). Inhibicija acetilkolinesteraze, odgovorne za degradaciju acetilkolina, prekomjerno stimulira kolinergične živce, što rezultira pojavom drhtanja ili grčenja, odnosno odstupanja od normalnog ponašanja tijekom plivanja (Miron i sur., 2005).



**Slika 6.** Aktivnost acetilkolinesteraze mišićnog i moždanog tkiva kod vrste *L. obtusidens* tijekom primjene različitih koncentracije auksinskog herbicida 2,4-D u trajanju od 4 dana (preuzeto od Braga da Fonseca i sur., 2007).

Različiti tipovi okolišnih zagađivača i njihovi metaboliti mogu promijeniti metaboličko stanje jetre tijekom procesa detoksikacije. Izlaganje vrste *L. obtusidens* 2,4-D dovelo je do značajnog smanjenja razina proteina i laktata u tkivu jetre. Ovo smanjenje koncentracija ukazuje na to da je uzrok stresa djelovanjem herbicida popraćen i visokom ovisnošću o oksidativnoj degradaciji glikogena. Smanjena razina laktata u jetri i mišićnom tkivu su indikatori izraženije adaptacije glukoneogeneze (Oruc i Uner, 1999). Cjelokupni rezultati upućuju na favoriziranje glukoneogeneze, kao odgovora na smanjenje energije. Ribe često koriste zalihe glikogena u uvjetima hipoksije (Oruc i sur., 2004). S druge strane, plazma proteini su povišeni pri svim koncentracijama 2,4-D u vrste *L. obtusidens*, što otvara nove mogućnosti i različite odgovore na toksičnost 2,4-D. Dakle, subletalne doze 2,4-D u rijekama i ribnjacima mogu imati štetne posljedice za životni ciklus ispitane vrste ribe.

Nešto bliže interesima ovih područja je istraživanje utjecaja 2,4-D na šarana, *Cyprinus carpio* L. (Oruc i Uner, 1999). Akutno izlaganje *C. carpio* 2,4-D herbicidu utječe na metabolizam proteina i ugljikohidrata. Sadržaj jetrenih proteina raste, dok je aktivnost transaminaza inhibirana. Isto tako, zabilježena je povišena aktivnost laktatdehidrogenaze u serumu ribe izloženoj nižoj koncentraciji herbicida tijekom jednog dana. Ovo može biti posljedica povišene energije zbog redukcije aerobne oksidacije pri hipoksičnim uvjetima uzrokovanim herbicidom 2,4-D. Stoga, povišena razina seruma glukoze i snižene razine glikogena upućuju na mogućnost mobilizacije izvora energije šarana pri akutnom izlaganju herbicidu.

### 3. Zaključak

Umjetni auksinski herbicidi kontroliraju rast korova zbog selektivnog djelovanja i preferencijalne kontrole dvosupnih korova. Te male molekule obično ne izazivaju unutarnja otrovanja, nego inhibiraju specifične molekule tijekom biokemijskih i fizioloških procesa biljke.

U visokim dozama auksinski herbicidi dovode u biljkama do povećane sinteze etilena i apscizinske kiseline, što za posljedicu ima zatvaranje puči, inhibiciju transpiracije i asimilacije ugljika, te pojavu oksidacijskog stresa u stanicama. U konačnici dolazi do inhibicije rasta, pojave kloroze i nekroze te smrti biljaka.

Određeni biljni tipovi mogu razviti rezistenciju na auksinske herbicide. Sve učestalija upotreba ovih herbicida u poljoprivredi dovodi do otpornosti nekih biljnih vrsta na herbicide, pa tako i sintetske auksine. Zbog toga otporne biljne vrste okupiraju staništa i ugrožavaju životnu sredinu ostalih članova biotopa. Osim toga, utjecajem ostalih abiotičkih čimbenika na distribuciju sintetičkih auksina, često su zahvaćene neciljane biljne, ali i animalne populacije, kojima i najmanja kolebanja brojnosti prijete nestajanju.

Temeljni molekularni mehanizam, kojima auksinski herbicidi selektivno ubijaju dvosupnice i pošteđuju jednosupnice, još nije objašnjen. Mehanizmi biosinteze auksina, transporta i provođenja signala nepoznati su kod jednosupnica, a kod dvosupnica je još više neodgovorenih pitanja. U bliskoj budućnosti vjerojatna je mogućnost razumijevanja interakcije brojnih receptora i koreceptora aktiviranih jednom signalnom molekulom te njihove koordinacije. Takav osvrt na problematiku omogućio bi bolje razumijevanje promjena i prilagodbi u kompleksnoj signalnoj mreži djelovanja sintetičkih auksina.

#### 4. Literatura

Abdallah I., Fischer A.J., Elmore C.L., Saltveit M.E., Zaki M. 2006. Mechanism of resistance to quinclorac in smooth crabgrass (*Digitaria ischaemum*). *Pestic Biochem Physiol* 84:38–48.

Abeles F.B., Morgan P.W., Salveit M.J. 1992. Ethylene in plant biology. 2nd ed. *Academic Press*.

Andersen S. M., Clay S. A., Wrage L. J., Matthee D. 2004. Soybean foliage residues of dicamba and 2,4-D and correlation to application rates and yield. *Agron. J.* 96:750-760.

Ashton F. M. and A. S. Crafts. 1981. Mode of Action of Herbicides. Toronto: *John Wiley and Sons*. 272–302.

Ballhorn D. J., Kautz S., Lieberei R. 2010. Comparing responses of generalist and specialist herbivores to various cyanogenic plant features. *Entomol. Exp. Appl.* 134: 245 - 259.

Barken A. and Wittinghofer A. 2008. Structure and function of Rho-type molecular switches in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 46,380-393.

Bezdicek D., Fauci M., Caldwell D., Finch R., Long J. 2011. Persistent herbicides in compost. *Biocycle*.52.

Bezemer and T. Hefin Jones. 1998. Plant-Insect Herbivore Interactions in Elevated Atmospheric CO<sub>2</sub> : Quantitative Analyses and Guild Effects. *Wiley-Blackwell on behalf of Nordic Society Oikos*. pp. 212 – 222.

Biswas K.K., Ooura C., Higuchi K., Miyazaki Y., Van Nguyen V., Rahman A., Uchimiya H., Kiyosue T., Koshiha T., Tanaka A., Narumi I., Oono Y. 2007. Genetic characterization of mutants resistant to the antiauxin p-chlorophenoxyisobutyric acid reveals that AAR3, a gene encoding a DCN1-like protein, regulates responses to the synthetic auxin 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in Arabidopsis roots. *Plant Physiol* 145: 773-785.

Bleecker A.B. and Kende H. 2000. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* 16: 1-18.

Boggs C. L. and Freeman K. D. 2005. Larval food limitation in butterflies: effects on adult resource allocation and fitness. *Oecologia* 144: 353-361.

- Bohnenblust Eric, Franklin Egan, David Mortensen, John Tooker. 2013. Direct and Indirect Effects of the Synthetic-Auxin Herbicide Dicamba on Two Lepidopteran Species *Environ. Entomol.* 42(3): 586-594.
- Braga da Fonseca, Lissandra Gluszczaka, Bibiana Silveira Moraesa, Charlene Cavalheiro de Menezesa, Alexandra Prettoa, Miguel Angel Tierno, Renato Zanellab. 2007. The 2,4-D herbicide effects on acetylcholinesterase activity and metabolic parameters of piava freshwater fish (*Leporinus obtusidens*), *Laboratorio de Bioquimica Adaptativa*.
- Christoffoleti P.J., Rodrigues Alves de Figueiredo M., Pereira Peres L.E., Nissen S. 2015. Gaines, T. Auxinic herbicides, mechanisms of action, and weed resistance: A look into recent. *Sci. Agric.* v.72, n.4, p.356-36.
- Devine, M. D. and Shukla A. 2000. Altered target site as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Prot.* 19:881–889.
- Gallagher E. and Di Giulio R. 1991. Effects of 2,4-D dichlorophenoxyacetic acid and picloran on biotransformation, peroxisomal and serum enzyme activities in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Toxicol. Lett.* 57, 65–72.
- Grossmann K and Kwiatkowski J. 1996. Evidence for a causative role of cyanide, derived from ethylene biosynthesis, in the herbicidal mode of action of quinclorac in barnyard grass. *Pestic Biochem Physiol* 51:150–160.
- Grossmann K. 2000. Mode of action of auxin herbicides: A new ending to a long, drawn out story. *Trends Plant Sci* 5: 506-508.
- Grossmann K., Kwiatkowski J., Tresch S. 2001. Auxin herbicides induce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> overproduction and tissue damage in cleavers (*Galium aparine* L.), *JExpBot* 52:1811–1816.
- Grossmann K. 2003. Mediation of herbicide effects by hormone interactions. *J Plant Growth Regul* 22: 109-122.
- Grossmann K. 2009. Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. *Pest Manag Sci* 66: 113-120.
- Hall J.C., Alam S.M.M., Murr D. P. 1993. Ethylene biosynthesis following foliar application of picloram to biotypes of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) susceptible or resistant to auxinic herbicides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 47:36–43.

- Hall J. C., Webb S. R., Deshpande S. 1996. An overview of auxinic herbicide resistance: wild mustard as a case study. Pages 28–43 in T. M. Brown, ed. *Molecular Genetics and Evolution of Pesticide Resistance*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Hansen H. and Grossmann K. 2000. Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. *Plant Physiol* 124: 1437-1448.
- Ishii S. and Hirano C. 1963. Growth responses of larvae of the rice stem borer to rice plants treated with 2,4-D. *Entomol. Exp. Appl.* 6: 257-262.
- Jugulam M., McLean M. D., Hall J. C. 2005. Inheritance of picloram and 2,4-D resistance in wild mustard (*Brassica kaber*). *Weed Sci.* 53:417–423.
- Kraft M., Kuglitsch R., Kwiatkowski J., Frank M., Grossmann K. 2007. Indole-3-acetic acid and auxin herbicides up-regulate 9-cisepoxycarotenoid dioxygenase gene expression and abscisic acid accumulation in cleavers (*Galium aparine*): interaction with ethylene. *JExpBot*58:1497–1503.
- Maeshima M. 2001. Tonoplast transporters: Organization and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52: 469-497.
- Marchant A., Kargul J., May S.T., Muller P., Delbarre A., Perrot-Rechenmann C., Bennett M.J. 1999. AUX1 regulates root gravitropism in Arabidopsis by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *EMBO J*18: 2066-2073.
- Michaud J. and G. Vargas. 2010. Relative toxicity of three wheat herbicides to two species of Coccinellidae. *Insect Sci.* 17: 434-438.
- Miron D., Crestani M., Schetinger M.R., Morsch V.M., Baldisserotto B., Tierno M.A., Moraes G., Vieira V.L.P. 2005. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, 61, 398–403.
- Mithila J., Hall J.C., Johnson W.G., Kelley K.B., Riechers D.E. 2011. Evolution of resistance to auxinic herbicides: Historical perspectives, mechanisms of resistance, and implications for broadleaf weed management in agronomic crops. *Weed Science* 2011, 59: 445-457 .
- Napier R.M., David K.M., Perrot-Rechenmann C. 2002. A short history of auxin-binding proteins, *Plant Mol. Biol.* 49 339–348.



- Oruc E.O. and Uner N. 1999. Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of *Cyprinus carpio*. *Environ. Pollut.* 105, 267–272.
- Oruc E.O., Sevgiler Y., Uner N. 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 137, 43–51.
- Preston C. and Mallory-Smith C.A. 2001. Biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. Pages 23–60 in S. B. Powles and D. L. Shaner, eds. *Herbicide Resistance in World Grains*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Preston C., Belles D. S., Westra P. H, Nissen S. J., Ward S. M. 2009. Inheritance of resistance to the auxinic herbicide dicamba in kochia (*Kochia scoparia*). *Weed Sci.* 57:43–47.
- Rahman A., Nakasone A., Chhun T., Ooura C., Biswas K.K., Uchimiya H., Tsurumi S., Baskin T.I., Tanaka A., Oono Y. 2006. A small acidic protein 1 (SMAP1) mediates responses of the Arabidopsis root to the synthetic auxin 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant J* 47: 788-801.
- Rodríguez-Serrano M., Pazmiño D.M., Sparkes I., Rochetti A., Hawes C., Romero-Puertas M.C., Sandalio L.M. 2014. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid promotes S-nitrosylation and oxidation of actin affecting cytoskeleton and peroxisomal dynamics. *Journal of Experimental Botany* 237: 1-11.
- Romano C.P., Cooper M.L., Klee H.J. 1993. Uncoupling auxin and ethylene effects in transgenic tobacco and Arabidopsis plants. *Plant Cell* 5:181–189.
- Romero-Puertas M.C., McCarthy I., Gomez M., Sandalio L.M., Corpas F.J., Del Rio L.A. 2004. Reactive oxygen species-mediated enzymatic systems involved in the oxidative action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Cell Environ* 27:1135–1148.
- Sabba R. P., Ray I. M., Lownds N., Sterling T. M. 2003. Inheritance of resistance to clopyralid and picloram in yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) is controlled by a single nuclear recessive gene. *J. Hered.* 94:523–527.
- Sieburth L.E. and Lee D.K. 2010 Bypass1: how a tiny mutant tells a big story about root-to-shoot signaling. *J Integr Plant Biol* 52: 77-85.

Stark John , Xue Dong Chen, Catherine S. Johnson. 2011. Effects of herbicides on Behr's metalmark butterfly, a surrogate species for the endangered butterfly, Lange's metalmark, *a Ecotoxicology Program, Department of Entomology.*

Tittle F.L., Goudey J.S., Spencer M.S. 1990. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on endogenous cyanide,  $\beta$ -cyanoalanine synthase activity, and ethylene evolution in seedlings of soybean and barley. *Plant Physiol* 94:1143–1148.

Van Eerd L.L., Stephenson G.R., Kwiatkowski J., Grossmann K., Hall J. C. 2005. Physiological and biochemical characterization of quinclorac and resistance in a false cleavers (*Galium spurium*) biotype. *J. Agric. Food Chem.* 53:1144–1151.

Webb S.R. and Hall J.C. 1995. Auxinic herbicide-resistant and herbicide-susceptible wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotypes: effect of herbicides on seedling growth and auxin binding activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 52: 137-148.

Weinberg T., Stephenson G.R., McLean M.D., Hall J. C. 2006. MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in hemp-nettle (*Galeopsis tetrahit* L.). *J. Agric. Food Chem.* 54:9126–9134.

Wolf S., Hématy H., Herman K. 2012. Growth control and cell wall signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* 63: 381-407.

Xu T., Wen M., Nagawa S., Fu Y., Chen J.G., Wu M.J., Perrot Rechenmann C., Friml J., Jones A.M., Yang Z. 2010. Cell surface- and rho GTPase-based auxin signaling controls cellular interdigitation in Arabidopsis. *Cell* 143: 99–110.

Zheng H. G. and Hall J. C. 2001. Understanding auxinic herbicide resistance in *Sinapis arvensis* L.: physiological, biochemical and molecular genetic approaches. *Weed Sci.* 49:276–281.