

Mecanismo de ação e resistência aos herbicidas induzidos pela ação da luz

**Dr. Scott Nissen, Professor
Colorado State University, Fort Collins, CO**

**Assistance from:
Drs. Franck Dayan, Pat Tranel, Dean Riechers**

Sumário da aula

- ❑ **Mecanismos para minimizar oxigênio reativo**
- ❑ **Impacto das espécies reativas de oxigênio**
- ❑ **Revisão dos ingredientes ativos atuais e mecanismos de ação básico**
- ❑ **Situação atual dos inibidores da PROTOX, FSII, FSI e biossíntese de carotenóides (PDS e HPPD) resistência**
- ❑ **Mecanismos de resistência conhecidos**
- ❑ **Implicações para a Produção agrícola**

Proteção das espécies reativas de oxigênio

- As plantas têm defesas contra níveis normais de espécies reativas de oxigênio:

superóxido dismutase (SOD)



- SOD está presente no estroma e tilacóides; isoenzima presentes no citoplasma e mitocôndria.

ascorbato peroxidase



Proteção do O₂

- **Ascorbato pode espontaneamente reagir com a superóxido**



- **Principal reação para destruição do peróxido de hidrogênio; produz DHasc. A atividade da ascorbato peroxidase encontrada tanto no cloroplasto quanto na mitocôndria**

DHasc. redutase



- **Enzima encontrada principalmente nos cloroplastos, embora a forma citoplasmática tem sido relatada**

Proteção do O₂

- Regeneração da glutathiona pela GSH redutase

- Usa o NADPH para regenerar a GSH



Proteção fora do cloroplasto

- ❑ Catalase não é uma enzima do cloroplasto
- ❑ Localizada nos peroxissomos que são frequentemente associado com cloroplastos
- ❑ Como H_2O_2 pode difundir livremente e penetrar membranas, os peroxissomos são importantes na destruição dos radicais livres

catalase



Geração de Oxigênio Singlet

- **Estado singlet vs. triplet**
 - ▣ **As moléculas tem um número par de elétrons com todos os elétrons pareados**
 - ▣ **Spin do elétron são opostos, então a molécula é chamada de estado de singlet**
 - ▣ **Spins dos elétrons são paralelos, então um estado triplet existe (geralmente maior energia que o estado de singlet)**
- **Clorofila vai de estado singlet, para um estado excitado a partir de elétrons transferidos para a plastoquinona**

Geração de Oxigênio Singlet

- Herbicidas que bloqueiam o transporte de elétrons produzem elétrons excitados singlet que decaem para o estado estável de triplet
- Normalmente o β -caroteno pode neutralizar a clorofila triplet, mas com a inibição do herbicida durante o dia, o β -caroteno é supercarregado e $^3\text{Chl}^*$ pode reagir com o oxigênio para formar um oxigênio singlet altamente reativo



Geração de Oxigênio Singlet

- O oxigênio singlet pode ser neutralizado pelo β -caroteno e alfa-tocoferol (vitamina E).
- Oxigênio é lipofílico e acumula no interior da membrana (7-8 X a concentração)
- Oxigênio singlet reage com o ácidos graxos insaturados, linoleico e linolênico
- Gera derivados de peróxido que eventualmente destrói os ácidos graxos e causa extravasamento da membrana

Superóxido e outras espécies reativas de O₂

- O oxigênio pode aceitar um elétron vindo do transporte de elétrons fotossintético ao nível da ferredoxina ou através dos herbicidas bipyridilium para formar um ânion superóxido

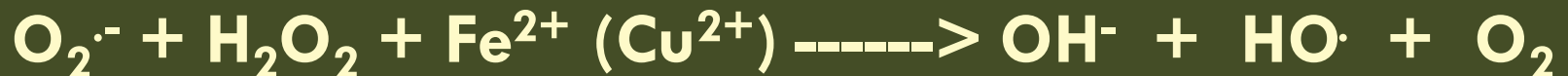


- Superóxido pode agir como um oxidante ou como um redutor; se ele reage com um outro anion superóxido, ele irá reduzir o segundo superóxido e forma H₂O₂



Radicais hidroxila

- A reação pode ocorrer na presença de Fe^{2+} ou Cu^{2+} reduzido



- Os radicais hidroxila são extremamente tóxicos e causam peroxidação lipídica
- Os radicais hidroxila podem extrair o átomo de hidrogênio dos ácidos graxos insaturados, formando H_2O .

Impactos gerais

- ❑ Radicais peroxi de lipídeos insaturados começam uma nova cadeia de reação de peroxidação
- ❑ Eventualmente com a clivagem da cadeia de hidrocarboneto e Produção de cadeia curta de alcanos como etano, pentano e malondialdeídos
- ❑ A peroxidação pode também ocorrer com proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos (causando branqueamento)

Sumário

- ❑ **Equivalentes reduzidos vêm do transporte de elétrons fotossintético via NADPH**
- ❑ **Os herbicidas aumentam a Produção de espécies ativas de O_2 , mas também indiretamente inibem sua remoção**
- ❑ **Níveis decrescentes de ascorbato e glutathiona reduzido**
- ❑ **Nenhuma detoxificação real par ao radical hidroxila uma vez formado**

The reactive molecules such as singlet oxygen, hydroxyl radical, and triplet chlorophyll are the result of herbicide interaction. Each will initiate lipid peroxidation resulting in membrane destruction.



singlet
oxygen



hydroxyl
radical



triplet
chlorophyll

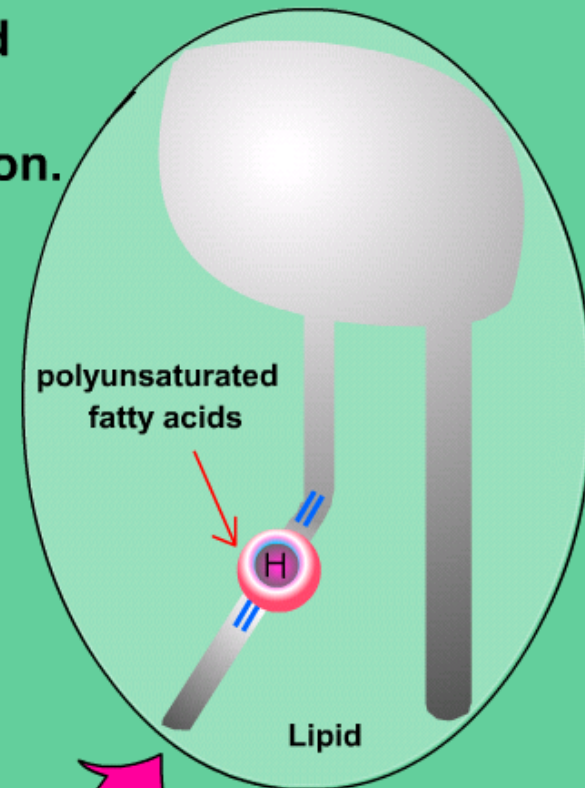


Lipid





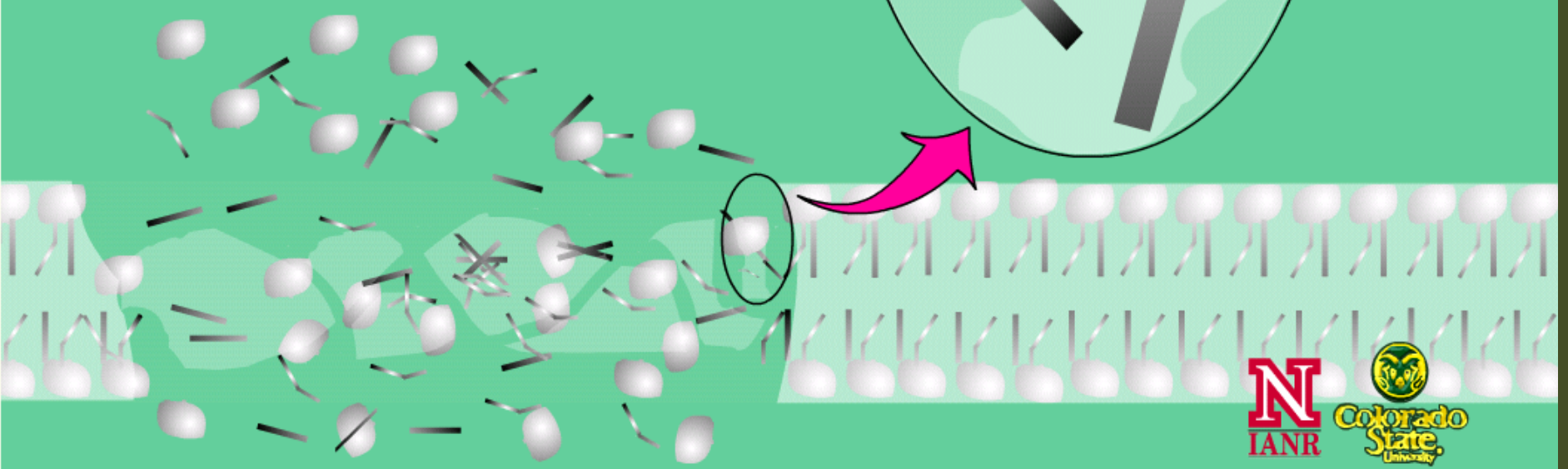
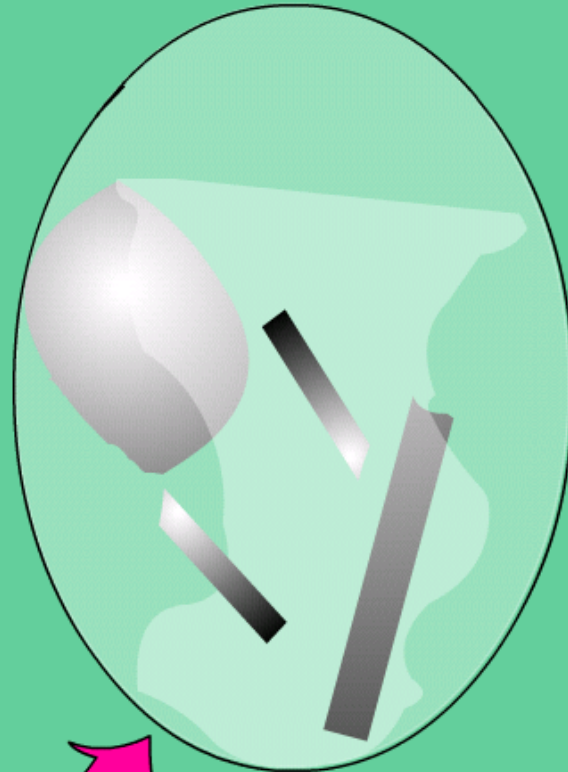
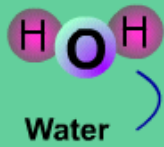
The reactive molecule is able to remove hydrogen from the lipid initiating a series of reactions leading to membrane destruction.

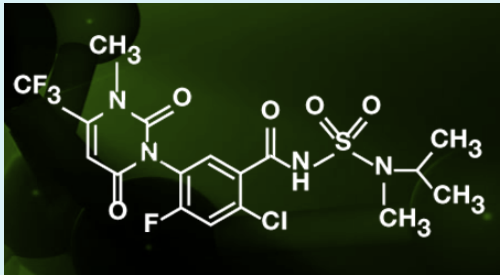
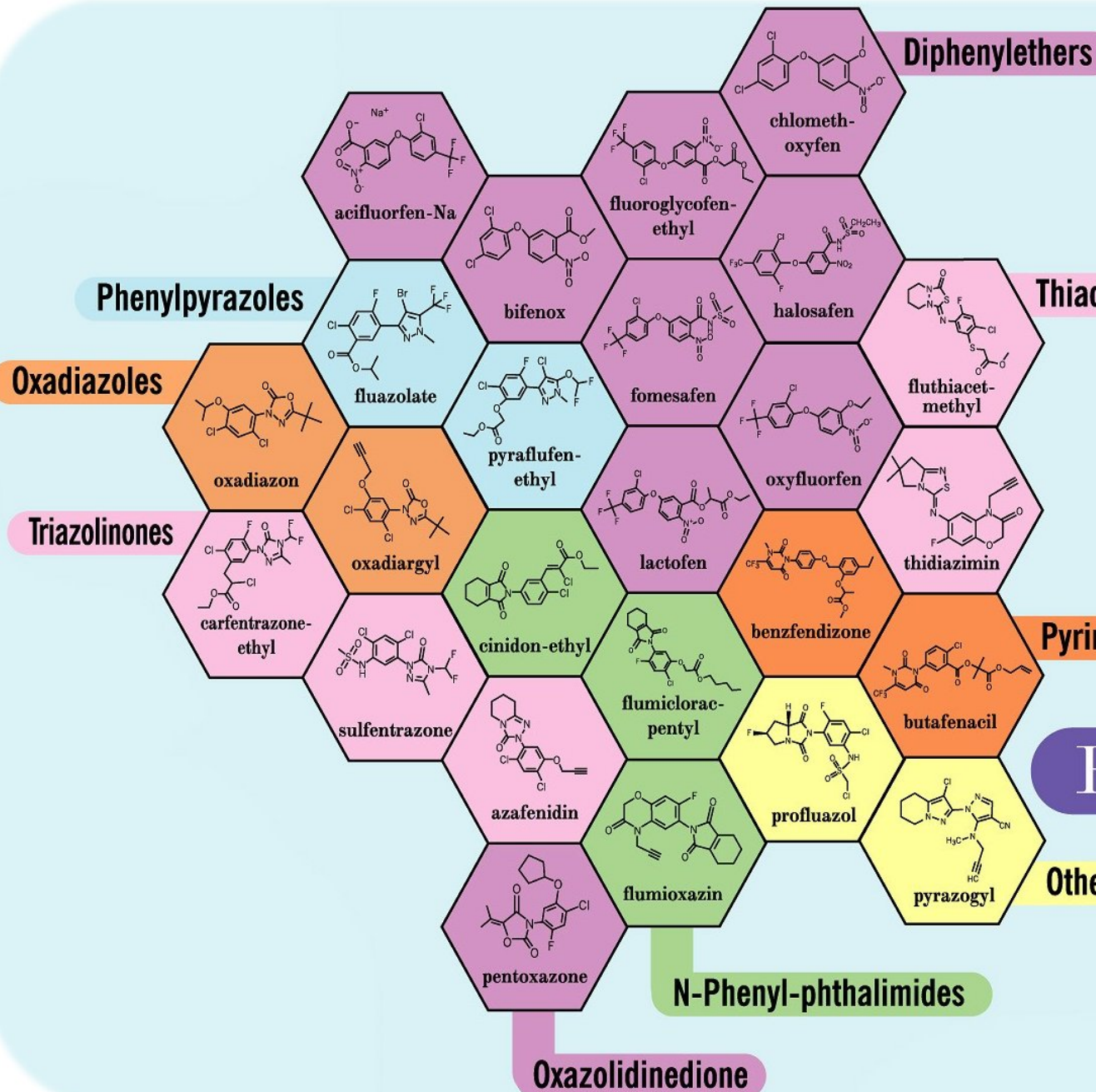




close
window

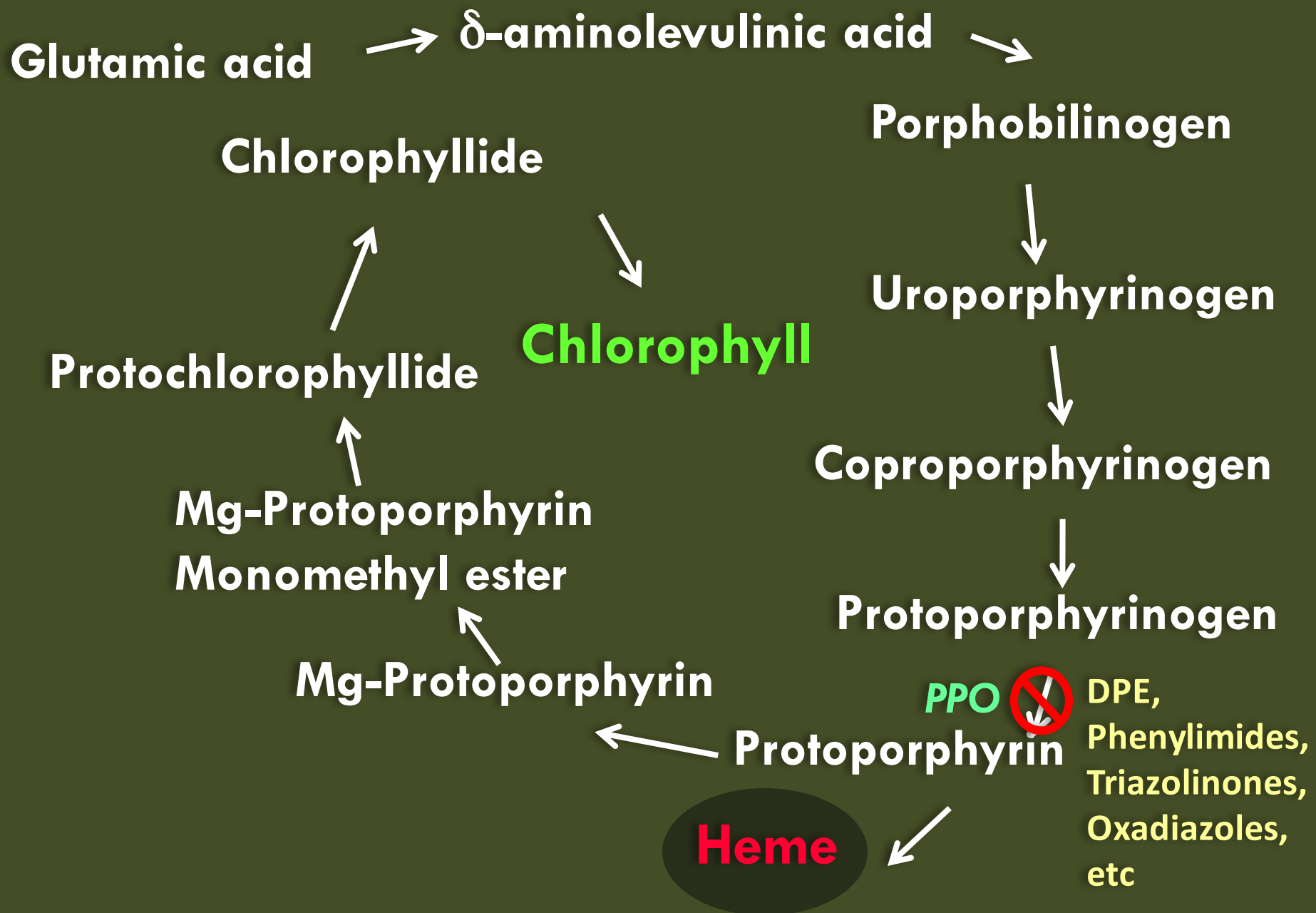
start
over



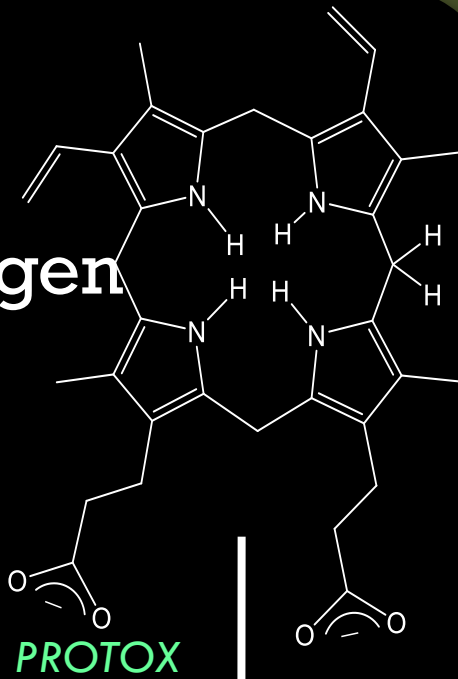


saflufenacil

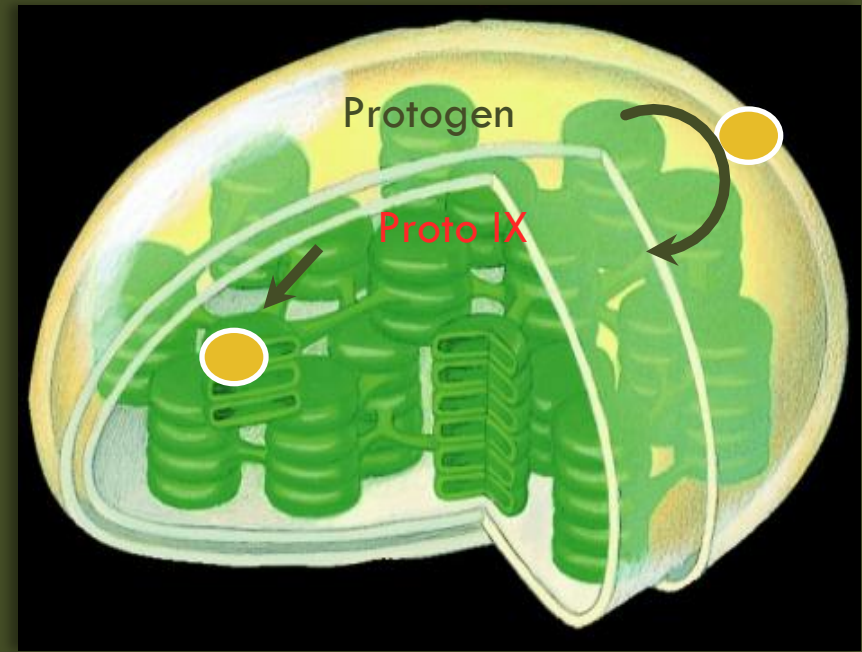
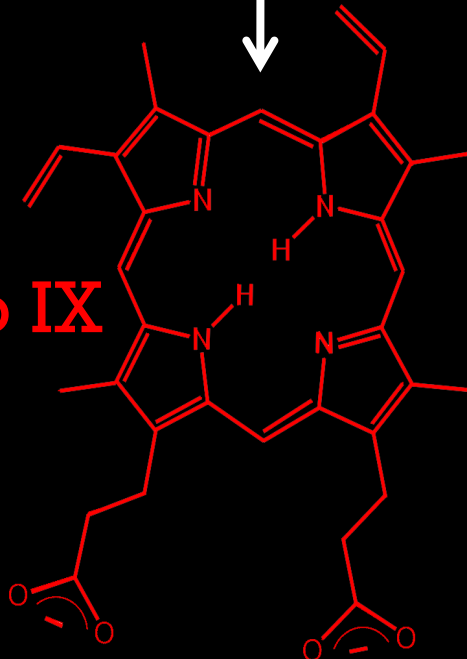
E Inh. of proto-porphyrinogen oxidase



Proto^{gen}



Proto IX



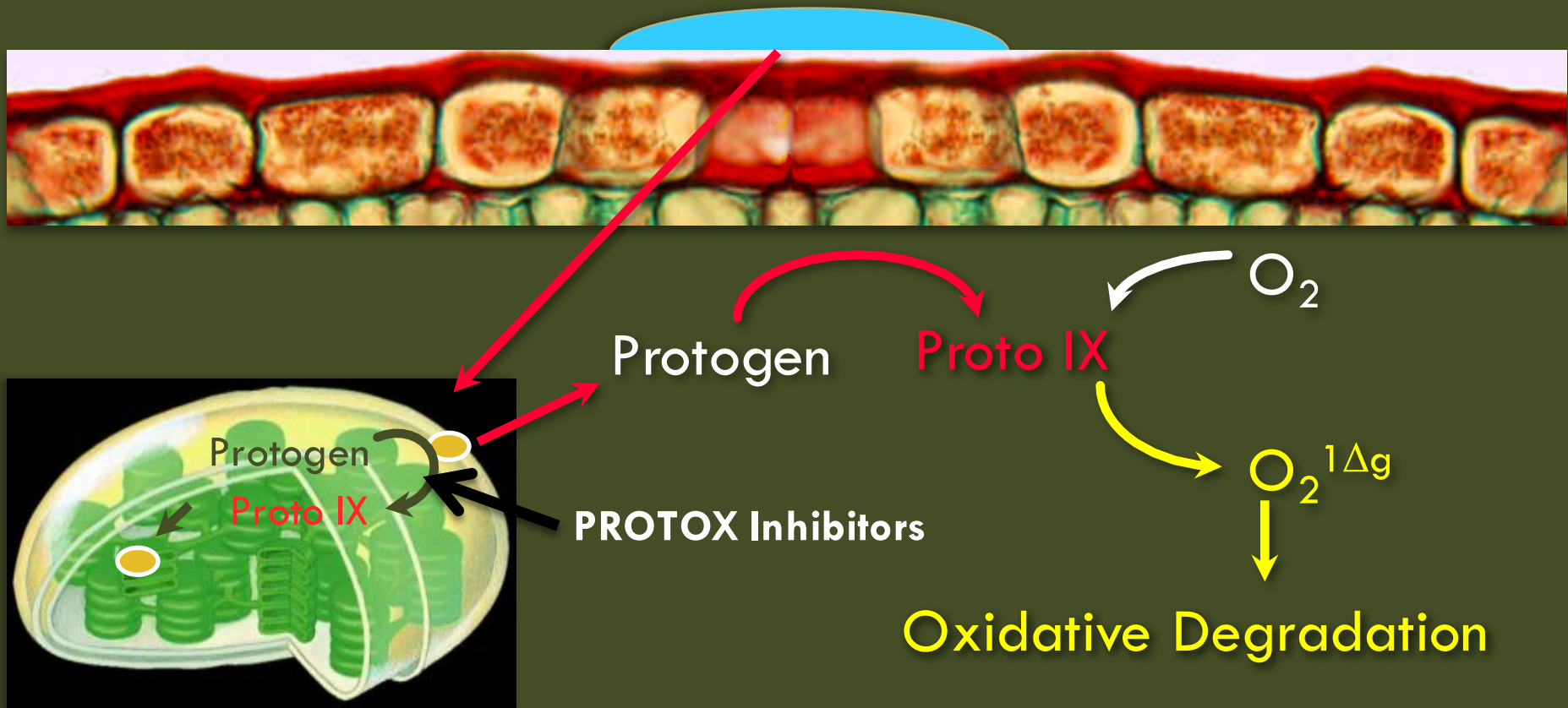
Mg quelatase

Chlorofilas

Fe quelatase

Heme

Aspectos básicos dos inibidores da PROTOX



Herbicidas ativados pela luz

- **FSII, FSI, PROTOX e HPPD têm um aspecto em comum no mecanismo de ação**
- **Peroxidação dos lipídeos**
 - **Produção de oxigênio reativo, formação do radical hidroxila, clorofila no estado triplet**
 - **Extravasamento da membrana morte da célula, geralmente com sintomas de encharcamento celular visível poucas horas após aplicação**

Injúria típica de PROTOX



PPO INHIBITORS (E/14) RESISTANT WEEDS by species and country

#	Species	Country (Click for Details)	Year
1.	<i>Acalypha australis</i> Asian Copperleaf	2011 - China	2011
2.	<i>Amaranthus quitensis</i> Pigweed (quitensis)	2005 - Bolivia	2005
3.	<i>Amaranthus tuberculatus</i> (<i>syn. rudis</i>) Common Waterhemp	2001 - USA (Kansas) *Multiple - 2 MOA's 2002 - USA (Illinois) *Multiple - 3 MOA's 2005 - USA (Missouri) *Multiple - 3 MOA's 2009 - USA (Iowa) 2009 - USA (Iowa)	2001
4.	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> Common Ragweed	2005 - USA (Delaware) *Multiple - 2 MOA's 2006 - USA (Ohio) *Multiple - 2 MOA's	2005
5.	<i>Descurainia sophia</i> Flixweed	2011 - China	2011
6.	<i>Euphorbia heterophylla</i> Wild Poinsettia	2004 - Brazil *Multiple - 2 MOA's	2004

Resistência dos inibidores da PPO

Common Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*)

Illinois (Dr. Tranel)

Missouri (Dr. Smeda)

Kansas (Dr. Al-Khatib)





Lactofen (i.a. ha^{-1}) Dose Resposta

Fileira da frente: Suscetível --- fileira do fundo: Adams Co.



Sumário dos mecanismos de resistência

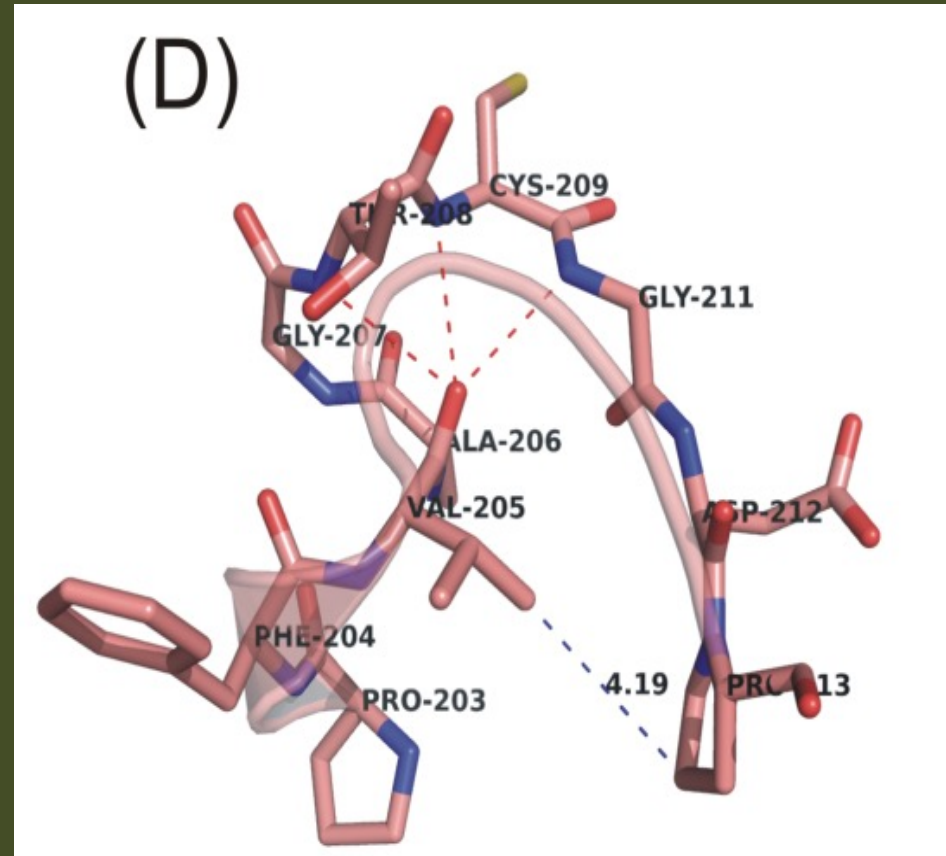
Dois eventos leva a resistência

- Deleção de três nucleotídeos que codificam a glicina na posição 210
- Alvo duplo do gene mitocondrial produzido no cloroplasto
 - A PROTOX mitocondrial é resistente
 - PROTOX-M é direcionada para o cloroplasto

Simulação da dinâmica molecular

**Dobra da PROTOX-S
depois da simulação**

**Dobra da PROTOX-R
depois da simulação**



Summary of Resistance Mechanism

- Significant increase in volume of the binding pocket
- No longer competitive inhibition, mixed interaction.
- Significant increase in I_{50} value for PROTOX inhibitors lactofen, acifluorfen, MC15608
 - lactofen 60 to 12,500 nM (208 fold)
 - acifluorfen 60 to 29,900 nM (498 fold)
 - MC15608 50 to 21,100 nM (422 fold)