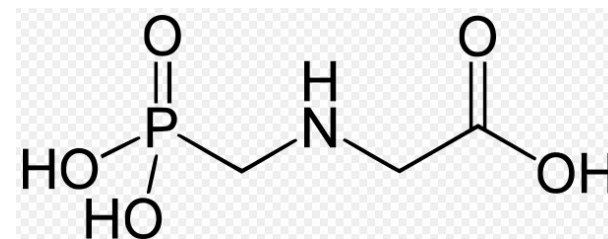
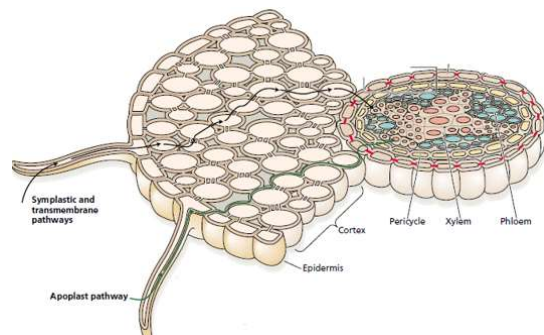
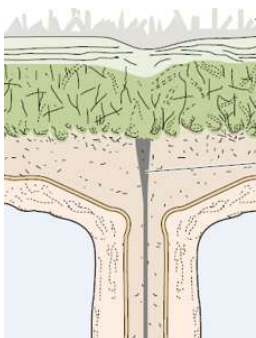


## Tópicos Especiais em Matologia

---

- Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas
- Mecanismo de ação de herbicidas Inibidores da EPSPs



---

Danilo de Brito Garcia

Setembro - 2018

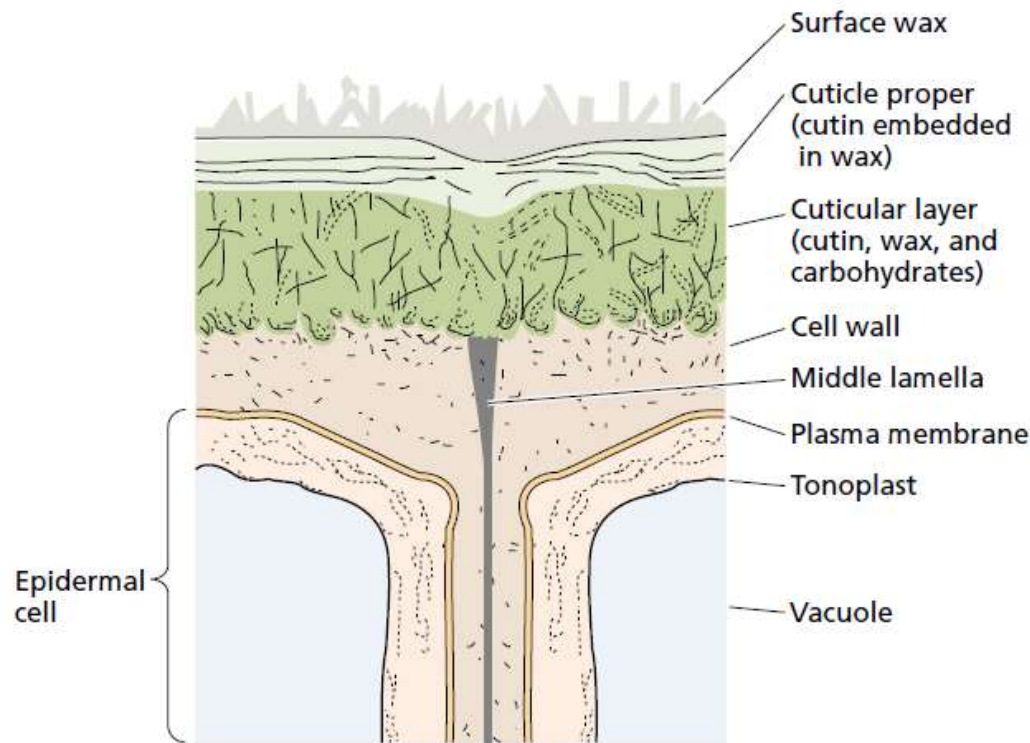
## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas

---

- Herbicidas de CONTATO - atuam próximo ao local onde penetrou na planta
- Herbicidas SISTÊMICOS - necessitam movimentar-se até chegar ao sítio de atuação (translocam-se via xilema e/ou floema)
- Herbicidas podem ser absorvidos pelas FOLHAS, RAMOS (herbicidas pós-emergentes, foliares), RAÍZES, SEMENTES, PLÂNTULAS (herbicidas pré-emergentes, aplicados no solo)

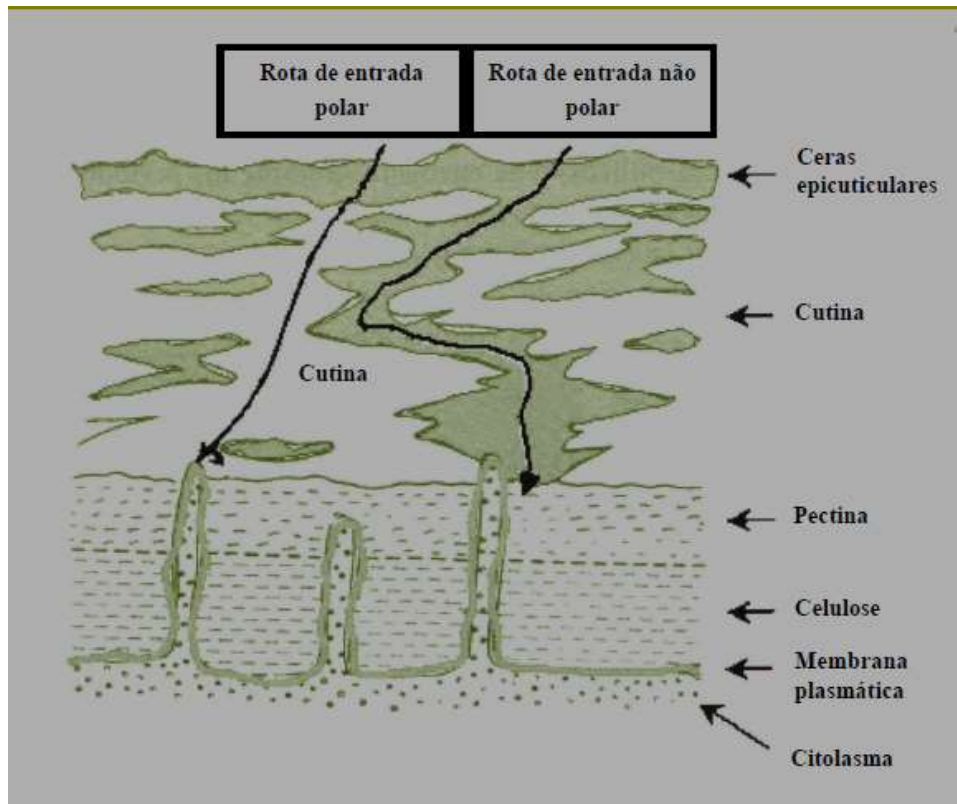


## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar



- Absorção varia em função de:  
Cutícula, propriedades físico-químicas do herbicida, formulação, ambiente
- A cutícula não é homogênea
- Camada externa – lipofílica
- Camada interna – hidrofílica
- Presença de canais hidrofílicos e lipofílicos
- Movimento do herbicida depende do gradiente de concentração entre a superfície interna e externa

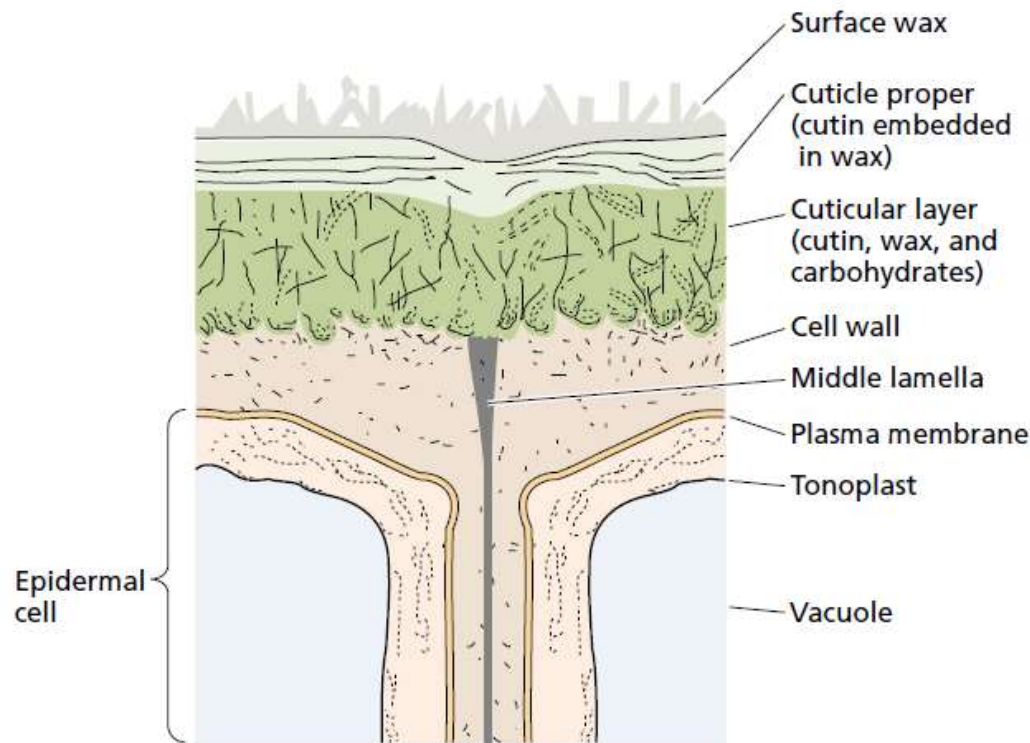
## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar



Fonte: Modificado de Klingman; Ashton, 1982

- Absorção varia em função de:  
Cutícula, propriedades físico-químicas do herbicida, formulação, ambiente
- A cutícula não é homogênea
- Camada externa – lipofílica
- Camada interna – hidrofílica
- Presença de canais hidrofílicos e lipofílicos
- Movimento do herbicida depende do gradiente de concentração entre a superfície interna e externa

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar



- Área de contato e penetração de herbicidas nem sempre estão correlacionados
- Diferentes [ ] e distribuição = Dificuldade de medir deposição real
- A cutícula de uma mesma folha não é uniforme
- Herbicidas lipofílicos penetram mais facilmente
- Herbicidas ácidos fracos (quando dissociados) penetram mais lentamente \*
- Retirada da cera e acidificação da calda não necessariamente aumentam a penetração

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar

---

### - Constante de equilíbrio de ionização ácida (pKa)

Herbicidas ácidos doam  $H^+$  em solução

pKa = pH onde:

50% do herbicida está não dissociado, não iônico, forma neutra, forma molecular (**H-COOH**)

50% do herbicida está dissociado, forma ionizada, forma aniônica (**H-COO<sup>-</sup> + H<sup>+</sup>**)

### - Coeficiente de partição octanol-água (Kow)

$Kow = [ ] \text{ herbicida dissolvido no octanol} / [ ] \text{ herbicida dissolvido na água}$

Medida de hidrofobicidade do composto

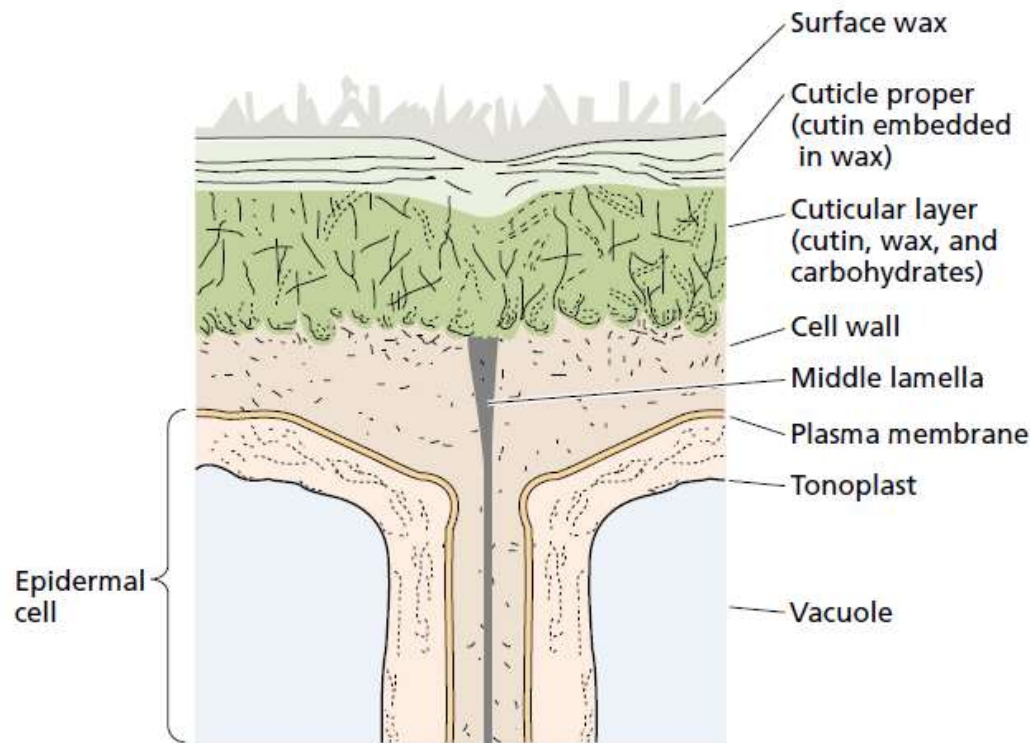
Lipofílicos = maior Kow; Hidrofílicos = menor Kow

Kow < 10 (hidrofílicos)                      ->  $\log(Kow) < 1$

10 < Kow < 1000 (intermediários)      ->  $1 < \log(Kow) < 3$

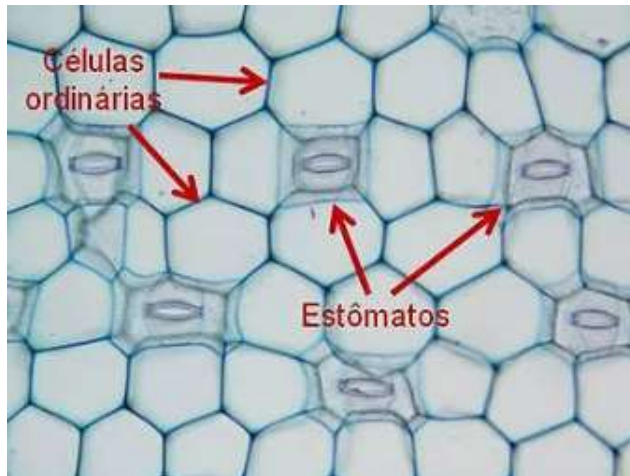
Kow > 1000 (lipofílicos)                    ->  $\log(Kow) > 3$

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar

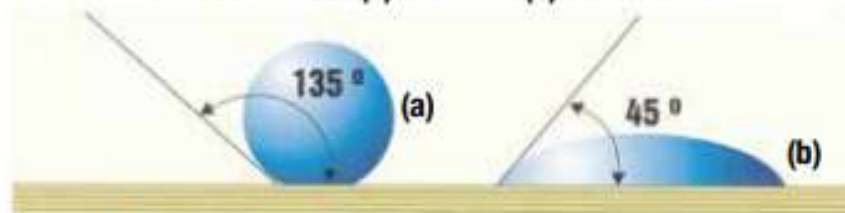


- Área de contato e penetração de herbicidas nem sempre estão correlacionados
- Diferentes [ ] e distribuição = Dificuldade de medir deposição real
- A cutícula de uma mesma folha não é uniforme
- Herbicidas lipofílicos penetram mais facilmente.
- Herbicidas ácidos fracos (quando dissociados) penetram mais lentamente
- Retirada da cera e acidificação da calda não necessariamente aumentam a penetração

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Absorção foliar



**Figure 1c: Contact angle of droplet on a difficult-to-wet leaf surface without (a) and with (b) surfactants**



(Source: Devine et al., 1993 adapted by Hall, 1999)

- Absorção pelos estômatos pode ocorrer, mas não é muito significativa
- Predominantes na superfície abaxial
- Baixa % de cobertura (0,1 a 0,5%)
- Há penetração em condições de estresse (estômatos fechados)
- Adjuvantes – usados para facilitar o contato e retenção
- Ângulo de contato:
  - Menor ângulo de contato (do centro da gota até a superfícies da gota) = maior área de contato
  - Maior ângulo = menor contato. O inverso é verdadeiro se o ângulo é da folha até a superfície da gota
- Podem solubilizar a cera da cutícula
- Podem ser absorvidos
- Podem ser tóxicos



## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – absorção pelas raízes

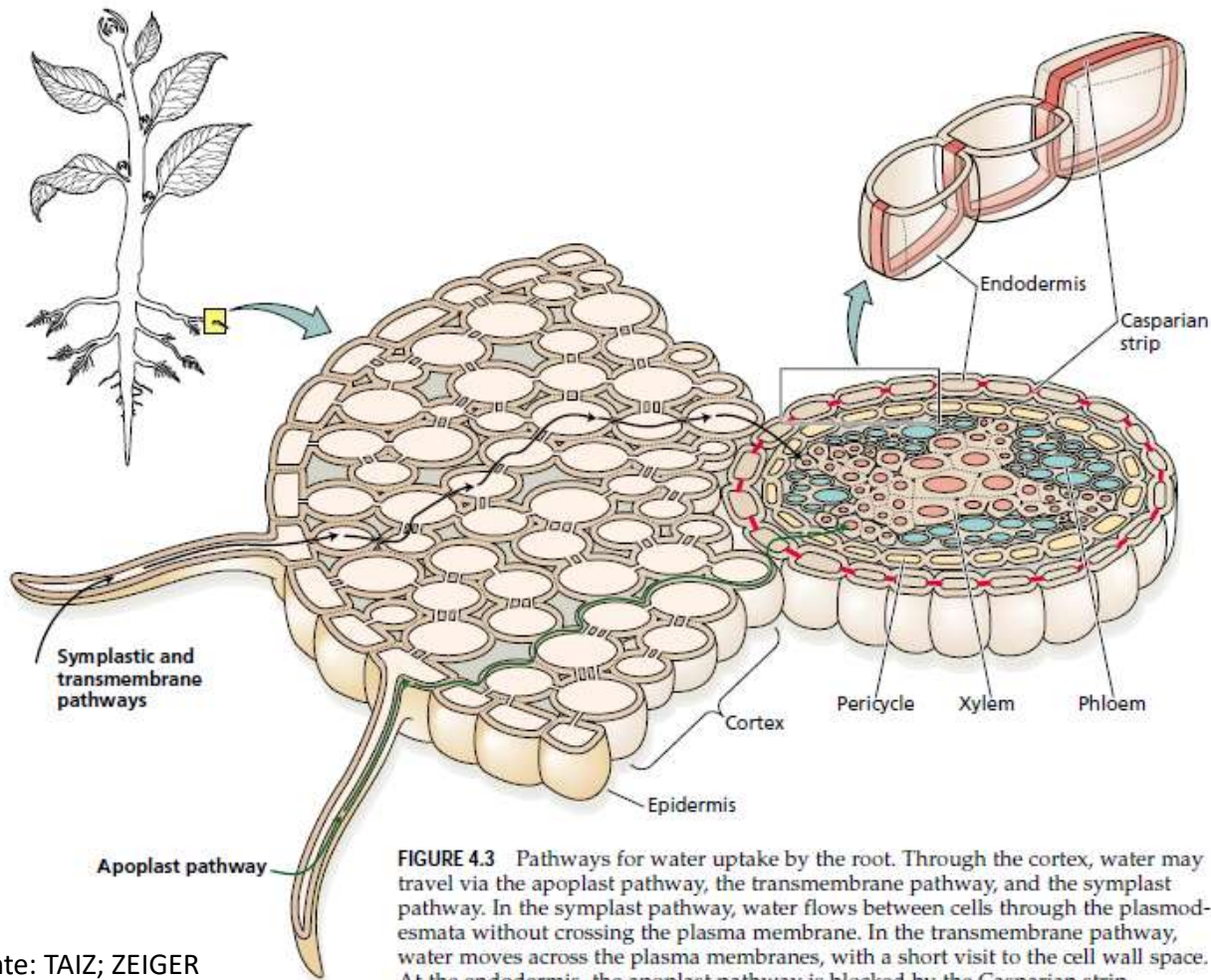
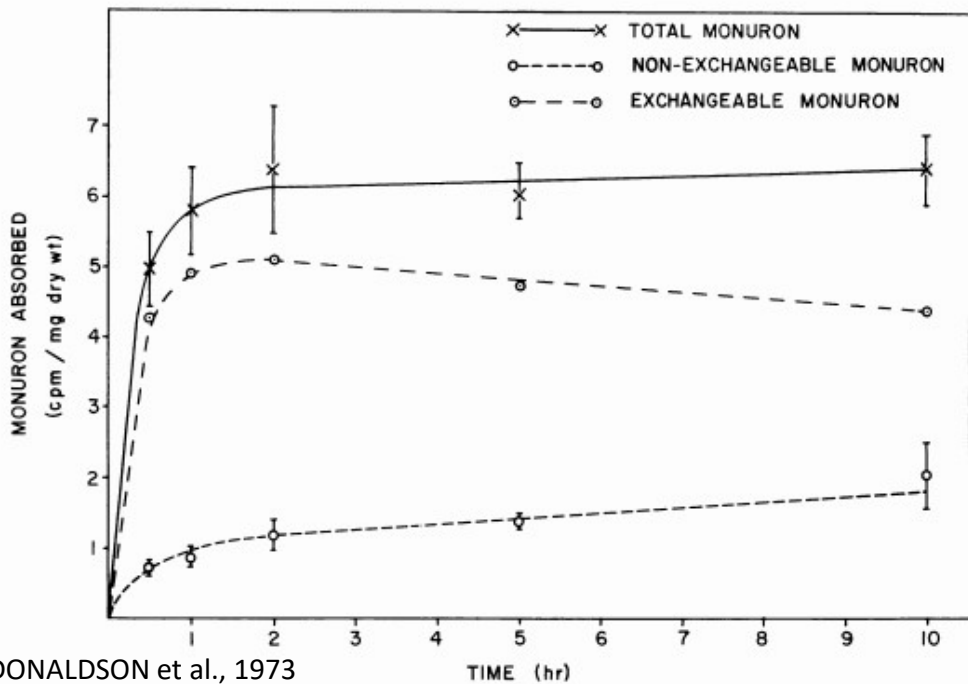


FIGURE 4.3 Pathways for water uptake by the root. Through the cortex, water may travel via the apoplast pathway, the transmembrane pathway, and the symplast pathway. In the symplast pathway, water flows between cells through the plasmodesmata without crossing the plasma membrane. In the transmembrane pathway, water moves across the plasma membranes, with a short visit to the cell wall space. At the endodermis, the apoplast pathway is blocked by the Casparian strip.

- Absorção pode ocorrer pela raiz, semente, ou brotação. Não há cutícula, mas a raiz pode estar suberizada
- Estrias de Caspary (camada suberizada na endoderme da raiz)
- Máxima absorção na porção apical
- A absorção de herbicidas ocorre pelo fluxo de água no solo e por difusão através de um gradiente de concentração

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – absorção pelas raízes



DONALDSON et al., 1973

RCF = [ ] raiz / [ ] solução  
RCF = Root Concentration Factor  
RCF = 1 -> [ ] igual  
RCF < 1 -> baixa entrada  
RCF > 1 -> acúmulo

- Entrada na raiz caracterizada por ser rápida entre 0,5 e 1 hora (ou menos), depois a entrada fica lenta
- A fase inicial = permeabilidade das raízes. Fase posterior = processos metabólicos
- Lipofilicidade (log Kow) está relacionada com a rápida absorção inicial e também podem acumular em tecidos lipídicos
- Compostos polares entram de forma mais lenta (RCF entre 0,6 e 1)
- Compostos lipofílicos entram rapidamente (RCF > 1)
- Ácidos fracos: RCF aumenta com menores pHs

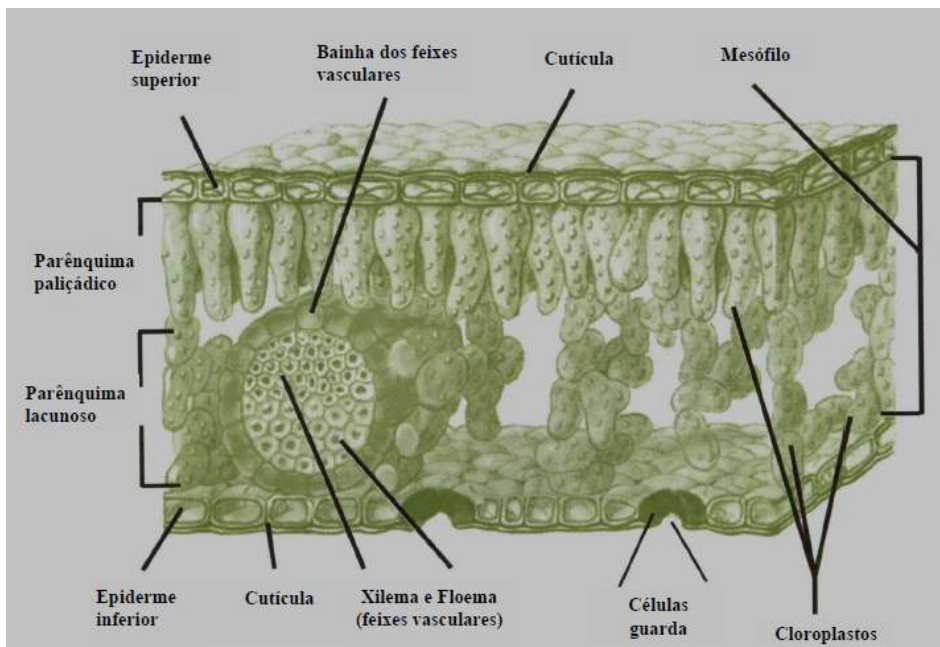
## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas – Movimentação do herbicida

---

- Parede celular
  - Apresenta baixa resistência à passagem
  - Alguns herbicidas podem ser ligados a constituintes da parede celular
- Membrana plasmática
  - Dupla camada fosfolipídica - lipofílica
  - Presença de proteínas carreadoras
  - Herbicidas se movem pela membrana plasmática por difusão ou através de proteínas carreadoras
- Moléculas lipofílicas passam a membrana mais rápido que moléculas hidrofílicas (difusão)
- Entrada de ácidos fracos depende do pH (maior entrada em menores pHs)
- Glifosato – ácido fraco cuja absorção não depende do pH. Entrada ocorre por difusão passiva e por carreador de fosfato na membrana celular

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas - translocação

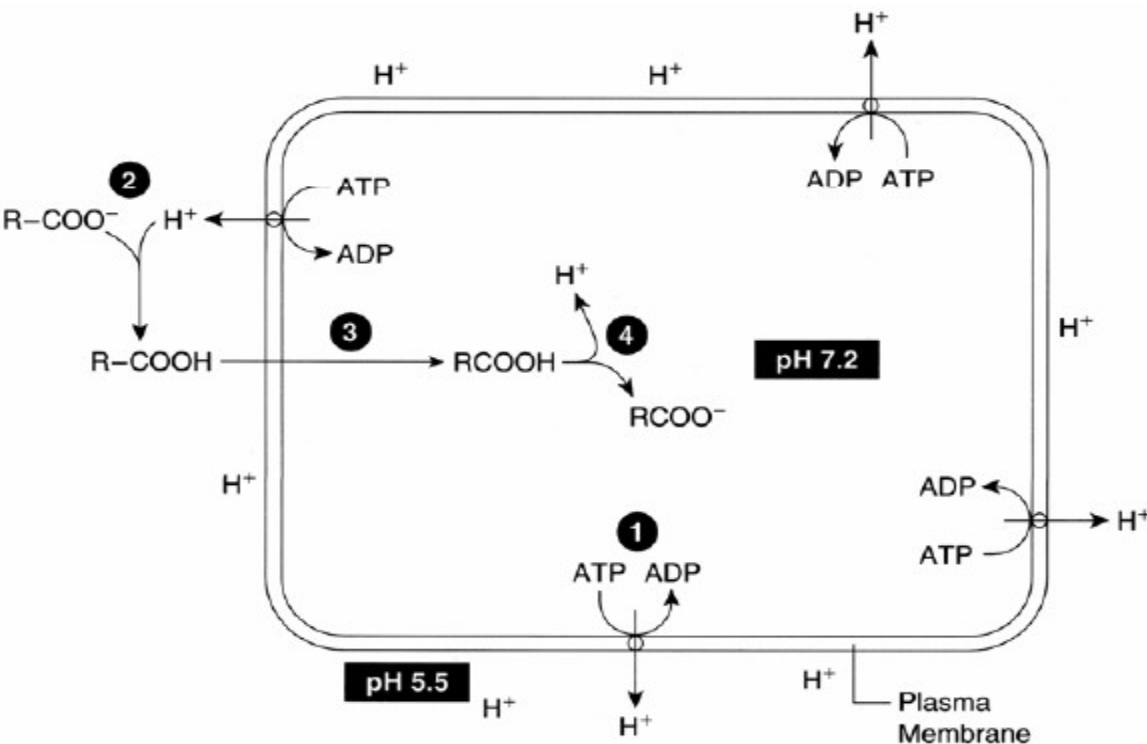
- O Transporte é ditado pela taxa na qual os compostos são capazes de atravessar as membranas dos vasos de transporte (lipofilicidade, pKa -> *ion-trap effect*)



- Herbicidas de contato, baixa mobilidade (ex.: paraquat)
- Necessária boa cobertura
- Herbicidas podem ter efeito nos próprios tecidos de transporte
- Translocação apoplástica (xilema)
  - Das folhas às folhas (aplic. no foliar)
  - Da raízes às folhas (aplic. no solo)
- Translocação simplástica (floema) = gradiente osmótico entre tecidos “fonte” e “dreno”.
- Translocação aposimplástica

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas - translocação

### Ácidos fracos -> *ion-trap effect*

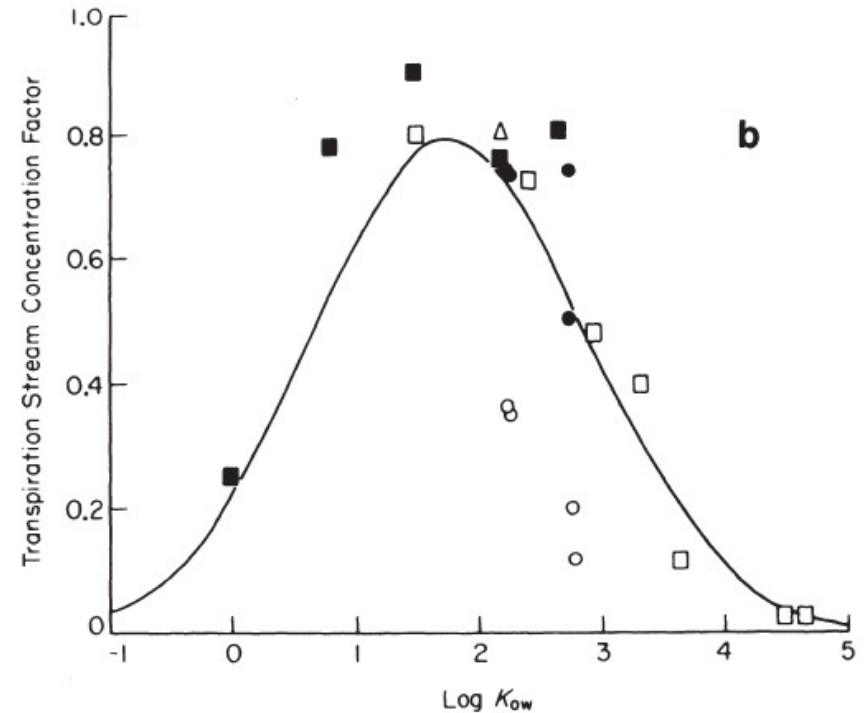
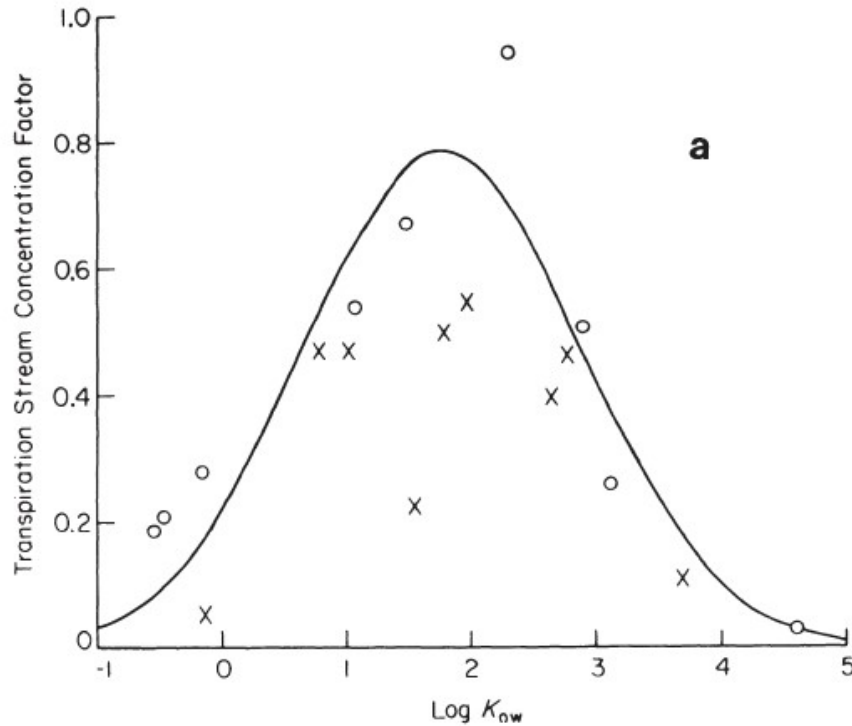


- (1) Bombas de íons hidrogênio ATPase movem o H<sup>+</sup> para fora da membrana plasmática (MP), mantendo um pH baixo (alta [ ] H<sup>+</sup> ou meio ácido) do lado de fora e um alto pH (baixa [ ] de H<sup>+</sup> ou meio básico) dentro da célula.
- (2) O baixo pH externo favorece a conversão de um herbicida na forma iônica (R-COO<sup>-</sup>) para a forma não-iônica lipofílica (R-COOH).
- (3) A forma R-COOH rapidamente se difunde através da MP.
- (4) Quando entra em contato com o meio interno mais básico, o R-COOH é convertido de volta a R-COO<sup>-</sup>, que não se difunde pela membrana plasmática e fica preso dentro do citoplasma.

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas - translocação

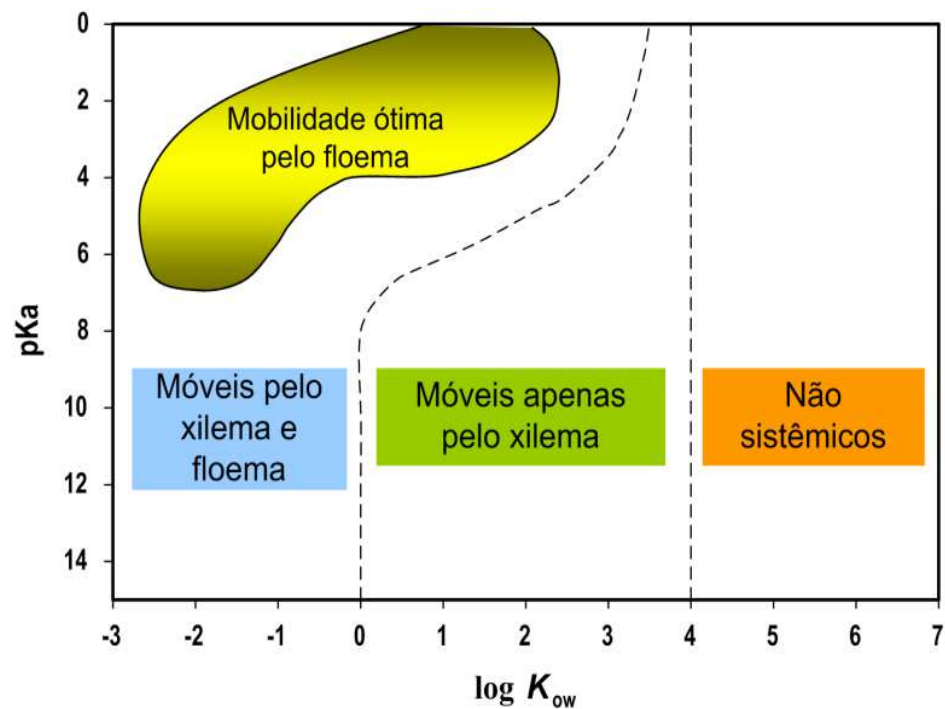
Translocação de herbicidas após absorção radicular. (a) em cevada e 2 herbicidas (b) valores da literatura para herbicidas e fungicidas em várias plantas

$$\text{TSCF} = \frac{[\text{ } \text{xilema}]}{[\text{ } \text{na solução}]}$$



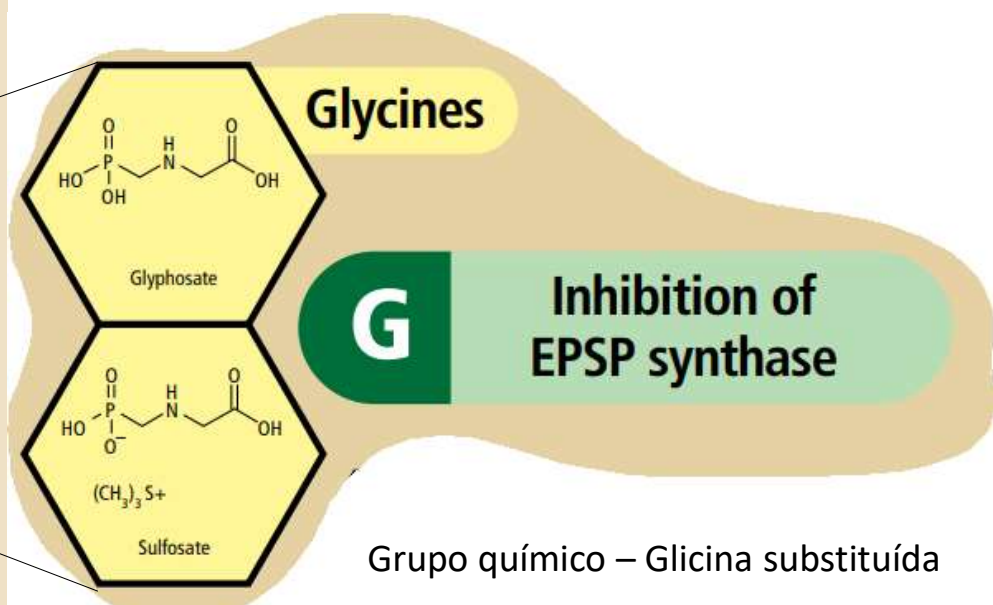
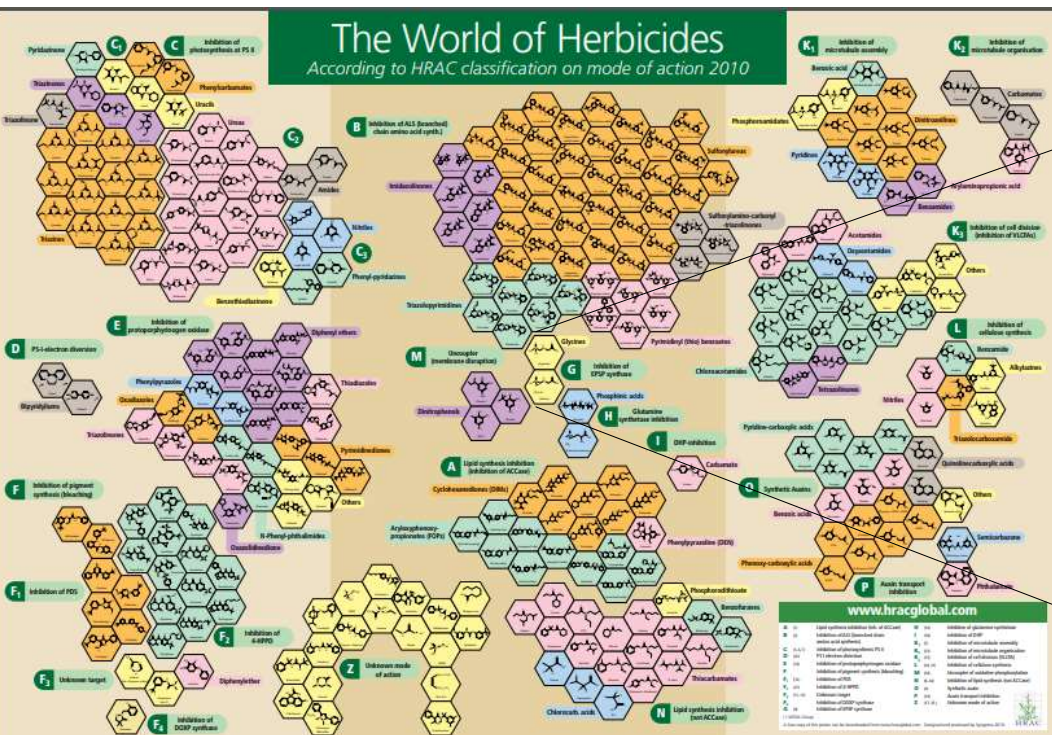
Fonte: BROMILOW; CHAMBERLAIN, 1991

## Mecanismo de absorção e translocação de herbicidas - translocação



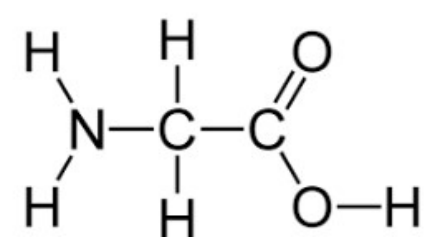
Relação entre dissociação e lipofilicidade requeridas para agrupar herbicidas quanto a sua capacidade de translocação nas plantas.

# Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs



Fonte: HRAC

- Glicina  
(Aminoácido)



- N-fosono-metil-glicina = glifosato
- 1950 (descoberta); 1974 (mercado)
- Sistêmico
- Pós-emergência
- Não residual



## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs

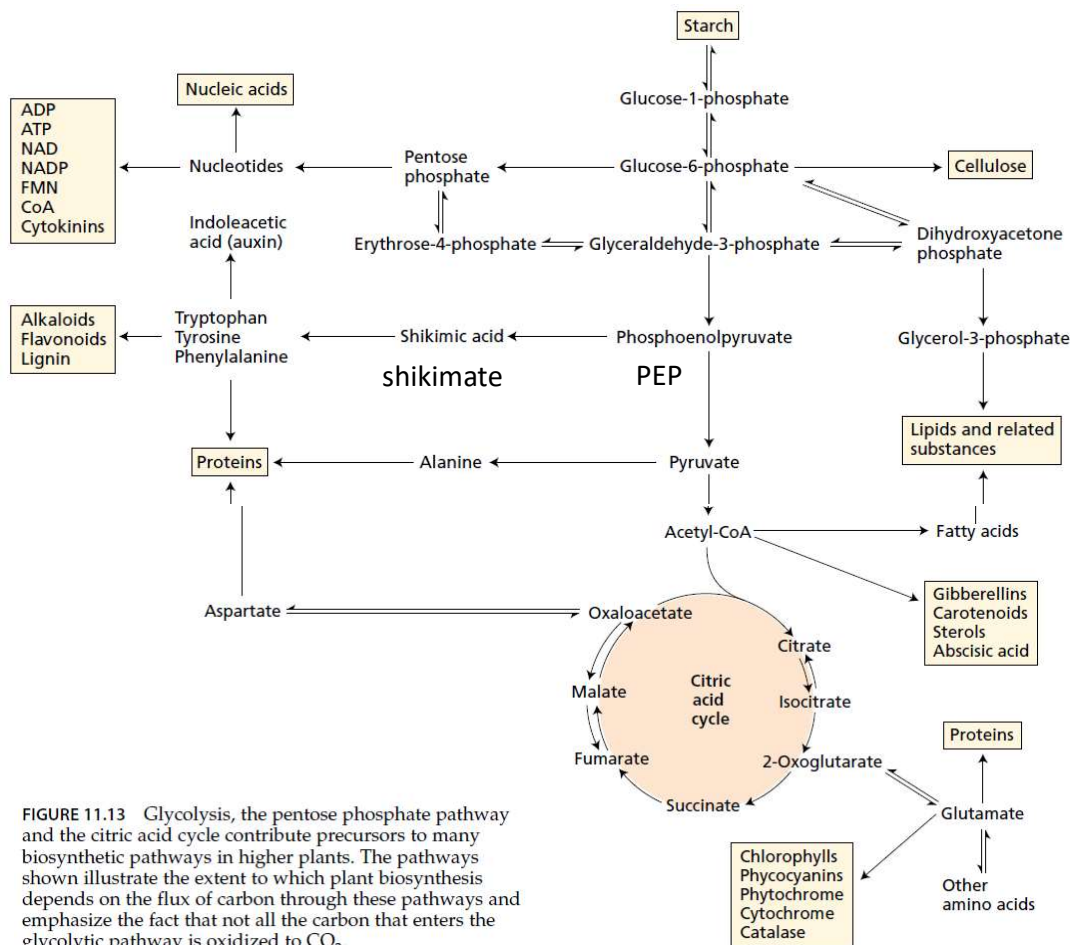
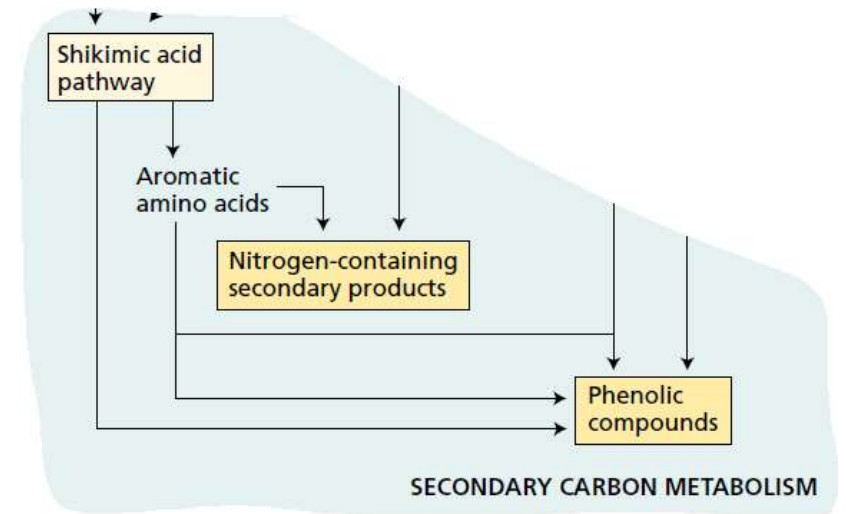


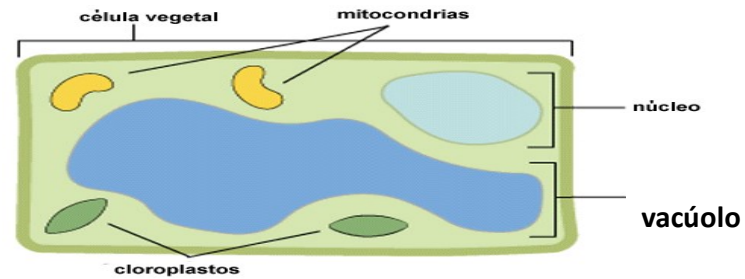
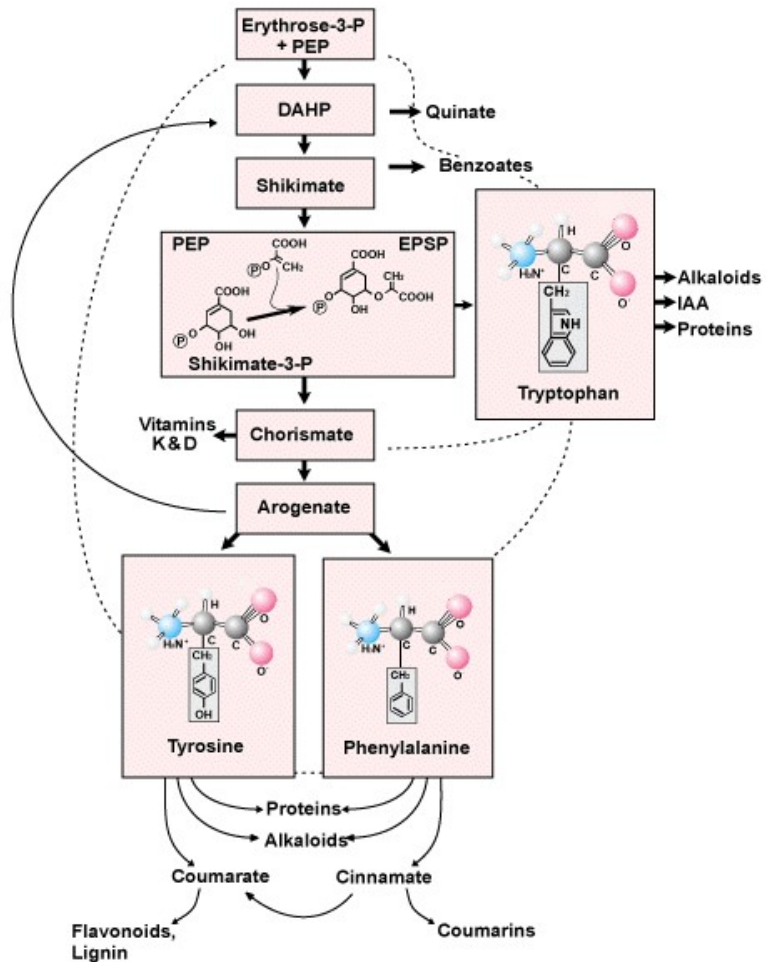
FIGURE 11.13 Glycolysis, the pentose phosphate pathway and the citric acid cycle contribute precursors to many biosynthetic pathways in higher plants. The pathways shown illustrate the extent to which plant biosynthesis depends on the flux of carbon through these pathways and emphasize the fact that not all the carbon that enters the glycolytic pathway is oxidized to CO<sub>2</sub>.



### Mecanismo de ação:

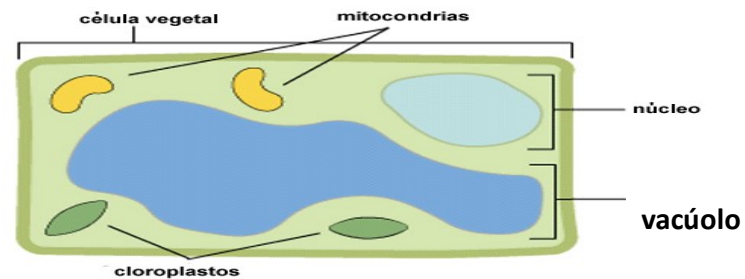
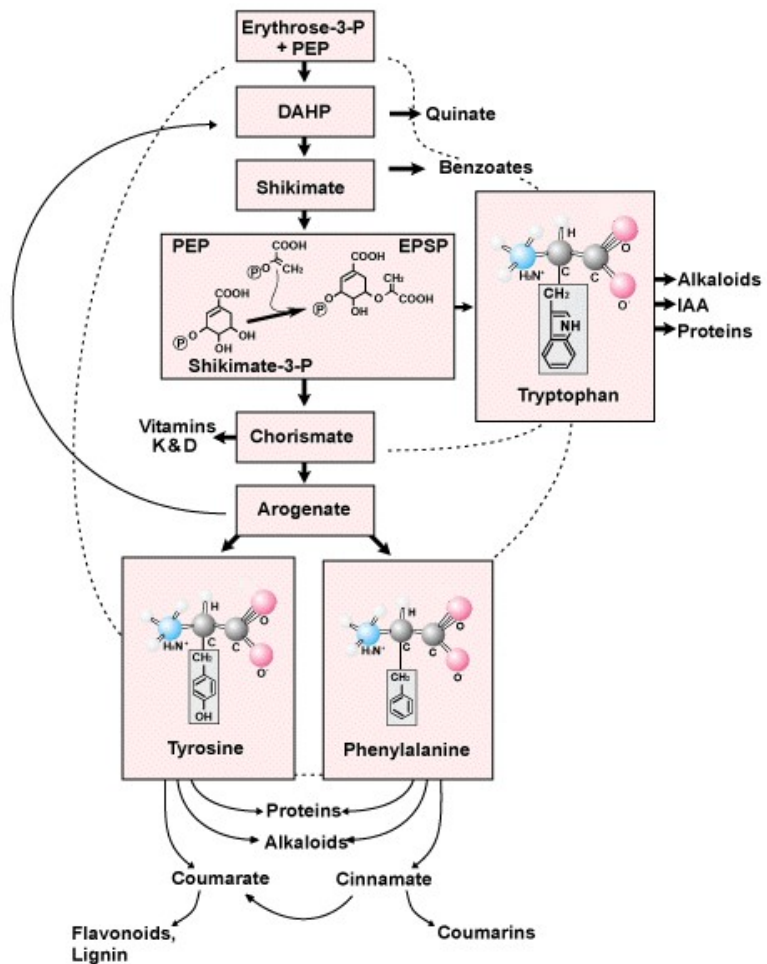
- Inibição da EPSPs na via do chiquimato
- Inibe a síntese de aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano
- Inibe a síntese de compostos secundários (fenólicos, alcaloides, flavonoides, lignina)
- Inibe a produção de auxina (AIA)
- Causa morte lenta: sintomas aparentes em 5 a 7 dias, morte da planta em 14 a 21 dias

## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs



- Via do ácido chiquímico ocorre no cloroplasto
- Plantas têm que produzir todos os 20 aminoácidos que aparecem no código genético.
- Humanos produzem alguns (aminoácidos não essenciais) e têm que consumir outros (aminoácidos essenciais - triptofano, valina, fenilalanina, treonina, lisina, isoleucina, leucina, histidina e metionina)

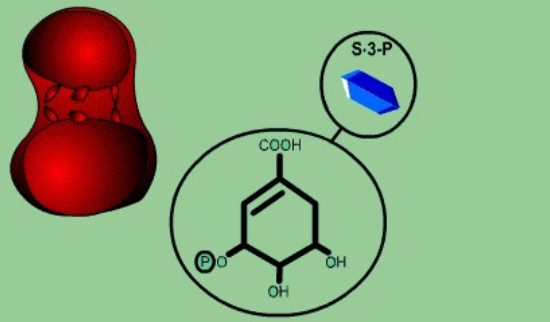
## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs



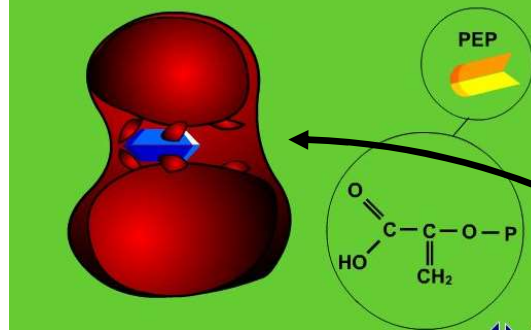
- Via do chiquimato é controlada por “inibição *feed-back*”
- Arogenato = potente inibidor da DAHP sintase
- DAHP sintase (3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase)
- Glifosato = inibidor não competitivo da EPSPs

## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs

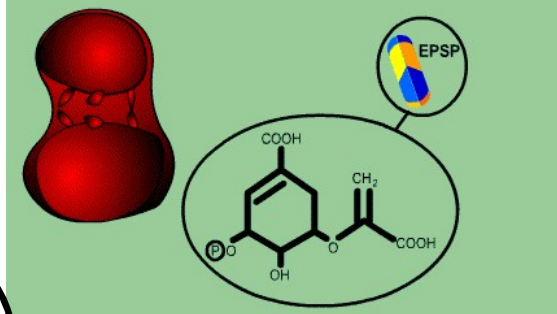
EPSP synthase first binds a molecule of shikimate-3-phosphate.



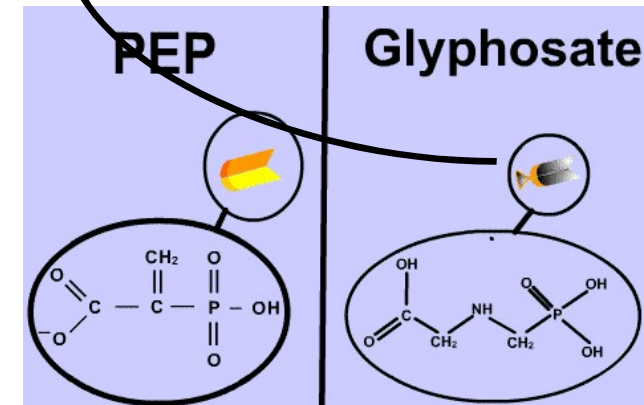
Next a molecule of PEP binds to the enzyme's active site.



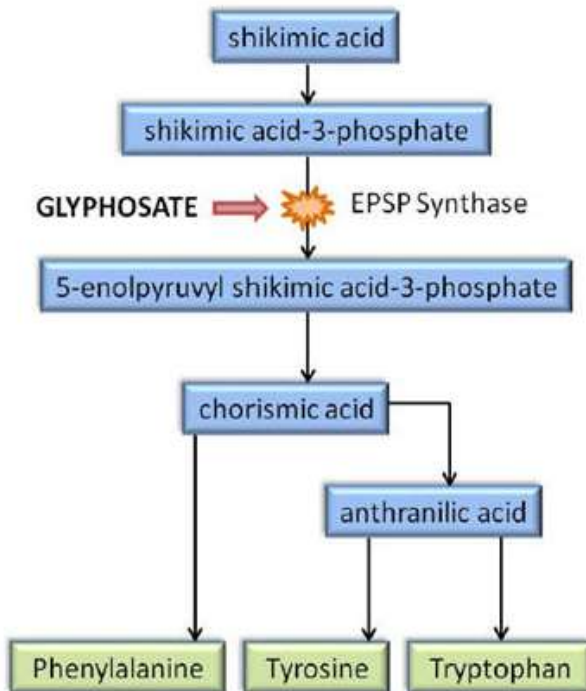
EPSP synthase catalyzes a condensation reaction to produce 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP).



- EPSPs [shikimate-3-phosphate (S3P) + phosphoenolpyruvate (PEP)] =
- 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP; ESP; 5-EP S-3P).
- Glifosato liga-se mais fortemente ao complexo EPSP Sintase - S3P
- Praticamente inativa a enzima EPSPs
- Falta de Arogenato (formado após o 5-EP S-3P)

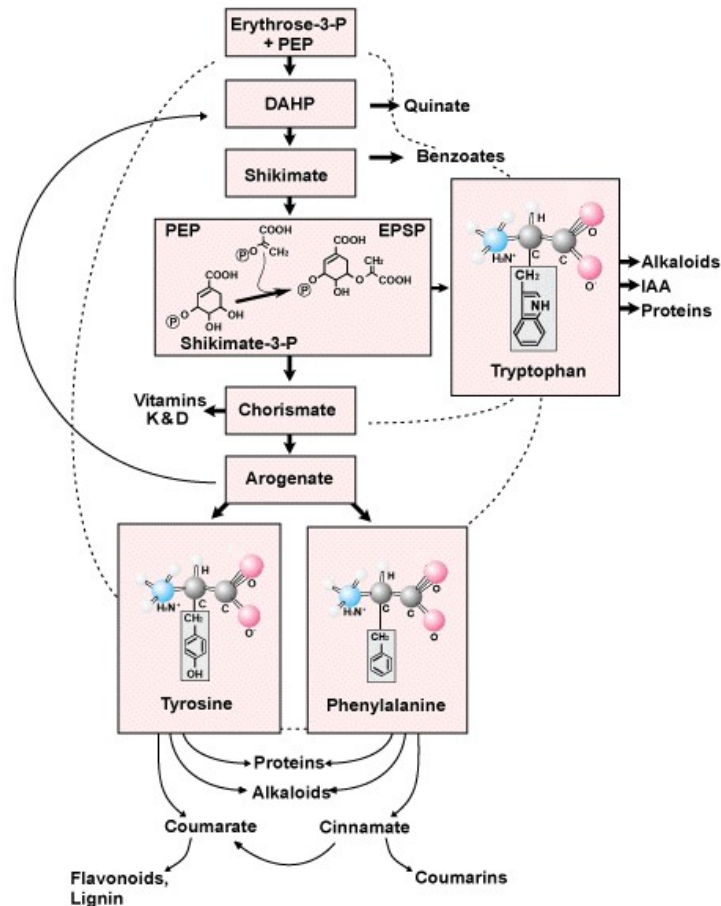


## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs



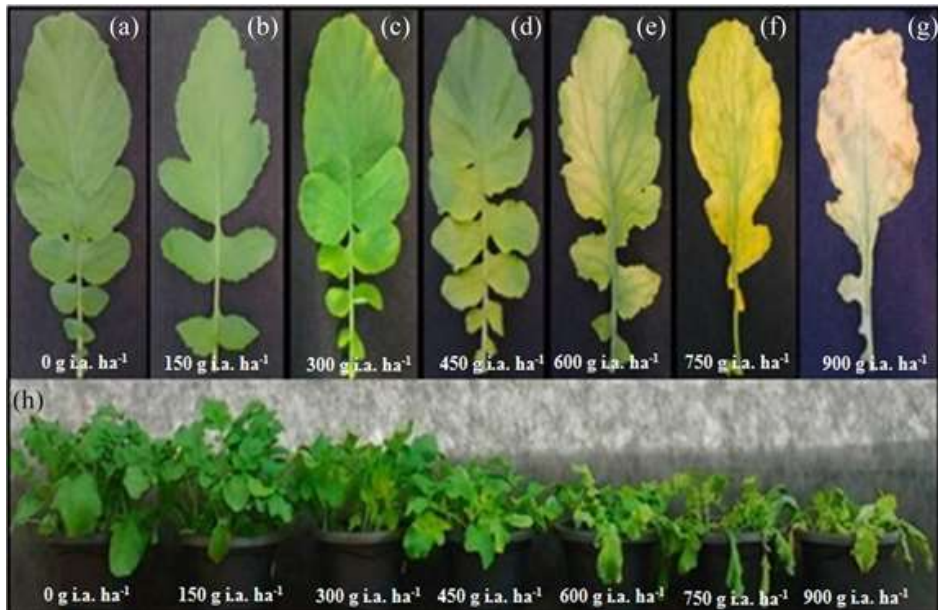
(© Pioneer)

Fonte: <http://www.glyphosate.eu/glyphosate-mechanism-action>



- Falta de Arogenato (formado após o 5-EP S-3P) desregula etapas anteriores na via (Inibição Feedback)
- Acúmulo de chiquimato e S3P
- Glifosato pode ser metabolizado em ácido aminometilfosfônico (AMPA), que pode potencializar os efeitos do glifosato, afetar a síntese de clorofila e a fotossíntese

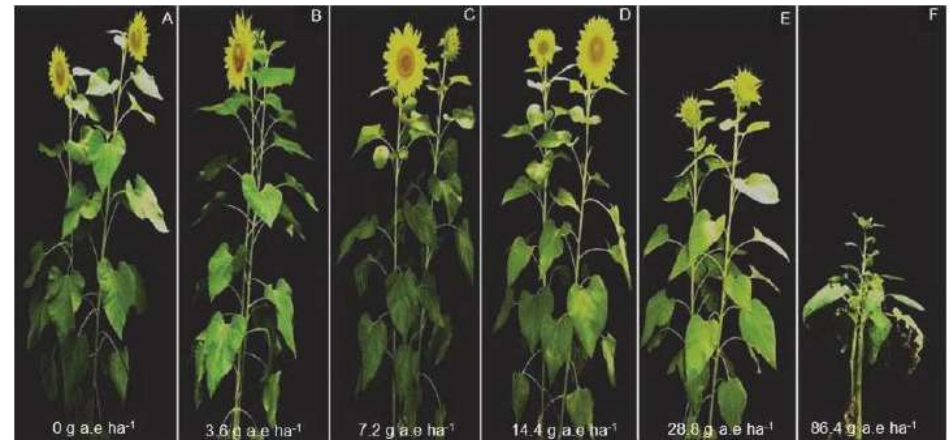
## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs



*Raphanus sativus* L., 5 dias após aplicação de glifosato (SILVA et al., 2014)



Girassóis submetidas a diferentes doses de glifosato, 7 dias após a aplicação (VITAL et al., 2017)



Girassóis submetidos a diferentes doses de glifosato, 28 dias após a aplicação (VITAL et al., 2017)

## Herbicidas Inibidores da enzima EPSPs

---



Sintomas de amarelecimento ocorrem no ponto de crescimento da planta

Fonte: MOUNT VERNON NW WASHINGTON  
RESEARCH & EXTENSION CENTER

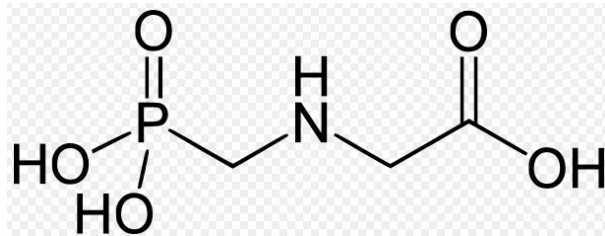


Amarelecimento (em faixas, entre nervuras), estreitamento de folhas e crescimento anormal de ramos (perda de dominância apical)



Fonte: NELSON, 2008

Obrigado!





## REFERÊNCIAS

---

NELSOS, S. Glyphosate Herbicide Injury to Cofefee. **Plant Disease**, n. 56, 2008

SILVA, F.B.; COSTA, A.C.; ALVES, R.R.P.; MEGGUER, C.A. Chlorophyll Fluorescence as an Indicator of Cellular Damage by Glyphosate Herbicide in *Raphanus sativus* L. Plants. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 16, 2014.

VITAL, R.G.; JAKELAITIS, A.; COSTA, A.C.; SILVA, F.B.; BATISTA, P.F. Sunflower plant response to simulated drift of glyphosate and trinexapac-ethyl. **Planta daninha**, v. 35, Viçosa, 2017.

BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K. Pathways and mechanisms of transport of herbicides in plants. *In* **Target Sites for Herbicide Action**, KIRKWOOD, R. C. ed., 1991.

---

## BIBLIOGRAFIA

---

<http://mtvernon.wsu.edu/wp-content/uploads/2016/01/Hcide-modes-of-action-and-symptoms-on-plants-R-Smith-UCCE.pdf>

<https://passel.unl.edu/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=959117477&topicorder=4&maxto=7&minto=1>