

IL TRIDIPHANE: INIBITORE DEI MECCANISMI DI DETOSSIFICAZIONE  
DELLE TRIAZINE NELLE GRAMINACEE INFESTANTI IL MAIS

M. BALBONI, M. PIARDI

Servizio Tecnico e Sviluppo - Dow Italia S.p.A.

Relazione tra graminacee Panicoideae ed erbicidi triazinici  
nella coltura del mais in Italia

Vari fattori (livellamento delle caratteristiche ecologiche ambientali, pressione selettiva dei prodotti chimici, etc.) hanno favorito nel periodo 1960-80 il successo delle graminacee Panicoideae nelle associazioni vegetali infestanti la coltura del mais (Zanin et al., 1985). Nel 1986 la diffusione delle principali specie annuali appartenenti alla sub-famiglia Panicoideae era stimata sulle seguenti superfici: Echinochloa spp., circa 500.000 ha; Digitaria sanguinalis e Setaria spp., 288.000 ha; Panicum dichotomiflorum e P. miliaceum, 98.000 ha (Dow Italia, dati non pubblicati).

Caratteristica comune di tutte le Panicoideae e' la capacita' di detossificare gli erbicidi triazinici, attraverso un sistema enzimatico peculiare che ha permesso anche nelle superfici maidicole italiane la diffusione progressiva di popolazioni atrazino-tolleranti (almeno 100.000 ha nel 1986; Dow Italia) (Zanin, 1987; Zorner et al., 1985).

Appaiono quindi di estremo interesse sia la possibilita' di interferire nel meccanismo detossificante, in modo da favorire l'azione degli erbicidi triazinici sulle infestanti graminacee del mais, sia la prospettiva di potere ulteriormente ridurre le

dosi di impiego degli stessi principi attivi, in virtu' di un meccanismo sinergico tipico (Robinson et al., 1976).

#### Come agiscono le triazine nelle Panicoideae

Consideriamo il caso dell'atrazina, valido pero' anche per la cyanazina. Le Panicoideae assorbono la maggior parte dell'atrazina per via radicale. L'assorbimento fogliare e' in realta' ridotto, poiche' la sostanza sulla superficie fogliare cristallizza rapidamente. Come e' noto, l'aggiunta di olio bianco nelle miscele genera stress nei tessuti epidermici fogliari ed aumenta anche del 300-400% la velocita' di assorbimento dell'atrazina attraverso gli stessi.

A livello fisiologico, l'atrazina agisce nelle membrane tilacoidi dei cloroplasti, dove interrompe il normale flusso di elettroni nel fotosistema II, causando liberazione di energia che viene resa disponibile per la formazione di metaboliti ad alto contenuto energetico (instabili), i quali distruggono il cloroplasto e la cellula, originando nelle specie sensibili rapida clorosi fogliare e quindi necrosi dei tessuti.

#### La detossificazione dell'atrazina nelle Panicoideae

Vi sono almeno tre sistemi di detossificazione (Zorner, 1985):

- 1) - Coniugazione glutationica: e' il sistema dominante. E' catalizzato dalla glutatione-transferasi (GST) e consiste in una sostituzione nucleofila di due molecole di Cl da parte del gruppo sulfidrilico presente nel residuo cisteinico del glutatione, composto di funzione sconosciuta presente naturalmente nel citoplasma.
- 2) - Idrossilazione: e' un meccanismo secondario: avviene principalmente nel sistema radicale attraverso una

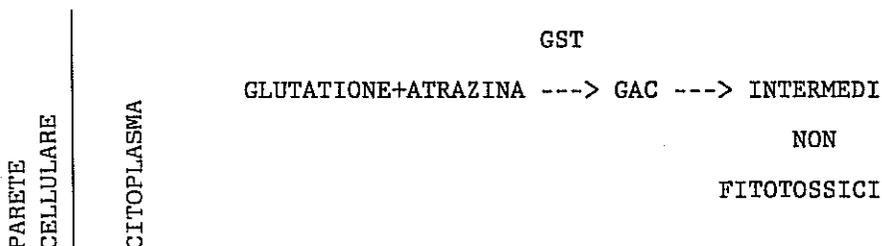
reazione non enzimatica, ma favorita da un catalizzatore chimico.

3) - N-Dealchilazione: poco importante nelle graminacee, e' piu' diffusa nelle dicotiledoni.

La coniugazione glutationica

Nel citoplasma delle cellule fogliari l'enzima glutatione-transferasi (GST) catalizza, come si e' detto, la reazione di coniugazione tra glutatione e atrazina, reazione che porta alla formazione di un composto polare, il S-(4-etilammino-6-isopropilammino-2-triazino)-glutatione (GAC). Il GAC (glutatione-atrazino coniugato) viene facilmente catabolizzato in intermedi polari, insolubili in metanolo, i quali non sono piu' tossici per il protoplasto vegetale.

DETOSSIFICAZIONE:



La coniugazione glutationica e' quindi il meccanismo prevalente di detossificazione dell'atrazina nelle graminacee Panicoideae. Non tutte le specie presentano, tuttavia, uguali capacita' detossificanti.

Zorner, McCall e Stafford (1985) dimostrano come ad esempio Panicum miliaceum abbia velocita' di detossificazione maggiore di quella di Setaria faberi.

Il mais (Zea mays) detossifica l'atrazina sfruttando lo stesso meccanismo.

La coniugazione glutationica e' quindi un sistema detossificante che si qualifica come:

- . comune a tutte le graminacee della sottofamiglia delle Panicoideae;
- . dipendente dalla concentrazione di GST (glutazione-S-transferasi) nel citoplasma cellulare, che e' diversa nelle singole specie;
- . dipendente dallo stadio di sviluppo della pianta: S. faberi alle 7 foglie detossifica l'atrazina piu' velocemente che alle 3 foglie. Questo e' stato spiegato con il fatto che, al "crescere" della pianta, cresce la concentrazione di GST nel citoplasma (Mc Call et al., 1985).

Il Tridiphane: inibitore della detossificazione glutationica dell'atrazina: la via metabolica

In tutte le specie appartenenti alla sottofamiglia delle Panicoideae, il Tridiphane (molecola della The Dow Chemical Co.), assorbito dalla pianta, reagisce con il glutatione nel citoplasma cellulare, in presenza di GST.

In termini di cinetica molecolare, tale reazione e' favorita rispetto a quella:

GST

Glutazione + Atrazina -----> GAC ;

in altre parole, richiede un livello piu' basso di energia di attivazione. Il Tridiphane compete quindi piu' velocemente dell'atrazina verso i siti attivi disponibili del GST.

Il Glutazione coinvolto in questa reazione viene cosi' instradato verso un pathway biochimico che lo sottrae a quello

della coniugazione con l'atrazina: la pianta perde o diminuisce perciò la sua capacità di detossificarla.

Il Tridiphane necessita di un periodo di 15 - 20 ore per raggiungere in concentrazioni sufficienti il citoplasma cellulare e quindi per "legare" il glutatione in quantità apprezzabili.

Durante tale periodo (lag phase) la detossificazione glutationica dell'atrazina continua. L'atrazina disponibile nei tessuti verdi della pianta alla fine della lag phase si mantiene a concentrazioni letali per il protoplasto vegetale, grazie al fatto che il Glutatione viene ora coniugato al Tridiphane nella reazione prima descritta (Zorner, 1985). Secondo lo stesso autore, un'applicazione di atrazina ritardata di circa 20 ore rispetto a quella di Tridiphane, consente di ottenere migliori risultati erbicidi. L'inibizione del GST non comporta la morte della pianta; è necessaria la presenza di triazine in quantità sufficienti per la produzione di metaboliti tossici dal fotosistema II.

Il tridiphane , inibitore della detossificazione delle triazine: relazione tra attività, specie, e stadio fenologico delle Panicoideae

La detossificazione delle triazine dipende dalla concentrazione di GST nel citoplasma, che è legata alla specie. Il mais (filogeneticamente imparentato alle Panicoideae che lo infestano) ha concentrazione maggiore delle specie del genere Panicum, le quali hanno a loro volta concentrazione di GST maggiore delle specie del genere Setaria.

La concentrazione di GST citoplasmatico aumenta con il crescere della pianta: fino allo stadio di 3 foglie vere delle

Panicoideae la quantita' presente di GST e' completamente legata dal Tridiphane, con blocco completo della detossificazione triazinica.

Il Tridiphane non altera in ogni caso queste tendenze: il mais, la specie che ha maggiore concentrazione di GST tra quelle considerate, detossifica normalmente l'atrazina anche dopo essere stato trattato con Tridiphane alle normali dosi di impiego. Un aumento della dose di Tridiphane non accorcia la durata della lag phase, che e' fissa. L'azione erbicida e' tanto maggiore quanto maggiore e' la concentrazione di atrazina disponibile nella pianta alla fine del periodo critico (lag phase), in dipendenza della specie considerata, e dello stadio di sviluppo delle piante - target.

#### Il Tridiphane nel diserbo del mais

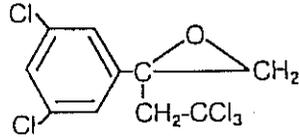
Il Tridiphane applicato a dosi varianti fra 375 e 750 g attivo/ettaro in miscela con 800 g di atrazina o 1000 g di cyanazina in trattamenti di post-emergenza precoce ha fornito controllo completo delle Panicoideae annuali infestanti il mais, in prove replicate di pieno campo condotte nel periodo 1979-87 in America (Saunders et al., 1983) ed in Europa.

Sui risultati di tale sperimentazione si riferira' in altro luogo.

#### Tridiphane: caratteristiche chimiche e proprieta'

Nome comune:	Tridiphane
Trademark:	NELPON <sup>®</sup> , TANDEM <sup>®</sup>
Nome chimico:	2-(3.5-diclorofenil)-2-(2,2,2-tricloroetil) oxirane

Formula di struttura:



Tossicologia

Mammiferi:

DL50 acuta orale ratto maschio	1743	mg/kg
DL50 acuta dermale coniglio maschio	3536	mg/kg

Fauna selvatica:

Trota iridea	a 56 ore:	530	g/l
Anatra muta	acuta orale:	>2510	ppm
Quaglia	8 giorni:	5620	ppm

Residui nella coltura

Inferiori ai limiti di sensibilita' del metodo nella granella e nel foraggio, a seguito di trattamenti in post-emergenza alle normali dosi d'impiego.

Degradazione nel terreno:

Suoli aerobici	25°C:	18 - 22	giorni
Suoli anaerobici	25°C:	104 - 109	giorni
Suoli sterili	25°C:	3	giorni

Lisciviazione

Tridiphane e' relativamente immobile nel terreno: in condizioni normali piu' del 98% viene assorbito. Valori medi Koc di 5600 suggeriscono che il prodotto non venga lisciviato attraverso il terreno.

Proprieta' biologiche

- Inibizione meristemica: il meccanismo di inibizione e' sconosciuto, ma sarebbe da correlare alla proprieta' di Tridiphane di essere agente di alchilazione. L'assorbimento avverrebbe attraverso il coleoptide.
- Inibizione della detossificazione glutationica precedentemente descritta.

RIASSUNTO - IL TRIDIPHANE: INIBITORE DEI MECCANISMI DI DETOSSIFICAZIONE DELLE TRIAZINE NELLE GRAMINACEE INFESTANTI IL MAIS

La capacita' di detossificare l'atrazina mediante un sistema di coniugazione glutationica catalizzato dall'enzima GST, e' una delle cause del progressivo diffondersi nelle superfici maidicole italiane di infestazioni di graminacee Panicoideae includenti popolazioni triazino-tolleranti. Il Tridiphane 2-(3,5-diclorofenil)-2 -(2,2,2-tricloroetil)oxirane e' la nuova molecola della The Dow Chemical Co. Sono descritte le caratteristiche del Tridiphane quale inibitore dell'enzima GST, e quindi quale agente sinergico per gli erbicidi triazinici a dosi ridotte in applicazioni di post-emergenza.

SUMMARY - TRIDIPHANE: INHIBITOR OF TRIAZINIC HERBICIDES DETOXIFICATION IN GRASSWEEDS IN MAIZE

The property of detoxification of triazinic compounds through a system catalized by GST is one of primary reasons of diffusion of Panicoideae grasses in italian maize areas. Tridiphane 2-(3,5-dichlorophenyl)-2 -(2,2,2-trichloroethyl)oxirane is a new molecule from the Dow Chemical Company. Properties of Tridiphane as GST enzyme inhibitor are described, as well as

its synergic activity with triazinic herbicides at reduced rates in post-emergence applications in maize.

BIBLIOGRAFIA

ZANIN G., et al. (1985). Le erbe infestanti graminacee nella moderna agricoltura: dinamica, problemi e possibili soluzioni. Atti V Convegno S.I.L.M., 13-19

ZANIN G. (1987). L'atrazina nel diserbo del mais e del sorgo: possibilita' di sostituzione e di riduzione delle dosi di impiego. Atti Convegno Diserbo - Ecologia - Sanita', Alessandria, 27-35

ZORNER P.S., et al. (1985). A physiological description of Tridiphane / Triazine synergism in Panicoideae grasses and its regulation by plant and environmental parameters. GH-C 1729 Dow Chemical USA, Walnut Creek, 1-31 (unpublished report)

ROBINSON D.E. and GREEN D.W. (1976). Metabolism and differential susceptibility of Crabgrass and Witchgrass to Simazine and Atrazine. Weed Sci. 24, 500-504

ZORNER P.S. (1985). A summary of those parameters important to the efficacy of Tridiphane and Atrazine treatments combinations. GH-C 1729 Dow Chemical USA, Wilnut Creek, 79-91 (unpublished report).

MC CALL P.J., et al. (1985). Modeling the foliar behaviour of Tridiphane. GH-C 1729 Dow Chemical USA, Wilnut Creek, 43-78 (unpublished report).

SAUNDERS E.S. and VATNE R.D. (1983). Dowco 356 Product Development Summary, 1980-82. GH-P-1168 Dow Chemical USA, 1-34 (unpublished report)