



Monooxygenase du blé et de Veronica Persica responsables du métabolisme du chlortoluron

Christian Mougin, Martine Gonneau, Marie-Chantal Canivenc-Lavier, N. Polge, F. Cabanne

► To cite this version:

Christian Mougin, Martine Gonneau, Marie-Chantal Canivenc-Lavier, N. Polge, F. Cabanne. Monooxygenase du blé et de Veronica Persica responsables du métabolisme du chlortoluron. 21. congrès du groupe français des pesticides, May 1991, Nancy-Brabois, France. hal-02778109

HAL Id: hal-02778109

<https://hal.inrae.fr/hal-02778109>

Submitted on 17 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MONOOXYGENASES DU BLE ET DE *VERONICA PERSICA* RESPONSABLES DU METABOLISME DU CHLORTOLURON

C. Mougin, M. Gonneau, M.C. Canivenc, N. Polge et F. Cabanne
INRA, BV 1540, 21034 DIJON CEDEX

INTRODUCTION

Plusieurs réactions d'oxygénation assurent la désactivation métabolique du chlortoluron (CPU, Figure 1) dans les plantes. L'une conduit à l'hydroxylation du méthyle lié au noyau aromatique, deux autres à l'hydroxylation des méthyles de l'azote tertiaire, qui aboutissent à une première, puis à une seconde N-déméthylation (Gross *et al.*, 1979).

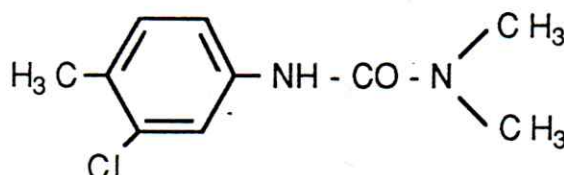


Figure 1. Structure du CPU

Le métabolisme du CPU a été suivi chez deux espèces tolérantes qui le métabolisent activement : *Triticum aestivum* var. Koga II et *Veronica persica*.

1. Notre premier objectif était d'identifier la nature des monooxygénases impliquées dans le métabolisme du CPU.

2. Le second objectif était de préciser l'importance des différences interspécifiques existant entre les monooxygénases homologues.

RESULTATS

A. Métabolisme du chlortoluron dans les plantes

Chez le blé, l'aminobenzotriazole (ABT), un inhibiteur de monooxygénases à cytochrome P-450, réduit drastiquement le métabolisme du CPU dont la demi-vie passe de 25 heures environ à plus de 90 heures. Son effet est plus marqué sur l'hydroxylation que sur la 1^{ère} N-déméthylation. L'inhibition de la désactivation se traduit par une phytotoxicité accrue du CPU. L'ABT inhibe aussi le métabolisme de l'isoproturon dont il augmente la phytotoxicité (Gaillardon *et al.*, 1985 ; Cabanne *et al.*, 1987).

Chez la véronique, l'ABT n'affecte pratiquement pas le métabolisme du CPU dont la demi-vie reste inférieure à 8 heures (Gonneau et al., 1988). A ce stade, il n'est pas possible d'établir si ce résultat traduit une spécificité différente des oxygénases de la véronique ou s'il est la conséquence d'un autre phénomène (inactivation de l'inhibiteur par exemple).

B.Métabolisme du chlortoluron dans des cellules cultivées en milieu liquide

Chez le blé, les cellules produisent les métabolites trouvés dans les plantes, c'est à dire principalement le CPU hydroxylé et le CPU N-monodéméthylé.

Comme dans les plantes, le métabolisme du CPU est fortement inhibé par l'ABT, les effets se faisant déjà sentir pour des concentrations voisines de 10 μ M. Le métabolisme du CPU est aussi inhibé par le tetcyclacis et le procloraz qui complexent le fer hémique des cytochromes P-450.

L'addition de 2,4-D, de cyométrinil ou de procloraz dans le milieu de culture des cellules deux jours avant l'apport du CPU aboutit au doublement ou au triplement du taux de dégradation de l'herbicide (Canivenc et al., 1989).

Chez la véronique, le métabolisme du chlortoluron n'est pas significativement affecté par l'ABT à des doses inférieures à 200 μ M. Au delà de cette valeur, il est difficile d'établir si les réductions du métabolisme résultent d'un effet direct de l'ABT sur les monooxygénases ou de la toxicité du produit sur les cellules.

C.Métabolisme du chlortoluron dans des microsomes isolés de cellules cultivées en milieu liquide

C.1.Intervention de monooxygénases à cytochrome P-450 chez le blé et la véronique

Les métabolites hydroxylés et N-monodéméthylés sont trouvés dans les microsomes des deux espèces. Le traitement des cellules par le 2,4-D ou le cyométrinil stimule *in vitro* l'hydroxylation et la N-déméthylation du CPU ainsi que la laurate hydroxylase, une activité dépendante d'un cytochrome P-450. Le 2,4-D et le cyométrinil augmentent aussi les teneurs des microsomes en cytochromes P-450. Les activités CPU hydroxylase et N-déméthylase sont essentiellement localisées dans les microsomes, sont dépendantes du NADPH et de l'oxygène moléculaire (Mougin et al., 1990 ; Polge et al.). Elles sont inhibées par les inhibiteurs de la NADPH-cyt P-450 réductase tels que le cytochrome c ou des anticorps anti-réductase. En présence de CPU, les microsomes fournissent des spectres de type I, traduisant la fixation de l'herbicide dans la poche catalytique d'un (de) cytochrome(s) P-450.

C.2.Spécificités des cytochromes P-450 du blé et de la véronique

Les monooxygénases des deux espèces produisent les mêmes métabolites *in vitro*. Cependant, elles montrent des

sensibilités tranchées vis à vis du monoxyde de carbone, du tetcyclacis et de l'ABT (Tableau 1).

Tableau 1. Sensibilités à divers effecteurs de la CPU hydroxylase (CPUH) et N-déméthylase (CPUDM) du blé et de la véronique.

Effecteurs	% d'inhibition			
	blé		véronique	
	CPUH	CPUDM	CPUH	CPUDM
monoxyde de carbone	50	35	75	98
tetcyclacis 10 μ M	20	10	74	45
100 μ M	60	40	99	80
ABT 100 μ M	74	57	0	0
1000 μ M	100	100	35	7

C.3.Effets d'analogues structuraux sur le métabolisme du chlortoluron dans des microsomes de blé

Les phénylurées testées montrent des effets inhibiteurs variés lorsqu'elles sont ajoutées au milieu d'incubation avec le CPU et à la même concentration (Mougin *et al.*, 1991). L'isoproturon est sans effet alors que le diuron se comporte comme un inhibiteur puissant. L'étude des corrélations entre la structure chimique des analogues structuraux et leurs capacités à inhiber le métabolisme du CPU a fait apparaître l'importance du paramètre électronique des deux substituants placés en *méta* et *para* sur le noyau phényle.

CONCLUSIONS

1. Les activités CPU hydroxylase et N-déméthylase, obtenues dans les microsomes isolés de cellules de blé et de véronique présentent les caractéristiques des monooxygénases à cytochrome P-450.

En ce qui concerne le blé, il semble que les activités CPU hydroxylase et N-déméthylase soient assurées par des monooxygénases distinctes : l'hydroxylase a par exemple toujours montré une plus grande sensibilité que la N-déméthylase à l'ABT. De plus, seule l'activité N-déméthylase a pu être obtenue en remplaçant l'oxygène moléculaire par l'hydroperoxyde de cumène.

2. Il existe des différences interspécifiques concernant les monooxygénases responsables des mêmes activités.

En particulier, l'insensibilité de la N-déméthylase de la véronique à l'ABT, *in vitro* dans nos conditions expérimentales, permet d'avancer que l'absence d'effet de cet inhibiteur est une caractéristique spécifique de la véronique.

3. Les résultats obtenus *in vitro* lors d'incubations réalisées avec des microsomes ont confirmé les résultats obtenus auparavant *in vivo* avec les plantules ou les cellules.

REMARQUES

1. Le traitement des cellules de véronique avec le 2,4-D a fait apparaître in vitro une activité hydroxylase absente in vivo. Il en résulte qu'un traitement inducteur peut stimuler des activités de détoxification présentes dans les plantes et en faire apparaître de nouvelles.

2. Les microsomes isolés de cellules de blé cultivées en milieu liquide en présence de 2,4-D sont également capables de N-déméthyliser l'isoproturon en présence de NADPH. Comme cet herbicide ne se comporte pas comme un inhibiteur de la N-déméthylation du CPU, il est possible que la N-déméthylation de ces deux herbicides proches du point de vue de leur structure exige l'intervention de monooxygénases distinctes.

3. Inversement, les mêmes expériences d'inhibitions compétitives incitent à penser qu'une même forme d'enzyme pourrait assurer la N-déméthylation du CPU et du diuron (substrat également N-déméthylé par les microsomes de blé).

BIBLIOGRAPHIE

- Gross D., Laanio T., Dupuis G. et Esser H.O. (1979) Pestic. Biochem. Physiol. 10, 49-59.
- Gaillardon P., Cabanne F., Scalla R. et Durst F. (1985) Weed Res. 25, 397-402.
- Cabanne F., Huby D., Gaillardon P., Scalla R. et Durst F. (1987) Pestic. Biochem. Physiol. 28, 371-380.
- Gonneau M., Pasquette B., Cabanne F. et Scalla R. (1988) Weed Res. 28, 19-25.
- Canivenc M.C., Cagnac B., Cabanne F. et Scalla R. (1989) Plant Physiol. Biochem. 27, 1-10.
- Mougin C., Cabanne F., Canivenc M.C. et Scalla R. (1990) Plant Sci. 66, 195-203.
- Mougin C., Polge N., Scalla R. et Cabanne F. (1991) Pestic. Biochem. Physiol. 40, 1-11.
- Polge N., Mougin C. and Cabanne F. Pestic. Biochem. Physiol., en préparation.