

ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM NABO RESISTENTE A ALS EM FUNÇÃO DA APLICAÇÃO DE HERBICIDAS

FARIAS, H. S. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – humbertofarias31@gmail.com); LANGARO, A. C. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – namelia.langaro@gmail.com); NOHATTO, M. A. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – marcosnohatto@hotmail.com); FRAGA, D. S. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – fragadiegos@gmail.com); VARGAS, L. (EMBRAPA TRIGO – leandro.vargas@embrapa.br); AGOSTINETTO, D. (FAEM – UFPel, Pelotas/RS – dirceu.agostinnetto@pq.cnpq.br)

RESUMO: A elevada utilização de herbicidas inibidores da ALS no passado contribuiu para o surgimento de biótipos de nabo resistentes. Aplicação de herbicidas nas plantas desencadeia diversas respostas, sendo uma delas a produção de espécies reativas de oxigênio, causando estresse oxidativo, o qual pode ser quantificado pela peroxidação lipídica. O objetivo do estudo foi avaliar alterações no metabolismo secundário de *Raphanus* spp. decorrentes da aplicação de herbicidas. Para isso, o experimento foi conduzido em casa de vegetação em esquema bifatorial, onde o fator A comparou herbicidas (imazethapyr e bentazon) e o fator B épocas de coleta (24 e 48 horas após a aplicação). As variáveis analisadas foram clorofilas e carotenoides, fenóis totais e peroxidação lipídica. O teor de clorofilas em plantas de nabo não é alterado pela aplicação dos herbicidas imazethapyr e bentazon. A aplicação dos herbicidas imazethapyr e bentazon resulta em acúmulo de fenóis totais nas plantas de nabo, enquanto maior peroxidação lipídica ocorre apenas em plantas submetidas à aplicação de bentazon.

Palavras-chave: resistência, estresse oxidativo, *Raphanus* spp.

INTRODUÇÃO

Os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) tem sido amplamente utilizados devido a sua alta seletividade às plantas de interesse econômico, baixa dose aplicada, baixa toxicidade aos mamíferos, baixo impacto ambiental e alta eficiência (YU et al., 2003). O uso contínuo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação leva a seleção de biótipos resistentes, como é o caso de nabo (*Raphanus* spp.), o qual tem apresentado redução de controle com os herbicidas inibidores de ALS (HEAP, 2014).

O nabo caracteriza-se por ser planta anual, pertencente à família Brassicaceae (KISSMANN e GROTH, 1999), considerada uma das principais causadoras de prejuízos nas lavouras (RIGOLI et al., 2008). A ocorrência de cruzamentos com o nabo forrageiro cultivado, aliado a elevada utilização de herbicidas inibidores da ALS no passado, contribuiu

para o surgimento de biótipos resistentes a chlorimuron-ethyl, cloransulam-methyl, imazethapyr, metsulfuron-methyl e nicosulfuron, o que dificultou ainda mais o controle dessa planta (THEISEN, 2001).

O surgimento da resistência tem ocorrido em quase todos os grupos químicos de herbicidas, porém alguns mecanismos de ação têm selecionado biótipos com maior frequência. Este processo pode estar relacionado com a afinidade enzimática das moléculas, com a absorção, translocação, exclusão diferencial dos herbicidas e/ou com rotas de detoxificação metabólica (MOREIRA et al., 2007).

A aplicação de herbicidas desencadeia diversas respostas na planta, sendo uma delas a produção de espécies reativas de oxigênio, causando estresse oxidativo e podendo levar as plantas a morte. A quantificação do estresse oxidativo pode ser realizada pela quantificação da peroxidação lipídica. Outro indicativo do estresse é a degradação de compostos fotossintéticos, acúmulo de peróxido de hidrogênio e aumento da produção de compostos fenólicos.

Dessa forma, o estudo objetivou avaliar alterações no metabolismo secundário de *Raphanus* spp. decorrentes da aplicação de herbicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Herbologia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – Universidade Federal de Pelotas, na estação de cultivo 2010/2011. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, arranjado em esquema fatorial 3 x 2, com quatro repetições. O fator A foi constituído pelos herbicidas imazethapyr (1 L ha⁻¹) e bentazon (1,5 L ha⁻¹), além da testemunha sem aplicação; e, o fator B por épocas de coleta, sendo estas, 24 e 48 horas após aplicação dos tratamentos.

O biótipo de nabo resistente a ALS foi semeado em vasos com capacidade volumétrica para dois L, preenchidos com solo, sendo mantida uma planta por unidade experimental. A aplicação dos herbicidas foi realizada quando o nabo apresentava de 5 a 6 folhas com o auxílio de pulverizador costal pressurizado com CO₂ e barra com quatro bicos Teejet 110.015, tipo leque, espaçados de 0,5 m, com vazão de 120 L ha⁻¹.

Imediatamente após as coletas as amostras foram congeladas a -80°C até o momento das análises. As variáveis analisadas foram conteúdo de fenóis totais, teor de clorofilas e carotenoides e peroxidação lipídica.

Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) e de carotenoides totais foram determinados segundo LICHTENTHALER (1987) e calculados pelo uso das fórmulas a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470 nm, sendo os resultados expressos em mg g⁻¹ de matéria fresca (MF).

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com método descrito por SINGLETON e ROSSI (1965), pela reação com Folin-Ciocalteu 2N e Carbonato de sódio 20% (m/v). Foi elaborada curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de MF.

Os danos celulares foram determinados em função das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por HEATH e PACKER, 1968. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155 mM cm^{-1} e os resultados foram expressos em nM MDA g^{-1} de MF.

Os dados foram analisados quanto à normalidade e à homocedasticidade e posteriormente submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em sendo constatada significância estatística, os efeitos das coletas foram avaliados pelo teste t ($p \leq 0,05$) e dos herbicidas, pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada significância estatística para as variáveis clorofilas e carotenoides. Observou-se efeito simples de herbicidas para variável conteúdo de fenóis totais e interação entre herbicidas e épocas de coleta para a variável peroxidação lipídica.

A aplicação dos herbicidas aumentou o conteúdo de fenóis totais em relação à testemunha (Figura 1). Esses resultados possivelmente estão associados aos mecanismos de proteção das plantas ao herbicida, em especial ao sistema antioxidante não enzimático. Plantas submetidas a condições de estresse apresentam a característica de acumular compostos fenólicos nos tecidos, tendo os seus níveis aumentados ou novos compostos fenólicos podem ser sintetizados (CHEYNIER et al., 2013). A presença dos compostos fenólicos aumenta a atividade antioxidante da planta em função das propriedades redutoras e estrutura química dessas moléculas (SOUSA et al., 2007).

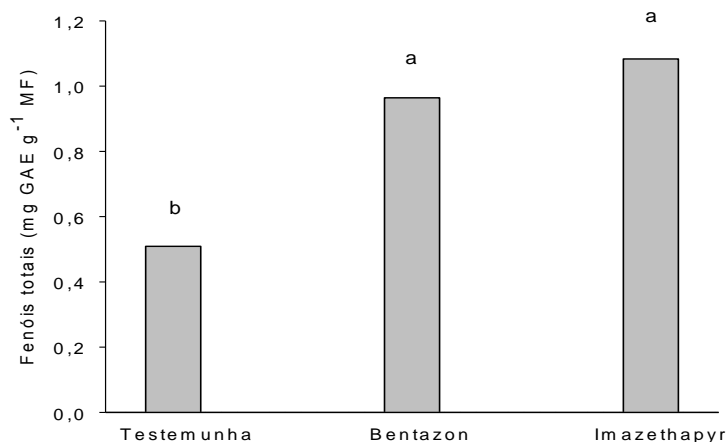


Figura 1. Conteúdo de fenóis totais (mg GAE g^{-1} MF) em plantas de nabo após aplicação de herbicidas. CEHERB/FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2011.

Não se observou diferença significativa entre os tratamentos para o acúmulo de MDA às 24 horas após a aplicação (Figura 2). No entanto, quando avaliada às 48 horas após aplicação, observou-se maior acúmulo de MDA nas plantas submetidas à aplicação de bentazon. O MDA é o produto da peroxidação de lipídeos e, conseqüentemente, o maior conteúdo desse composto indica estresse oxidativo (HAN e WANG, 2002).

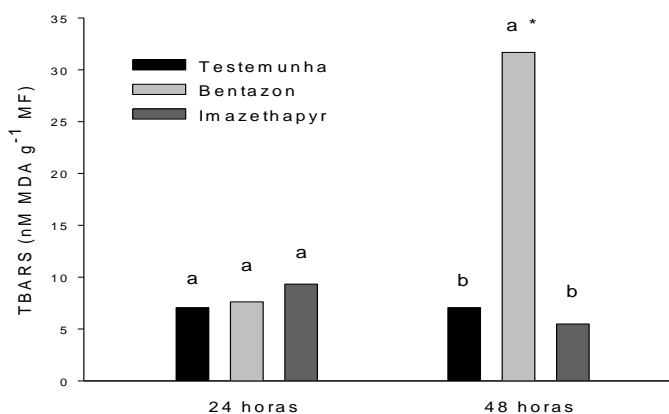


Figura 2. Conteúdo de malondialdeído (nM MDA g⁻¹ MF) em plantas de nabo após aplicação de herbicidas. CEHERB/FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2011.

O bentazon bloqueia o fluxo de elétrons do FSII impedindo a transferência de energia da clorofila para o centro de reação, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio e conseqüentemente peroxidação lipídica (FLECK e VIDAL, 2001). Estudo também demonstrou aumento no nível de MDA em plantas de arroz após aplicação do herbicida bentazon, sugerindo que a peroxidação lipídica decorre da geração de radicais livres, como resultado da interrupção do transporte de elétrons no fotossistema II (WANG et al., 2008).

O herbicida imazethapyr não causou peroxidação lipídica nas plantas. Acredita-se que por se tratar de biótipo resistente aos inibidores da ALS, o herbicida é metabolizado e/ou não provoca inibição da enzima alvo e por isso não desencadeia estresse oxidativo (ZABALZA et al., 2007).

CONCLUSÕES

O teor de clorofilas em plantas de nabo não é alterado pela aplicação dos herbicidas imazethapyr e bentazon.

A aplicação dos herbicidas imazethapyr e bentazon resulta em acúmulo de fenóis totais nas plantas de nabo, enquanto maior peroxidação lipídica ocorre apenas em plantas submetidas à aplicação de bentazon.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.72, p.1-20, 2013.
- FLECK, N.G.; VIDAL, R.A. Inibidores do fotossistema 2. In: VIDAL, R.A.; METOTTO JR., A. (Eds.) *Herbicidologia*. Porto Alegre: Evangraf, 2001. p. 100-112.
- HAN, Y.C.; WANG, C.Y. Physiological basis of bentazon tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) lines. **Weed Biology and Management**, v.2, p.186-193, 2002.
- HEAP, I.. International survey of herbicide resistant weeds. Group b/2 resistant red rice (*Oryza sativa*). Brasil. 2006. Disponível em: <<http://www.weedscience.org/Details/Case.aspx?ResistID=5372>>. Acesso em: 10 abr. 2014.
- HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198, 1968.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. Tomo II. 2 ed. São Paulo: Basf Brasileira, 1999. 978p.
- LICHTENTHALER, H.K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK, S.P.; KAPLAN, N.O. **Methods in Enzymology**, San Diego: Academic Press, 1987. p.350-382.
- MOREIRA, M.S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.
- RIGOLI, R.P. et al. Habilidade competitiva relativa do trigo (*Triticum aestivum*) em convivência com azevém (*Lolium multiflorum*) ou nabo (*Raphanus raphanistrum*). **Planta Daninha**, v.26, p.93-100, 2008.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.
- SOUSA, C.M. de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, p.351-355, 2007.
- THEISEN, G. Group B/2 resistant raddish (*Raphanus sativus*). 2001. Disponível em: <http://www.weedscience.org/Case/Case.asp?ResistID=5201>. Acesso em: 3 abr. 2014.
- WANG, Y.S. et al. Physiological research on the difference of bentazon tolerance in wild type rice and sensitive lethal mutants. **Acta Agronomica Sinica**, v.34, p.1615-1622, 2008.
- YU, Q. et al. ALS gene proline (197) mutations confer ALS herbicide resistance in eight separated wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations. **Weed Science**, v.51, p. 831-838, 2003.
- ZABALZAA, A. et al. Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 150–159, 2007.