

## EFEITOS DO AMÔNIO GLUFOSINATE EM CULTIVARES SENSÍVEL E RESISTENTES DE ALGODÃO

LATORRE, D.O. (FCA – UNESP, Botucatu/SP - ddolatorre@fca.unesp.br); SILVA, I. P.F. (FCA – UNESP, Botucatu/SP - ilca\_pfs@yahoo.com.br); MARCHESI, B. B. (FCA – UNESP, Botucatu/SP - brumarchesi@hotmail.com); CARBONARI, C.A. (FCA – UNESP, Botucatu/SP - carbonari@fca.unesp.br); CAVENAGHI, A.L. (UNIVAG/MT - alcavenaghi@uol.com.br); VELINI, E.D. (FCA – UNESP, Botucatu/SP - velini@fca.unesp.br).

**RESUMO:** O algodão Widestrike® apresenta os genes que conferem às plantas resistência a insetos e também o gene que confere tolerância ao amônio glufosinate (*pat*), que codifica a síntese da enzima fosfinotricina-n-acetiltransferase (*pat*) a metabolizar rapidamente o glufosinate em um composto estável e não tóxico para a planta. Já o algodão LibertyLink® é resistente ao amônio glufosinate. O amônio glufosinate é o único ingrediente ativo do grupo dos herbicidas inibidores da glutamina sintetase, que é responsável pela reação de condensação do glutamato e amônio, formando glutamina e água. Por ser um análogo estrutural do substrato da enzima, liga-se de forma irreversível a ela, interrompendo a rota de formação da glutamina. O objetivo do trabalho foi avaliar as alterações metabólicas das plantas de algodão Widestrike® comparadas a plantas Liberty Link® e convencionais. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia - UNESP - Campus de Botucatu (SP). As doses testadas para cada tratamento foram 50%, 100% e 200% da dose comercial (400 g i.a. ha<sup>-1</sup>/ 2 L p.c. ha<sup>-1</sup>) do herbicida amônio glufosinate mais a testemunha sem aplicação e, os períodos de aplicação de cada tratamento foram 25, 40 e 55 dias após a emergência (DAE). Foram realizadas coletas de folhas aos 2 dias após a aplicação dos tratamentos para determinação de amônia, glutamato e glufosinate. A cultivar de algodão FM 975WS apresentou comportamento metabólico semelhante à cultivar IMACD 6001LL, resistente ao herbicida amônio glufosinate, onde os tratamentos até dose comercial: mantiveram a atividade da enzima glutamina sintetase e metabolizaram o glufosinate.

**Palavras-chave:** Amônia, Glufosinate, Glutamato, *Gossypium hirsutum* L., Serina.

### INTRODUÇÃO

O algodão LibertyLink® (LL) é resistente ao amônio glufosinate, que é um herbicida do grupo dos herbicidas inibidores da glutamina sintetase (GS), obtido de uma toxina natural – fosfinotricina, a partir de duas espécies bactérias de *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygrosopicus*. A GS é uma enzima que está envolvida na síntese do aminoácido glutamina, através da adição de uma molécula de amônio (forma inorgânica) no aminoácido glutamato.

O isômero óptico levógiro do amônio glufosinate atua como um análogo estrutural da GS, inibindo a formação da glutamina e rompendo o ciclo do nitrogênio no interior das células. Uma série de eventos é desencadeada a partir desse bloqueio, como acúmulo de amônia no interior celular, formação de radicais livres, acúmulo de glioxilato, paralisação da fotossíntese levando as plantas a morte.

A cultivar de algodão FM975 Widestrike® (WS), resistente a algumas pragas do algodoeiro, apresenta em seu processo de transgenia a inserção do gene marcador *bar*, gene no qual expressa a enzima PAT, que metaboliza rapidamente o glufosinate em um composto estável (mesma enzima inserida em culturas LL). Porém, ainda não existem estudos detalhados do comportamento metabólico destas plantas em relação à intoxicação e mecanismos de desintoxicação, após o tratamento com o herbicida.

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar as alterações metabólicas das plantas de algodão Widestrike® comparadas a plantas Liberty Link® e convencionais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NuPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas - FCA / UNESP - Campus de Botucatu (SP). Cada unidade experimental foi composta por vasos plásticos com capacidade de 1 L, que foram preenchidos com solo e substrato Bioplant (Relação 1:1), e semeadas, com a finalidade de manter 2 plantas por vaso das cultivares de algodão FM 993 (convencional), FM 975WS e IMACD 6001LL.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), analisando três cultivares de algodão, com quatro doses do herbicida amônio glufosinate, com aplicações sequenciais do herbicida em três momentos após a semeadura, com quatro repetições. Os tratamentos dentro de cada cultivar foram divididos em função das doses aplicadas e dos períodos de aplicação. As doses calculadas para cada tratamento foram 50%, 100% e 200% da dose comercial ( $400 \text{ g i.a. ha}^{-1} / 2 \text{ L p.c. ha}^{-1}$ ) do herbicida amônio glufosinate (Finale) mais a testemunha sem aplicação e, os períodos de aplicação de cada tratamento foram 25, 40 e 55 DAE. Quando as plantas de algodão apresentaram 2 folhas verdadeiras completamente emergidas, aos 25 DAE, foi realizada a primeira aplicação dos tratamentos e, aos 40 DAE e 55 DAE a segunda e terceira aplicações sequências, respectivamente.

Aos 2 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA) foram realizadas as coletas para determinação de amônia, glutamato e glufosinate. As metodologias adotadas para a extração de amônia e para a extração e determinação dos compostos foram as desenvolvidas por

Barberis (2012), e a análise para quantificação da amônia foi realizada segundo protocolo de Petersen e Hurlle (2000).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cultivar FM 993 (Figura 1A) apresentou os teores de amônia aumentados à medida que se elevaram as doses do herbicida amônio glufosinate. Por se tratar de uma cultivar suscetível ao herbicida amônio glufosinate, as plantas não possuem mecanismo de desintoxicação do glufosinate e/ou de elevados níveis de amônia produzidos a partir da aplicação do herbicida.

Plantas de algodão da cultivar IMACD 6001LL (Figura 1B) apresentaram teores de amônia inferiores aos da cultivar FM 993, pois expressam em seu DNA o gene *pat/bar* que lhes conferem a atividade da enzima PAT que metaboliza o glufosinate num composto não tóxico (N-acetyl-L-glufosinate – NAG) e que não compete com o sítio de ligação da enzima GS.

A cultivar FM 975WS (Figura 1C) apresentou característica peculiar, por também apresentar em seu material genético o gene *pat* e/ou *bar*, que lhe confere certa resistência ao herbicida amônio glufosinate. Embora não tenha havido diferença significativa, foi possível observar que na menor dose (1 L p.c. ha<sup>-1</sup>) e nos dois primeiros momentos de coleta (27 e 42 DAE) na dose de 2 L p.c. ha<sup>-1</sup>, a cultivar apresentou comportamento semelhante a alguns tratamentos da cultivar Liberty Link®.

Na Figura 2A pode-se observar o incremento do teor de glutamato em relação à testemunha, com o aumento das doses do herbicida, pois o amônio glufosinate atua como um análogo estrutural da enzima GS, inibindo-a e promovendo redução da síntese de glutamina e acúmulo de glutamato (SODEK, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Quanto a cultivar IMACD 6001LL, pode-se observar na figura 2B que comparando com a testemunha, ocorreu pouca redução ou equivalência do teor de glutamato nos três períodos avaliados, com exceção ao segundo período de coleta na maior dose. A maior dose do herbicida aos 42 DAE propiciou **uma** certa intoxicação às plantas, observando-se aumento no teor de glutamato, que pode estar relacionado a uma fase mais sensível da planta a doses superiores à recomendada (2 L p.c. ha<sup>-1</sup>).

O teor de glutamato da cultivar FM 975WS pode ser observado na Figura 2C. As plantas de algodão da cultivar FM 975WS mesmo sem a aplicação dos tratamentos apresentaram teores de glutamato inferiores aos da cultivar IMACD 6001LL. As plantas tratadas com a dose de 1 L p.c. ha<sup>-1</sup> apresentaram maiores teores de glutamato nos três períodos avaliados, sendo aos 57 DAE o maior acúmulo deste aminoácido.

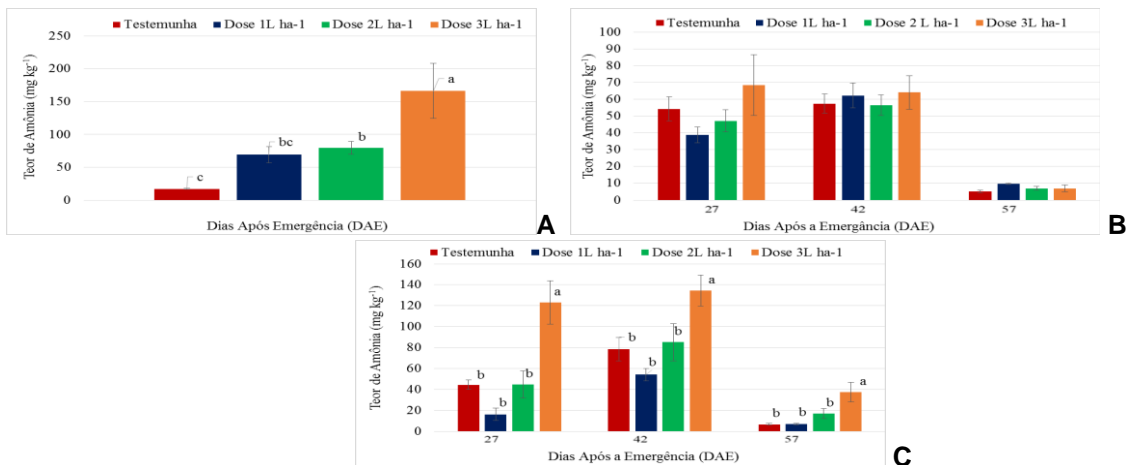


Figura 1. Teor de amônia (mg de amônia por kg de massa de matéria fresca) da cultivar de algodão: [A] FM 993, [B] IMACD 6001LL e [C] FM 975WS em função de quatro doses (L) do herbicida amônio glufosinate. Médias dos tratamentos agrupadas por DAE seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. A barra indica o erro padrão entre os dados. Botucatu/SP, 2014.

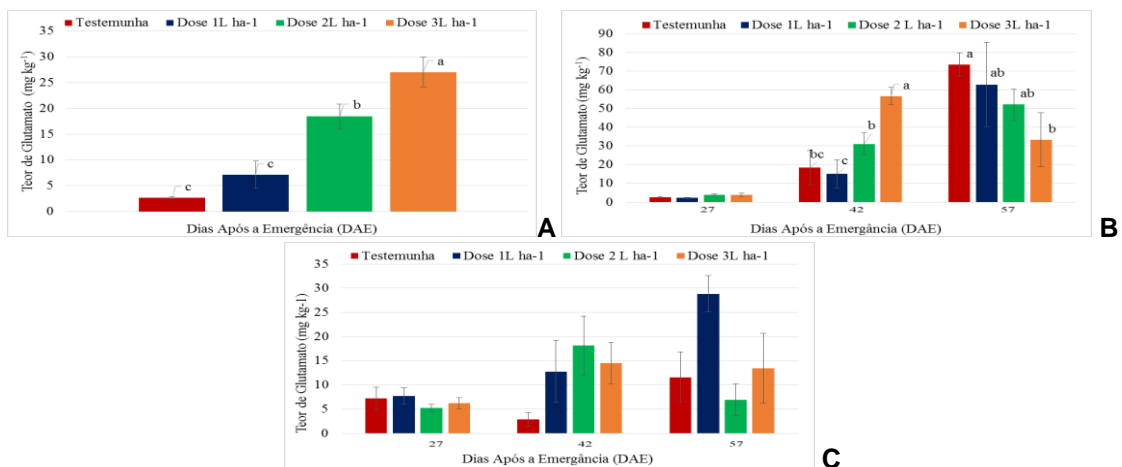


Figura 2. Teor de glutamato (mg de glutamato por kg de massa de matéria fresca) da cultivar de algodão: [A] FM 993, [B] IMACD 6001LL e [C] FM 975WS em função de quatro doses (L) do herbicida amônio glufosinate. Médias dos tratamentos agrupadas por DAE seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. A barra indica o erro padrão entre os dados. Botucatu/SP, 2014.

Na Figura 3A observa-se incremento no teor de glufosinate à medida que aumenta a dose do herbicida. A cultivar FM 993 por ser convencional, não apresenta mecanismos de metabolização da molécula ingrediente ativo do herbicida amônio glufosinate, portanto, quanto maior a dose da aplicação, maior será o teor no interior das plantas.

Observa-se de maneira geral, na Figura 3B, até a dose comercial recomendada (2 L ha<sup>-1</sup>) aos 27 e 42 DAE pouca ou nenhuma diferença significativa no teor de glufosinate. O baixo teor de glufosinate, principalmente nas doses de 1 L e 2 L ha<sup>-1</sup>, comprova a metabolização do

peptídeo pelas plantas que apresentam em seu DNA o gene *pat*, como as cultivares IMACD 6001LL e FM 975WS.

Pode-se observar na Figura 3C o teor de glufosinate da cultivar FM 975WS aos 27, 42 e 57 DAE. Embora a cultivar FM 975WS não apresente resistência ao herbicida amônio glufosinate assim como a cultivar IMACD 6001LL, o maior acúmulo ( $69,99 \text{ mg kg}^{-1}$ ) do peptídeo de glufosinate foi observado na cultivar IMACD 6001LL, aos 42 DAE.

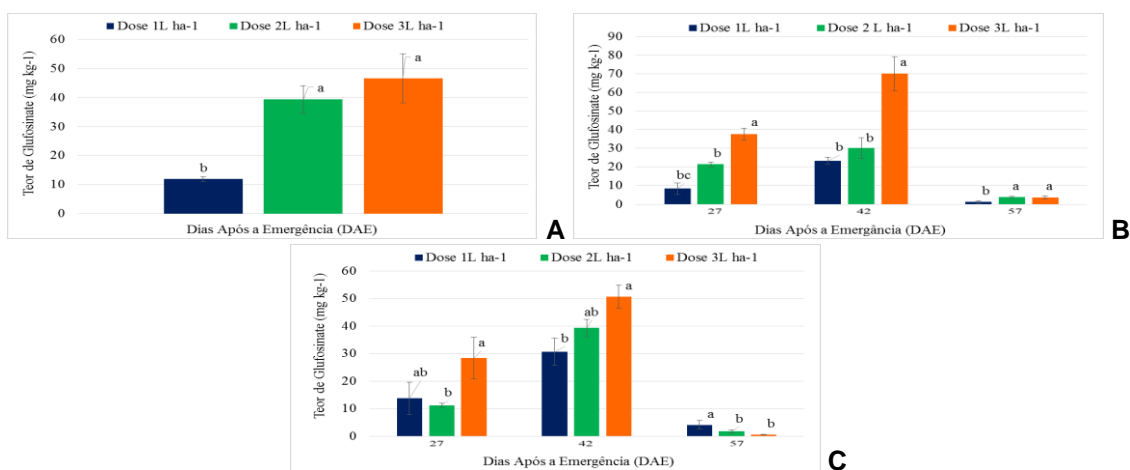


Figura 3. Teor de glufosinate (mg de glufosinate por kg de massa de matéria fresca) da cultivar de algodão: [A] FM 993, [B] IMACD 6001LL e [C] FM 975WS em função de quatro doses (L p.c.) do herbicida amônio glufosinate. Médias dos tratamentos agrupadas por DAE seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. A barra indica o erro padrão entre os dados. Botucatu/SP, 2014.

## CONCLUSÕES

A cultivar de algodão FM 975WS apresentou comportamento metabólico semelhante à cultivar IMACD 6001LL, resistente ao herbicida amônio glufosinate. Até a dose comercial, a cultivar manteve a atividade da enzima glutamina sintetase, não acumulando amônia e glutamato e metabolizou glufosinate ao ponto de não propiciar intoxicação e morte das plantas.

## LITERATURA CITADA

- BARBERIS, L. R. M. **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja**. 2012. 75f. Tese (Doutorado em Agronomia/ Agricultura) -Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- PETERSEN, J.; HURLE, K. Einsatz von Liberty zur Klettenlabkrautbekaämpfung in glufosinatesistentem Winterraps. **Z PflKrankh PflSchutz**, Sonderh, v. 17, p. 389-396, 2000.
- SODEK, L. Metabolismo do nitrogênio. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.94-113.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. p.343-368.