

METABOLISMO E INFLUÊNCIA DO GLYPHOSATE NOS NÍVEIS DE AMINOÁCIDOS AROMÁTICOS EM AZEVÉM

PICOLI JR. G. J. (FCA – UNESP, Botucatu/SP – gilmarpicoli@yahoo.com.br); CARBONARI, C. A. (FCA – UNESP, Botucatu/SP – carbonari@fca.unesp.br); GOMES, G. L. G. C. (FCA – UNESP, Botucatu/SP – giovanna.gomes@fca.unesp.br); VELINI, E. D. (FCA – UNESP, Botucatu/SP – velini@fca.unesp.br); STASIEVSKI, A. (Arysta LifeScience – Pereiras/SP – stasievski@arysta.com.br); SIMÕES, P. S. (Unesp, Boucatu/SP-pliniosaulosimo@hot.com).

RESUMO: O objetivo do trabalho foi comparar os níveis de glyphosate, AMPA e dos três aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas de azevém suscetíveis e com suspeita de resistência a glyphosate após a aplicação de doses do herbicida. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 8 tratamentos (0 g e.a. ha⁻¹ (0%), 135 g e.a. ha⁻¹ (12,5%), 270 g e.a. ha⁻¹ (25%), 540 g e.a. ha⁻¹ (50%), 1080 g e.a. ha⁻¹ (100%), 2160 g e.a. ha⁻¹ (200%), 4320 g e.a. ha⁻¹ (400%), 8640 g e.a. ha⁻¹ (800%) de glyphosate sendo que a dose de 100% foi considerada a dose recomendada e quatro repetições. Foi realizada a quantificação de glyphosate, ácido aminometilfosfônico (AMPA), fenilalanina, tirosina e triptofano por um sistema LC-MS/MS aos 5 e 28 dias após a aplicação (DAA) e pesagem da massa seca das plantas aos 40 DAA. Não houve diferenças nos níveis e metabolismo do glyphosate pelos biótipos suscetível e resistente, assim como nos níveis dos aminoácidos aromáticos. A dose de 12,5% de glyphosate ocasionou um incremento de massa seca no biótipo suscetível e aumento dos níveis de aminoácidos aromáticos nos dois biótipos aos 5 DAA.

Palavras-chave: ácido aminometilfosfônico, fenilalanina, tirosina, triptofano.

INTRODUÇÃO

O uso do sistema de plantio direto em culturas anuais vem aumentando a cada dia e adoção desta prática pelos agricultores só foi possível graças ao desenvolvimento de herbicidas, dos quais o glyphosate é sem dúvida, o mais importante e o mais utilizado não apenas neste sistema de plantio como também em culturas perenes. Porém o uso excessivo e indiscriminado deste herbicida ao longo dos anos propiciou o desenvolvimento de plantas daninhas resistentes ao glyphosate como o Azevém (*Lolium multiflorum*) tendo como consequências a inviabilização do produto, necessidades de reaplicações, aumento de doses do herbicida, maior impacto ambiental entre outros fatores. Cada espécie, neste caso o Azevém, que adquire resistência possui um perfil metabólico diferenciado em relação aos

outros biótipos podendo essa modificação ser vantajosa ou não no processo competitivo. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi comparar os níveis de glyphosate, AMPA e dos três aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) em plantas de azevém suscetíveis e com suspeita de resistência a glyphosate após a aplicação de doses do herbicida.

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. Foram semeados biótipos de Azevém (*Lolium multiflorum*) resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate em vasos com capacidade de 1 litro em substrato Bioplant (material orgânico de origem vegetal). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 8 tratamentos (0 g.e.a. (0%), 135 g e.a. ha⁻¹ (12,5%), 270 g e.a. ha⁻¹ (25%), 540 g e.a. ha⁻¹ (50%), 1080 g e.a. ha⁻¹ (100%), 2160 g e.a. ha⁻¹ (200%), g e.a. ha⁻¹ (400%), 8640 g e.a. ha⁻¹ (800%) de glyphosate sendo que a dose de 100% foi considerada a dose recomendada e quatro repetições. A aplicação do glyphosate foi realizada aos 42 dias após a semeadura onde se utilizou um pulverizador estacionário, pertencente ao NUPAM. Foram feitas coletas aos 5 dias após a aplicação (DAA), e 28 DAA onde foram coletadas todas as folhas de todas as plantas de cada vaso. As folhas foram lavadas três vezes com 150 ml de água em um recipiente plástico para total remoção dos resíduos do glyphosate que permaneceram sobre a cutícula das folhas. Após a lavagem, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 45°C (para não ocorrer a degradação dos compostos), por um período de 72 horas, até que o material vegetal estivesse totalmente seco. A extração dos compostos das amostras foi realizada de acordo com metodologia proposta por Matallo (2009) e adaptada por Gomes (2011), e a quantificação foi realizada por um sistema LC-MS/MS (GOMES, 2011). Os compostos analisados foram: glyphosate, AMPA, fenilalanina, tirosina e triptofano. Aos 40 DAA foi realizada a coleta das plantas, que foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar até atingir peso constante e então a massa seca foi pesada em balança de precisão (0,0001g).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os dados de massa seca de plantas de azevém suscetíveis e com suspeita de resistência aos 40 DAA. Houve um acúmulo de massa seca nas plantas suscetíveis submetidas à dose de 12,5% de glyphosate. Este mesmo comportamento não foi observado no outro biótipo. A dose de 100% de glyphosate foi

suficiente para inibir o acúmulo de massa seca no biótipo suscetível, mas não foi suficiente para reduzir a massa seca do biótipo resistente.

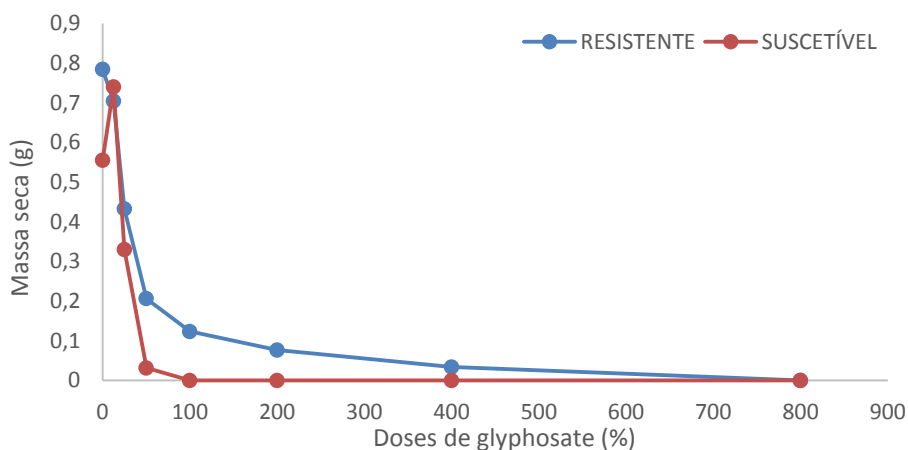


Figura 1. Massa seca de plantas de azevém resistente e suscetível após a aplicação de doses de glyphosate aos 40 DAA.

Os níveis de glyphosate e AMPA nas folhas do azevém aos 5DAA estão apresentados na Figura 2. Aos 28 DAA não foram identificados esses dois compostos nos tecidos das plantas. A concentração de glyphosate e AMPA nas folhas foi crescente de acordo com as doses de glyphosate aplicadas. A presença de AMPA nos tecidos das folhas sugere uma metabolização do glyphosate. É possível que os níveis de AMPA encontrados ocorram pela absorção do metabólito presente na superfície das folhas, decorrente da degradação microbiana do glyphosate ou que a glyphosate oxidoreductase (GOX) ou um tipo de enzima similar, catalise esta reação de conversão (Reddy et al., 2008; Reddy et al., 2004)

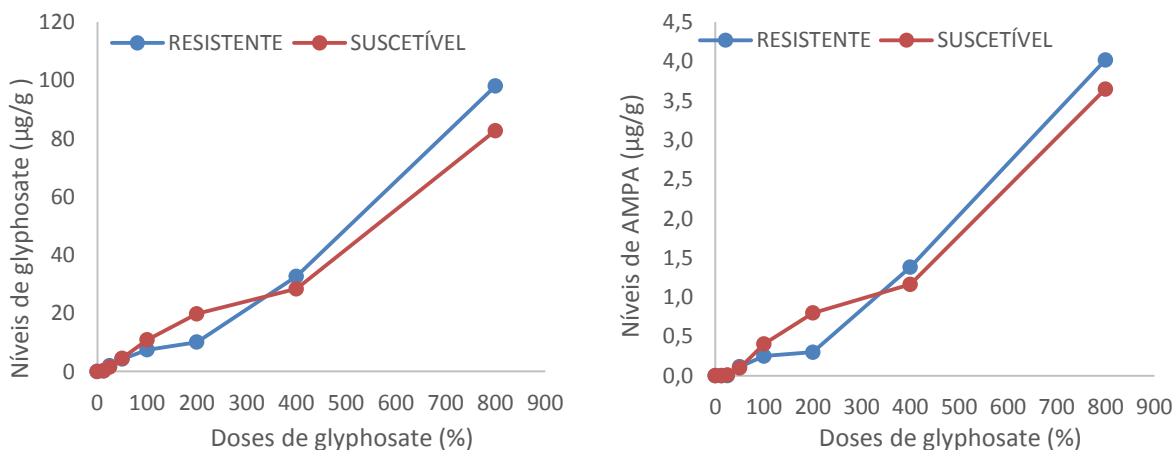


Figura 2. Níveis de glyphosate ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (A) e AMPA ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (B) em plantas de azevém suscetível e resistente após a aplicação de doses de glyphosate aos 5 DAA.

Os níveis dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) aumentaram nos dois biótipos (R e S) após a aplicação da dose de 12,5% de glyphosate aos 5 DAA, mesmo comportamento que ocorreu no acúmulo de massa seca do biótipo suscetível. A partir desta dose houve redução nos níveis dos três aminoácidos com o aumento da dose de glyphosate, devido ao bloqueio da rota do ácido chiquímico e consequente redução na produção destes compostos. Aos 28 DAA as plantas do biótipo suscetível não possuíam massa verde para determinação dos compostos a partir da aplicação da dose de 12,5%, já para o biótipo resistente houve rebrota das plantas que foram submetidas até a dose de 100% do glyphosate. Nesse período ocorreu também um pequeno aumento nos níveis dos aminoácidos no biótipo resistente submetido à aplicação da dose de 12,5% de glyphosate.

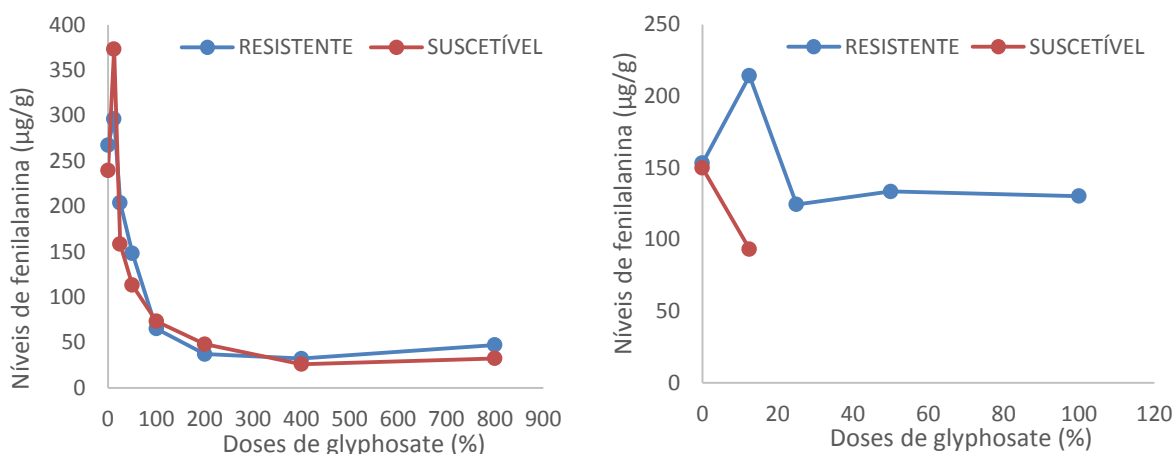


Figura 3. Níveis de fenilalanina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em plantas de azevém suscetível e resistente após a aplicação de doses de glyphosate aos 5 DAA (A) e 28 DAA (B).

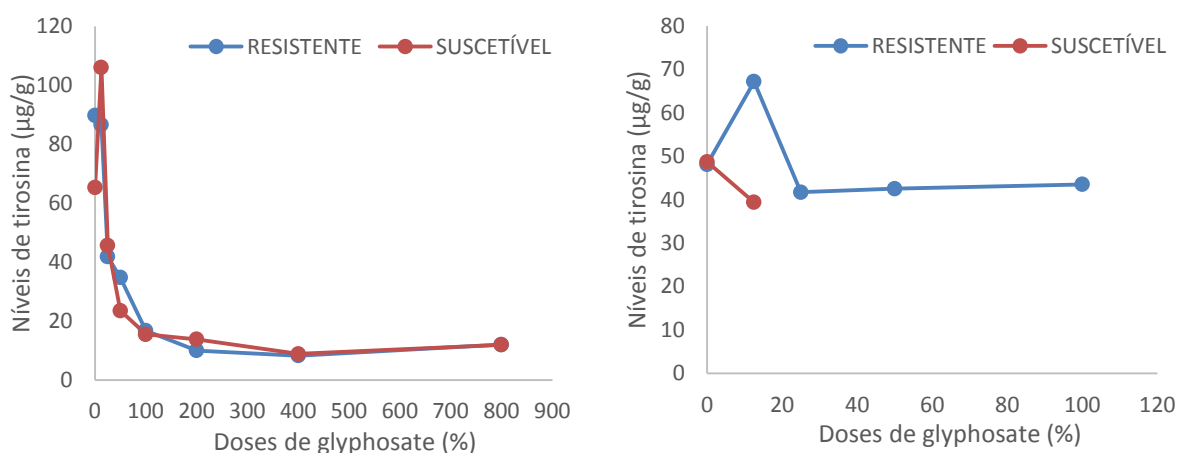


Figura 4. Níveis de tirosina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em plantas de azevém suscetível e resistente após a aplicação de doses de glyphosate aos 5 DAA (A) e 28 DAA (B).

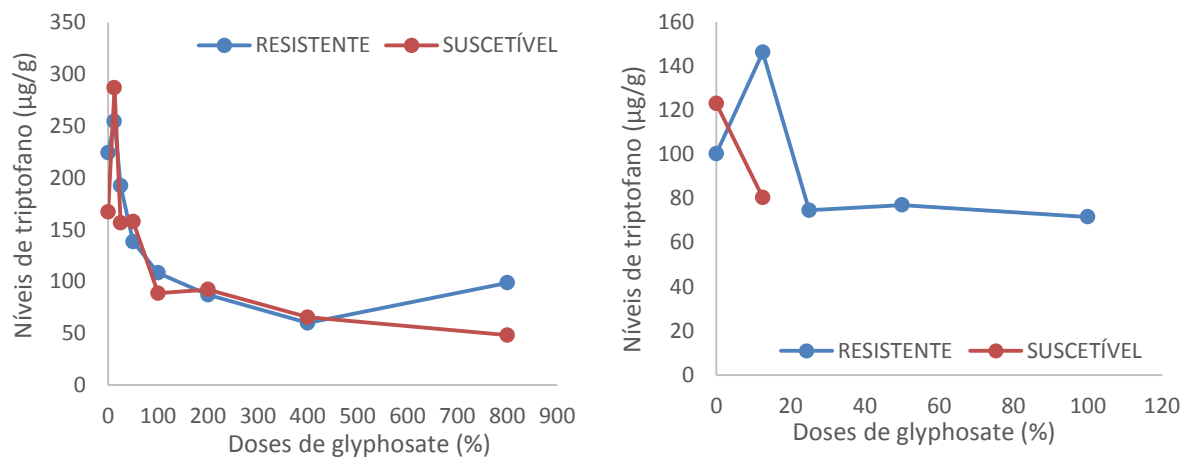


Figura 5. Níveis de triptofano ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em plantas de azevém suscetível e resistente após a aplicação de doses de glyphosate aos 5 DAA (A) e 28 DAA (B).

CONCLUSÕES

Não houve diferenças nos níveis e metabolismo do glyphosate pelos biótipos suscetível e resistente, assim como nos níveis dos aminoácidos aromáticos. A dose de 12,5% de glyphosate ocasionou um incremento de massa seca no biótipo suscetível e aumento dos níveis de aminoácidos aromáticos nos dois biótipos aos 5 DAA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GOMES, G. L. G. C. **Alterações metabólicas de plantas de milho submetidas à aplicação de glyphosate e fosfito**. 2011. 97p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- MATALLO, M. B. et al. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, p. 987-994, 2009. Número especial.
- REDDY, K. N. et al. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, p. 2125-2130, 2008.
- REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 52, p. 5139-5143, 2004.