

3 B.23 - EFEITO DA TEMPERATURA NA RESPOSTA DE PLÂNTULAS DE SOJA TRANSGÊNICA A APLICAÇÕES DE GLIFOSATO

M.B. Matallo□D.A.S. Franco□M.A.M. Moura□S.B.D. Almeida□F.M.G. Blanco □A.L. Cerdeira□R. Moraes□S.O. Duke⁴ e D. Gazziero⁵

□Instituto Biológico - Rodovia Heitor Penteado km 3,5 - Campinas - SP, Brasil.

E-mail: matallo@biológico.sp.gov.br

□Embrapa Meio Ambiente - Rodovia SP 340 - Km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna - SP - Brasil.

□National Center for Natural Products Research, The University of Mississippi, University, MS, 38655, USA.

⁴ United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Natural Products Utilization Research Unit, P. O. Box 8048, University, MS 38677, USA.

⁵ Embrapa Soja- Rod. Carlos João Strass - Distrito de Warta - Caixa Postal 231 - Londrina- Paraná- Brasil

Resumo: O trabalho teve como objetivo verificar, através da acumulação do ácido chiquímico, a influência da temperatura (15, 25 ou 35 °C) na resposta de plântulas de soja cv M7908 RR e M8045 RR a aplicações de 1200 e 2400 g s.a.ha⁻¹ de glifosato. Imediatamente antes da aplicação do herbicida e aos 1, 3 e 7 dias após a pulverização, as folhas foram colhidas, secas, maceradas e extraídas com água acidificada (pH 2,0) em forno microondas e filtradas (45 µ). O filtrado foi injetado em cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) com detector de diodos em cadeia. O ensaio foi instalado no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Vestígios de ácido chiquímico foram detectados nas plântulas mantidas a 15 e 25 °C. A 35 °C houve uma variação de 341% e 358,7% nos teores de ácido chiquímico detectados respectivamente nas plantas das cvs Monsoy 7904 e Monsoy 8045RR em relação ao teor endógeno das plantas testemunha. Conclui-se que a temperaturas elevadas, pode ocorrer maior translocação do glifosato para áreas meristemáticas mais novas, resultando numa menor expressão do gene promotor da enzima EPSPS com a consequente acumulação do ácido chiquímico.

Palavras - chave: estresse de calor; Roundup Ready; ácido chiquímico

INTRODUÇÃO

A soja é a cultura transgênica mais cultivada em todo mundo (CERDEIRA et. al, 2007). O descobrimento do gene CP4, proveniente da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* cepa CP4, codificando a proteína CP4 EPSP (5-enolpiruvil-siquimato-3-fosfato sintetase) nas plantas de soja, conferiu tolerância ao herbicida glifosato cujo mecanismo de ação inibe a enzima EPSP, essencial na via do ácido chiquímico, acarretando uma acumulação desse ácido (PLINE et. al., 2002).

A temperatura pode afetar a eficiência de alguns herbicidas alterando tanto o seu metabolismo como a sua absorção e translocação para os sítios de ação (PLINE et. al., 1999). O estresse térmico causado por altas temperaturas induziu a lesões significativas na soja RR cultivada no campo (GERTZ & VENCILL, 1999 citados por PLINE et. al., 1999). PLINE et. al. (1999)

observaram que a lesão causada pelo glifosato à soja RR mantida a 35°C pode ter sido decorrente do aumento na translocação desse herbicida para novas regiões meristemáticas como resultado de seu efeito secundário.

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da temperatura na resposta de plântulas de soja RR tratadas com glifosato, determinada pela concentração do ácido chiquímico quantificado por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE),.

MATERIAIS E MÉTODOS

Duas variedades de soja transgênica, Monsoy 7908 e Monsoy 8045, foram cultivadas. No estágio V1, as plântulas foram transferidas para caixas de hidroponia até atingirem o estágio V2. Nesse ponto, as caixas foram colocadas em um fitotron durante 3 dias para aclimação às temperaturas estudadas de 15, 25 e 35 °C, com fotoperíodo de 14 horas, iluminância de 26,66 Lx e umidade relativa de 75%. Posteriormente, as plântulas foram tratadas com glifosato nas doses de 1200 e 2400 g de substância activa (s.a.) ha⁻¹ de equivalente ácido 64,8% p/v de sal de isopropilamino (Roundup Ready). Imediatamente antes da aplicação e 1, 3 e 7 dias, as folhas foram colhidas, secas, maceradas e extraídas com água acidificada (pH 2,0) em forno microondas. O filtrado foi injetado num cromatógrafo líquido de alta resolução com detector de diodos em cadeia de acordo com a metodologia descrita por MATALLO *et. al.* (2007). Durante todo o transcorrer do experimento o nível da solução nutritiva das caixas de hidroponia foi completado diariamente conforme a necessidade. A composição básica para 1000 L desta solução foi a seguinte: CaNO₃ (750 g), K₂NO₃ (500g), Mg₂SO₄ (400g), KHPO₄ (180 g), Fe quelatizado (250 mL), B, Cu, Mn, Mo e Zn (100 mL). O ensaio foi instalado no delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e três repetições, incluindo uma testemunha sem aplicação do herbicida em cada época de amostragem para caracterizar o nível de ácido chiquímico endógeno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta fisiológica até 7 dias após aplicação de glifosato na soja transgênica mantida a 15 e 25 °C, indicada pela acumulação do ácido chiquímico, mostrou-se independente tanto da temperatura como da cultivar. Nessas temperaturas somente vestígios de ácido chiquímico foram detectados tanto na cv. Monsoy 790 como na cv. M 8045RR, independentemente da dose de glifosato aplicada e da época de amostragem. Vestígios de ácido chiquímico também foram detectados nas plantas testemunha.

Por outro lado, a 35 °C observou-se uma tendência generalizada de acumulação de ácido chiquímico endógeno nas plantas testemunha de ambos cultivares ao longo dos períodos de amostragem (Figura 1). O comportamento das plantas tratadas com glifosato também seguiu essa mesma tendência, com incrementos máximos no teor de ácido chiquímico da ordem de 341,0 % e 358,7% respectivamente para as cvs M7904RR e M8045RR, com relação ao teor endógeno observado nas plantas testemunha. Esses resultados podem estar relacionados com a maior translocação do glifosato para as regiões meristemáticas mais novas das plantas de soja RR sob altas temperaturas. Nessas condições, além da produção da enzima EPSP ser menor, seu gene promotor pode não se expressar eficientemente nos tecidos meristemáticos (PLINE *et al.*, 1999).

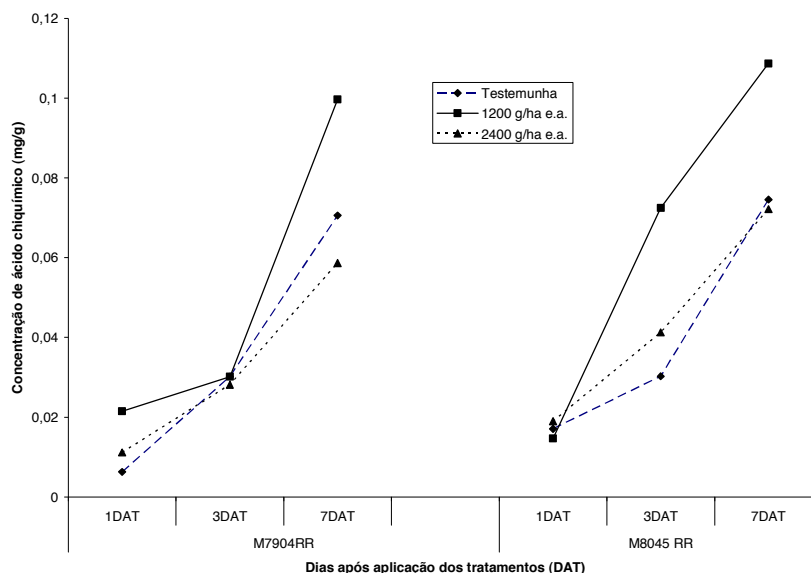


Figura 1: Concentração de ácido chiquímico (mg g^{-1}) em diferentes dias após aplicação de glifosato (DAT) nas plântulas de soja cvs. Monsoy 7904 e Monsoy 8045 a 35 °C.

CONCLUSÕES

A temperatura de 35 °C afetou o metabolismo da soja transgênica provocando acumulação do ácido chiquímico endógeno das plantas, mais evidenciado naquelas tratadas com glifosato. Temperaturas de 15 e 25 °C não influíram no teor endógeno de ácido chiquímico de ambas variedades. Fatores ambientais como altas temperaturas podem influir na resposta de variedades transgênicas ao glifosato.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo pelo suporte financeiro para a realização desse trabalho através do processo 2007/00899-2.

BIBLIOGRAFIA

- CERDEIRA, A.L.; GAZZIERO, D.L.P.; DIKE, S.O.; MATALLO, M.B.; SADOTTO, C.A. (2007). Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. *Journal of Environmental Science and Health Part (B)*, 42, 539 - 549.
- MATALLO, M.B.; FRANCO, D.A.S.; ALMEIDA, S.D.B.; CERDEIRA, A. I.; LACERDA, A.L.S. (2007). Monitoramento do ácido chiquímico em plantas de citros sob diferentes sistemas de manejo de plantas daninhas. *In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GYPHOSATE*. Botucatu, SP. Resumos, p. 61-64.
- PLINE, W.A.; WU, J.; HATZIOS, K.K. (1999). Effects of Temperature and Chemical Additives on the Response of Transgenic Herbicide-Resistant Soybeans to Glufosinate and Glyphosate Applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65, 119-131.

PLINE, W.A.; WILCUT, J.W.; DIKE, S.O.; EDMINSTEN, K.E.; WELLS, R. (2002). Tolerance and Accumulation of Shikimic Acid in Glyphosate-Resistant and Nonglyphosate-Resistant Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). J. Agric. Food Chem. 50, 506-512.

Summary: Effects of Temperature on the Response of Transgenic Herbicide-Resistant Soybeans to Glyphosate Applications. This study was conducted to evaluate glyphosate toxicity to glyphosate resistant soybean, with shikimic acid accumulation as indicator. The glyphosate resistant varieties Monsoy 7908 e Monsoy 8045 were grown hydroponically in a phytotron with 75% humidity and temperatures of 15, 25, and 35 °C. The statistical design was a completely randomized block with three repetitions. Plants were treated with glyphosate at rates of 1.2 and 2.4 kg.ha⁻¹ a.e. when they reached the V2 stage. Leaves were collected at 0, 1, 3, and 7 days after the application, dried, ground, and shikimic acid was extracted in acidic water (pH 2.0) with a microwave oven. The extracts were submitted to HPLC analyses with a diode array detector, using the isocratic mode with a mobile phase of acidic water: methanol (95:5). Only traces of shikimic acid were detected in plants grown at 15 or 25 °C. At the higher temperature of 35 °C, shikimic acid levels varied from 341% and 358,7%. These data have shown that the temperature could affect the response of glyphosate resistant soybean to glyphosate based upon the shikimic acid content. At 35 °C there was an increase on shikimic acid content for all the treatments suggesting that temperature stress had a higher effect than glyphosate.

Key words: Heat stress, shikimic acid, Roundup Ready