

TRANSLOCAÇÃO DO GLYPHOSATE EM BIÓTIPOS DE BUVA. Evander Alves Ferreira¹; Antonio Alberto da Silva¹; Juraci Alves de Oliveira²; Leandro Vargas³; Alexandre Ferreira da Silva¹; Germani Concenção¹; Ignacio Aspiazú¹; Lendro Galon¹; André França Cabral¹; Samuel José Sant'Anna⁴. ¹UFV-DFT, Campus Universitário, 36570-000, Viçosa, MG. ²UFV-DBG. ³EMBRAPA TRIGO - Passo Fundo-RS. ⁴Estudante de Agronomia-UFV.

RESUMO- Objetivou-se com este trabalho avaliar a translocação do glyphosate em plantas de *C. bonariensis* resistentes e suscetíveis a esse herbicida. Para isso, aplicou-se o ¹⁴C-glyphosate em mistura com glyphosate comercial (800 g ha⁻¹) sobre o centro da face adaxial da folha do terceiro nó, utilizando-se uma microseringa, adicionando-se 10 µL da calda com atividade específica de 1.400 Bq, aos 45 dias após emergência da buva. A concentração de glyphosate translocado na planta foi avaliada em intervalos de tempo de 6, 12, 36 e 72 horas após aplicação, na folha de aplicação, caule, raízes e folhas. Dez horas após aplicação dos tratamentos (HAT), avaliou-se também a distribuição do produto na folha de aplicação, dividida em base, centro e ápice. As avaliações foram realizadas por meio da medição da radiação emitida pelo ¹⁴C-glyphosate, em espectrômetro de cintilação líquida. Maior retenção de glyphosate foi observada na folha tratada do biótipo resistente, aproximadamente 90% do total absorvido até as 72 horas. No biótipo suscetível esse valor foi de cerca de 70%, no mesmo período. Nas folhas, no caule e nas raízes, a maior concentração do glyphosate absorvido foi encontrada no biótipo suscetível, indicando maior eficiência de translocação neste biótipo. No biótipo resistente, o herbicida se acumulou em maior quantidade no ápice e no centro da folha de aplicação e, no suscetível, observou-se maior acúmulo na base e no centro da mesma folha. Dessa forma, pode-se afirmar que o mecanismo de resistência está relacionado à translocação diferencial deste herbicida nos biótipos.

Palavras-chave: herbicidas, radioquímico, resistência, translocação, órgãos da planta.

GLYPHOSATE TRANSLOCATION IN HORSEWEED BIOTYPES

ABSTRACT- The objective of this work was to evaluate translocation of glyphosate in resistant and susceptible to that herbicide *C. bonariensis* plants. The ¹⁴C-glyphosate was applied in a mixture with the commercial dose (800 g ha⁻¹) over the center of the adaxial face of a leaf coming from the plant third knot, using a microsyringe, adding 10 µL of a solution with specific activity of 1,400 Bq, 45 days after the plants emerged. The translocated glyphosate concentration in the plant was evaluated in time intervals of 6, 12, 36 and 72 hours after application, in the application leaf, in the stem, in the roots and in the leaves. Ten hours after treatment application, the distribution of the product in the

application leaf, divided in base, center and apex, was also evaluated. The evaluations were made by measuring the radiation emitted by ^{14}C -glyphosate in a liquid scintillation spectrometer. Greater glyphosate retention was observed in the resistant biotype leaf, approximately 90% of the total absorbed until 72 hours. In the susceptible biotype, this value was close to 70%, in the same period. Susceptible biotype leaves, stem and roots showed greater concentration of glyphosate, indicating greater translocation efficiency in this biotype. In the resistant biotype, the herbicide was accumulated in greater quantity at the apex and at the center of the application leaf, while in the susceptible biotype it was observed greater accumulation at the base and at the center of the same leaf. This way, it can be affirmed that the resistance mechanism is related to the differential translocation of this herbicide in the biotypes.

Keywords: herbicides, radiochemical, resistance, translocation, plant organs.

INTRODUÇÃO

O herbicida glyphosate pertence ao grupo químico dos inibidores da síntese de aminoácidos e contém o N-(phosphonomethyl) glycina como ingrediente ativo (Bridges, 2003). Após sua absorção pelas plantas, é prontamente translocado, junto com fotossintatos, dos pontos de aplicação situados nas folhas até drenos distantes. Em plantas sensíveis, o glyphosate atua inibindo a atividade da enzima plastídica 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), responsável pela reação que condensa shiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato em 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato (EPSP) e fosfato inorgânico (Pi), na etapa pré-corismato da rota do shiquimato (Shaner & Bridges, 2003).

O glyphosate vem sendo usado intensivamente na agricultura mundial há aproximadamente 30 anos, sendo na atualidade o herbicida mais comercializado no mundo. Em consequência desse uso às vezes abusivo (várias aplicações numa mesma safra), atualmente 11 espécies de plantas daninhas (*Amaranthus palmeri*, *Amaranthus hybridus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Eteusine indica*, *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis*, *Lolium muftiflorum*, *Euphorbia heterophylla*, *Sorghum halepense* e *Plantago lanceolata*) já desenvolveram a resistência em alguns de seus biótipos (Weed Science, 2007). A buva (*Conyza bonanensis*) é originária dos Estados Unidos (Weaver et al., 2001), pertencente à família Asteraceae, com ciclo de desenvolvimento anual. É uma espécie extremamente prolífica, podendo produzir até 200.000 sementes viáveis por planta, estabelecendo-se em diversas condições climáticas. São plantas que apresentam boa adaptabilidade em sistemas considerados conservacionistas de solo, como: plantio direto, cultivo mínimo e áreas de fruticultura (Bhowmik & Bekech, 1993). Sabe-se que, quando

absorvido, o herbicida deve ser translocado pelos tecidos vasculares para os sítios-alvo, onde o produto vai exercer sua atividade herbicida (Satichivi et al., 2000). A translocação representa um processo essencial para a eficácia do herbicida (Wanamarta & Penner, 1989). O glyphosate se movimenta no floema seguindo a rota dos produtos da fotossíntese, das folhas fotossinteticamente ativas (fonte) em direção às partes das plantas em crescimento (dreno), para a manutenção do metabolismo e/ou formação de produto de reserva, das raízes, dos tubérculos, das folhas jovens e de zonas meristemáticas (Hetherington et al., 1998). Assim, mudanças na absorção, na translocação e no metabolismo do herbicida podem afetar a sensibilidade de uma planta, pois este precisa atingir o sítio de ação em uma concentração adequada. Objetivou-se com este trabalho avaliar a translocação do glyphosate em plantas de *C. bonariensis* resistentes e suscetíveis a este herbicida, visando elucidar parte do mecanismo de resistência do biótipo, bem como desenvolver técnicas para o manejo dessa espécie em lavouras onde o glyphosate perdeu a eficiência de controle da invasora.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho, foram cultivados biótipos resistentes e suscetíveis de buva (*Conyza bonariensis*) em vasos contendo 200 mL de substrato, composto de solo e areia lavada na proporção de 3:1 e adubado. O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em câmara de crescimento, com temperatura dia/noite de 25/21 °C, respectivamente, e fotoperíodo de 12 horas de luz. Aos 45 dias após a emergência da buva, o ^{14}C -glyphosate foi aplicado em mistura com glyphosate comercial (800 g ha^{-1}) sobre o centro da face adaxial da folha do terceiro nó, utilizando-se uma microseringa, adicionando-se 10 μL da calda com atividade específica de, aproximadamente, 1.400 Bq. A avaliação da translocação do ^{14}C -glyphosate em biótipos resistente e suscetível foi feita em diferentes intervalos de tempo (6, 12, 36, 72 horas após o tratamento com o produto). Após cada período de exposição, as plantas foram coletadas e fracionadas em folha de aplicação, caule, folhas e raízes. Dez horas após o tratamento com o ^{14}C -glyphosate, folhas de aplicação do herbicida foram divididas em três partes (base, centro e ápice). Todo o material vegetal foi seco em estufa a 50 °C, por 48 horas, para obtenção da massa seca de cada componente. Em seguida, procedeu-se à moagem de cada componente em "moinho de IG", até uma textura equivalente a 200 mesh. Depois disso, amostras de 100 mg de massa seca de cada componente da planta (folha de aplicação, caule, folhas e raízes) foram adicionadas em frascos de 20 mL, para contagem. Elas foram homogeneizadas com 1 mL de Triton-X-100 por 14 segundos em vortex, adicionando, em seguida, 5 mL de coquetel de cintilação, sendo novamente

submetidas à homogeneização Os frascos assim preparados foram colocados em espectrômetro de cintilação líquida Beckman 6500, o qual corrigia o "quenching" automaticamente. Os valores da radiação do ^{14}C -glyphosate na planta foram convertidos em porcentagem em relação ao total nela presente, distribuídos na folha tratada, caule, folhas e raízes; os valores contidos na folha de aplicação foram transformados em porcentagem em relação ao total contido nesta folha, distribuídos em ápice, centro e base. Os resultados obtidos foram apresentados em gráficos, utilizando-se médias observadas e desvios-padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se maior acúmulo de glyphosate na folha de aplicação do biótipo resistente em relação ao suscetível em todos os intervalos de tempo avaliados. Setenta e duas horas após aplicação dos tratamentos (HAT), aproximadamente 90% do glyphosate permaneceu na folha de aplicação do biótipo resistente e no biótipo suscetível este valor foi cerca de 69% (Figura 1A). Feng et al. (2004), Koger et al. (2005) e Dinelli et al. (2006), trabalhando com biótipos de *Conyza canadensis* resistente e suscetível ao glyphosate, constataram maior retenção do produto nas folhas de aplicação do biótipo resistente. Ferreira et al. (2006) verificaram que no biótipo resistente de *Lolium multiflorum*, após 64 horas depois da aplicação do produto, aproximadamente 81,64% do total absorvido encontrava-se retido na folha onde foi realizada a aplicação do ^{14}C -glyphosate, enquanto no biótipo sensível a retenção foi de 54,66% Maior retenção de glyphosate na folha de biótipo resistente de *Lolium rigidum* também foi relatada por Lorraine-Colwill et al (2003). O glyphosate é um dos poucos herbicidas que transpõem a membrana plasmática por meio de um carregador protéico. Os carregadores de fosfato, contidos na plasmalema, são capazes de se ligar às moléculas desse herbicida e transportá-las para o citoplasma (Dennis & Deltorot, 1993) De modo geral, ocorre grande retenção do glyphosate nas folhas que receberam o tratamento; provavelmente, esse fato se deve à ação do produto, que interrompe o ciclo do carbono no cloroplasto, causando redução na síntese de carboidratos, diminuindo o transporte destes para os drenos e, conseqüentemente, diminuindo o transporte de glyphosate (McAllister & Haberlie, 1985; Satchivi et al., 2000). O movimento do glyphosate está associado aos carboidratos que governam a distribuição do herbicida na planta, pois ocorre maior acúmulo desse herbicida nos ápices e em raízes (McAllister e-IHaberlie, 1985).

Às 6 HAT, observou-se que aproximadamente 8% do produto aplicado se encontrava no caule das plantas do biótipo suscetível. Às 72 HAT, esse valor chegou a cerca de 16%. No biótipo resistente, a translocação do herbicida marcado apresentou valores próximos a 2% em todos os intervalos de tempo estudados (Figura 1B). Depois de 6 HAT, cerca de 7% do

¹⁴C-glyphosate absorvido pela folha de aplicação se encontrava nas demais folhas do biótipo suscetível; esse valor reduziu às 12 e 36 HAT para aproximadamente 4%, voltando a se elevar após 72 HAT (Figura 3). Essa variação na concentração de produto presente nas folhas com o passar do tempo pode estar relacionada à retranslocação do herbicida para outras partes da planta. No biótipo resistente, a concentração do produto marcado não ultrapassou os 2% durante todos os intervalos de tempo avaliados (Figura 1C). Esses resultados evidenciam maior translocação do glyphosate pelo biótipo suscetível. Ferreira et al. (2006), trabalhando com biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) resistente e suscetível ao glyphosate, constataram a ocorrência de maior acúmulo do produto nas folhas do biótipo suscetível quando comparado com o resistente a partir das 32 HAT. O biótipo suscetível de buva apresentou maior concentração de glyphosate nas raízes já a partir das 6 HAT. A concentração do produto às 6 HAT foi de cerca de 10% no biótipo suscetível e inferior a 2% no biótipo resistente; neste último ocorreu incremento na concentração do produto durante os intervalos de tempo avaliados, ultrapassando 20% às 72 HAT. No biótipo resistente, a concentração do produto não ultrapassou 5% durante as 72 horas de avaliação (Figura 1D). Os resultados indicam que o glyphosate se movimenta muito rápido pela planta e esse movimento está associado às velocidades de transporte de açúcares no floema, que são elevadas e, em geral, podem variar de 0,3 a 1,5 m h⁻¹ (Taiz & Zeiger, 2004). Feng et al. (2004), Koger et al. (2005) e Dinelli et al. (2006) observaram o mesmo comportamento do produto em biótipos de *Conyza canadensis*. Lorraine-Colwill et al. (2003) verificaram, após 48 horas da aplicação do ¹⁴C-glyphosate, acúmulo de 6 e 20% nas raízes de biótipos resistente e suscetível, respectivamente, em plantas de *Lolium rigidum*. Ferreira et al. (2006), trabalhando com biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), constataram que também o biótipo suscetível apresentou maior acúmulo do herbicida durante todos os intervalos de avaliação; às 64 HAT, os valores observados por esses autores foram de cerca de 5 e 30% para os biótipos resistente e suscetível, respectivamente. Ao avaliar o total de glyphosate presente na parte aérea, que consistia no somatório da concentração de produto presente no caule e nas folhas, verificou-se que o biótipo suscetível acumulou cerca de quatro vezes mais herbicida nela do que o resistente às 72 HAT (Figura 1E). No biótipo resistente, a concentração do produto não ultrapassou 5% durante todos os períodos de avaliação. Mais uma vez, os resultados comprovam a maior eficiência do biótipo suscetível em translocar o glyphosate. O total de produto presente na planta consistia no somatório da porcentagem de todo o produto em relação ao absorvido pela folha de aplicação contido nas folhas, caule e raízes (excetuando-se a folha de aplicação). Esta variável indica a quantidade de produto translocado da folha de

aplicação para as demais partes da planta. Ao avaliar a Figura 1F, observou-se que em todos os intervalos a concentração de glyphosate translocado da folha de aplicação para as demais partes da planta pelo biótipo suscetível foi maior que a do resistente. Cerca de 40% do produto absorvido se movimentou para as outras partes da planta no biótipo suscetível às 72 HAT e aproximadamente 9% no resistente, na mesma avaliação. Pode-se que os biótipos de *C. bonariensis* apresentam diferenças marcantes no que se refere à translocação do ^{14}C -glyphosate. Desta forma, pode-se afirmar que o mecanismo de resistência está relacionado à translocação diferencial deste herbicida nos biótipos. Os resultados mostram menor taxa de distribuição do produto no biótipo resistente, no qual se observou maior acúmulo do produto marcado na folha tratada. No biótipo sensível foi constatado maior acúmulo na parte aérea (folhas e caule) e nas raízes.

LITERATURA CITADA

- BHOWMIK, P. C.; BEKECH, M. M. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence and distribution in no-tillage and conventional-tillage corn (*Zea mays*). **Agron.**, v. 1, p. 67-71, 1993.
- DINELLI, G. et al. Physiological and molecular insight on the mechanisms of resistance to glyphosate in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. Biotypes. **Pest. Bioc. and Phys**, v. 86, n.1, P. 30-41, 2006.
- FENG, P. C. C, et al. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, n.52, p.498-505, 2004.
- FERREIRA, E.A. et al. Translocação do glyphosate em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta daninha**, v.24, n.2, p. 365-370, 2006.
- HETHERINGTON, P. et al. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. **J. Exp. Bot.**, v.50, p. 1567-1576, 1998.
- KOGER, H.; REDDY, K.N. Role of absorption and translocation on the mechanism of glyphosate resistance in horserweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, n.53, p.84-89, 2005.
- LORRAINE-COLWILL, D. F. et al. Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. **Pest. Biochem. Physiol.**, v.74, p. 62-72, 2003.
- MCALLISTER, R.; HABERLIE, LL. Translocation of ^{14}C -glyphosate and $^{14}\text{CO}_2$ - Labeled photoassimilates in canada thistle (*Cirsium arvense*). **Weed Sci.**, v.33, p. 153-159, 1985.
- SATICHIVI, N. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Sci.**, v. 48, p. 675-

679,2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. São Paulo: Artmed. 2004. 719p.

WANAMARTA, G. D.; PENNER, D. Foliar absorption of herbicides. **Weed Sci.**, v. 4, p. 215-231, 1989.

WEAVER, S. E. The biology of Canadian weeds, *Conyza canadensis*. **Can. J. Plant Sci.**, v.81, p. 867-875,2001.

WEED SCIENCE - INTERNATIONAL SURVEY OF HERBICIDE RESISTANT WEEDS. Disponível em: <<http://www.weedscience.org/in.asp>>. Acesso em: 17/11/2007.

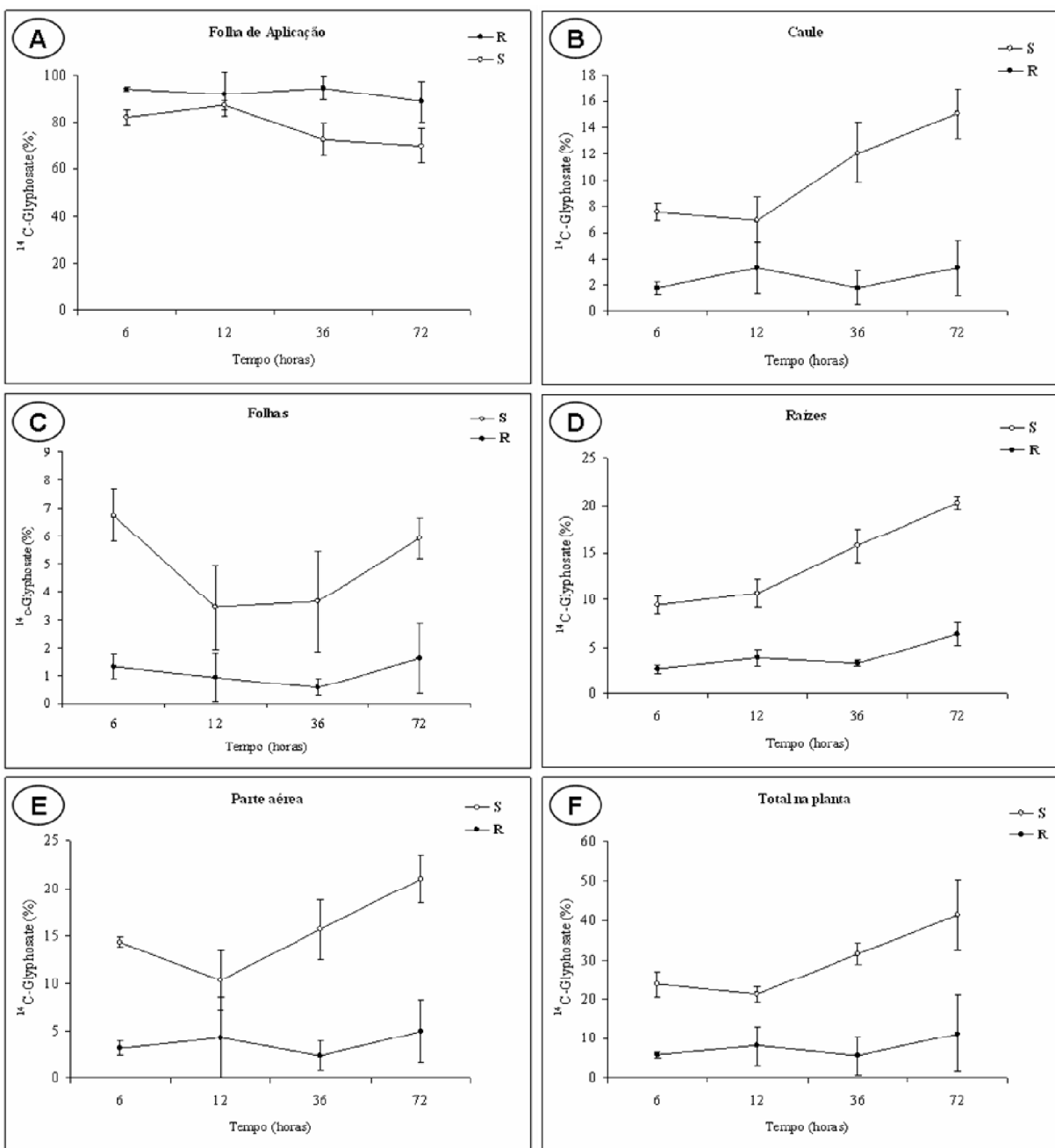


Figura 1. Porcentagem de ^{14}C -glyphosate presente na folha de aplicação, caule, folhas, raízes, parte aérea e total na plantas dos biótipos de *C. bonariensis* resistente (R) e suscetível (S) em relação ao total absorvido pela planta.