



DETERMINAÇÃO DOS ASPECTOS NUTRICIONAIS EM SOJA TRANSGÊNICA EXPOSTA AO GLIFOSATO

ANDRE LUIZ DE SOUZA LACERDA LACERDA¹; SALETE GAZIOLA²; DAIANA SCHMIDT³; RICARDO AZEVEDO⁴, STACY FERLIN⁵, SANDRO ROBERTO BRANCALIAO⁶

Pesquisadores^{1,2,3,4,5} Unicamp, Depto de Química, Campinas, SP; ⁶ Pesquisador V Centro de Cana do IAC, Ribeirão Preto, SP; contato: alslacer@yahoo.com.br e brancaliao@iac.sp.gov.br

RESUMO

Com o aumento das áreas de cultivo da soja transgênica tolerante ao glifosato, esta substância tem se tornado o principal herbicida para esta cultura, seu uso, pode interferir no metabolismo e nos aspectos nutricionais das plantas transgênicas. Neste cenário, o objetivo deste trabalho foi verificar as concentrações de óleo, proteínas e aminoácidos em cultivar de soja tolerante ao glifosato. Para isso foi realizado um experimento em campo utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados. Os tratamentos utilizados foram: glifosato, produto comercial Roundup Ready[®] contendo 480 g.e.a/L de equivalente ácido, aplicados uma única vez nas dosagens de 720 e 960 g.e.a/ha, aplicações sequenciais de glifosato nas dosagens de 720/720; 960/720; 960/720/720 g.e.a/ha e testemunha (sem aplicação de glifosato), ou seja, capinada durante todo o ciclo da cultura. As aplicações únicas de glifosato foram realizadas no estágio fenológico V2. As aplicações sequenciais de glifosato foram realizadas a intervalos de 15 dias, com a soja nos estádios fenológicos V2 e V5 e V2, V5 e V8. Os grãos foram colhidos, macerados e 200 mg de cada amostra foi utilizada para extração dos aminoácidos solúveis segundo o método de Bielecki e Turner (1966). Após a extração, alíquotas em triplicata foram analisadas para determinar aminoácidos solúveis totais conforme descrito por Yemm e Cocking (1955). A leitura em espectrofotômetro foi feita em 570 nm e as concentrações determinadas em relação à curva padrão de leucina. Para determinação quantitativa de aminoácidos livres utilizou-se HPLC fase reversa após derivatização com o-ofitdialdeído (OPA) em coluna Spherisorb ODS-2 (C18). Os derivados OPA foram detectados por fluorescência e os teores de proteína foram determinados pelo método de Kjeldhal e Soxhlet. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste F do programa estatístico ASSISTAT versão 7.7 beta. Para as análises significativas foram realizados à comparação entre médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Palavras-chave: OGM's, soja, teor de óleo, herbicidas

DETERMINATION OF NUTRITIONAL ASPECTS IN SOYBEAN TRANSGENIC EXPOSED TO GLYPHOSATE

ANDRE LACERDA¹; SALETE GAZIOLA²; DAIANA SCHMIDT³; RICARDO AZEVEDO⁴, STACY FERLIN⁵ SANDRO ROBERTO BRANCALIAO⁶



SUMMARY

With the increase in cultivation areas of transgenic soybean tolerant to glyphosate, this substance has become the main herbicide for this crop, its use can interfere with the metabolism and nutritional aspects of GM plants. In this scenario, the objective of this study was to determine the concentrations of oil, protein and amino acids in soybean cultivar tolerant to glyphosate. For this we conducted a field experiment in randomized experimental block design. Treatments consisted of glyphosate, Roundup Ready® commercial product containing 480 g.e.a / L acid equivalent, applied only once in doses of 720 and 960 g.e.a / ha, sequential applications of glyphosate at doses of 720/720; 960/720; 960/720/720 g.e.a / ha and control (without glyphosate application), or weeded throughout the crop cycle. The only glyphosate applications were performed at the phenological stage V2. The glyphosate sequential applications were performed at intervals of 15 days, with soybeans in growth stages V2 and V5 and V2, V5 and V8. The soybeans were harvested, macerated and 200 mg of each sample was used for the extraction of soluble amino acids according to Bielecki method and Turner (1966). After extraction, in triplicate aliquots were analyzed for total soluble amino acids as described by Yemm and Cocking (1955). The spectrophotometric reading was taken at 570 nm and concentrations determined in relation to the standard of leucine curve. For the quantitative determination of free amino acids used to reverse phase HPLC after derivatization with o-phthalaldehyde (OPA) of Spherisorb ODS-2 column (C18). OPA derivatives were detected by fluorescence and protein contents were determined by Kjeldahl and Soxhlet method. The data were submitted to analysis of variance and F test of the statistical program ASSISTAT version 7.7 beta. For significant analyzes were performed to compare the means by Tukey test at 5% probability.

Key-words: MGO's, soybean, oil content, herbicides.

INTRODUÇÃO

O glifosato é um produto não seletivo que controla grande número de plantas de folhas largas e estreitas, pela inibição da EPSP sintetase, enzima que participa na via metabólica da biossíntese de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina e lisina), os quais são essenciais ao crescimento da planta (Jezovsek, 1997). Empresas desenvolveram cultivares de soja geneticamente modificada, onde o gene (CP4) que codifica a enzima EPSPs [5-enolpiruvato-chiquimato-3-fosfato sintase] inibe a ação do glifosato. Desta forma, é possível que a soja tolerante ao glifosato desenvolva mesmo após aplicação do herbicida glifosato (Jezovsek, 1997).

Para entender o que foi realizado, é necessário comentar o modo de ação do glifosato. O glifosato, ingrediente ativo do herbicida Roundup®, (*N-phosphonomethyl-glycine*), se liga e bloqueia a atividade da enzima EPSP (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate) synthase, a qual participa da biossíntese de aminoácidos aromáticos nas plantas. Na ausência do glifosato, a enzima EPSP atua catalizando a reação da S3P (ou, shikimate-3-phosphate), e da PEP (phosphoenolpyruvate), dando condições à produção de EPSP (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate) e fosfato orgânico, que são as substâncias, responsáveis pela síntese de aminoácidos aromáticos. Logo, a presença do glifosato na planta, restringindo a fabricação de aminoácidos aromáticos,



impossibilita a síntese de várias proteínas, fazendo com que a planta paralise o crescimento, tanto do sistema radicular, como da parte aérea.

Quanto aos aspectos nutricionais, Mataveli *et al.* (2010) relataram que sementes de soja transgênicas (T) e não-transgênicas (NT) apresentam concentrações diferentes de Co, Cu, Fe e Sr. As frações bioacessíveis de elementos como o Cu, Fe, Mn, Zn e S são maiores em sementes de soja transgênica.

OBJETIVO

Objetivo deste trabalho foi verificar as concentrações de óleo, proteínas e aminoácidos em cultivar de soja tolerante ao glifosato.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento em campo: este experimento foi realizado no delineamento em blocos casualizados com 6 tratamentos e 4 repetições. O cultivar analisado foi a soja geneticamente modificada BRS Valiosa RR. A semeadura foi realizada no mês de outubro ou novembro no ano agrícola 2006/2007, com densidade de 14 a 16 plantas/metro lineares e espaçamento de 0,5 m entre as linhas. As parcelas experimentais constituíram de 6 linhas de 5 m de comprimento, com 4 repetições. Considerou-se como área útil, as 4 linhas centrais com 4 m de comprimento, desprezando-se 0,5 m das extremidades de cada parcela.

Tratamentos: foram constituídos por glifosato aplicado uma única vez T1 e T2, ou seja, respectivamente nas doses: 1,5 e 2,0L ha⁻¹ do p.c., glifosato aplicado sequencialmente T3, T4 e T5, ou seja, respectivamente nas doses: 1,5/1,5; 2,0/1,5 e 2,0/1,5/1,5 L ha⁻¹ do p.c, com intervalos de 15 a 20 dias entre as aplicações e T6 testemunha capinada no limpo (sem aplicação de glifosato). As aplicações únicas de glifosato foram realizadas no estágio fenológico V2. As aplicações sequenciais de glifosato foram realizadas a intervalos de 15 dias, com a soja nos estádios fenológicos V2 e V5 e V2, V5 e V8.

Aplicação do glifosato: o produto comercial utilizado foi o Roundup Ready® na formulação de 480 g L⁻¹ de equivalente ácido efetuadas entre 15 e 20 dias após emergência das plântulas de soja, ou seja, a partir do estágio fisiológico V₂, quando as bordas das folhas do segundo trifólio não se tocam mais, segundo a classificação de Fehr *et al.* (1971). As aplicações foram feitas sempre na parte da manhã, sem vento para evitar a deriva, com o auxílio de um pulverizador costal de pressão constante (CO₂), regulado para volume de calda de 200 Lha⁻¹ e com bicos tipo leque (110° - SF - 02), seguindo as recomendações dos fabricantes.

Determinação de óleo e proteínas: os teores de proteína em 1,0 g e de óleo em 0,1 g em grãos de soja foram determinados, respectivamente, pelo método de Kjeldhal, tendo como catalisador sulfato de cobre e pelo método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente (Bonato *et al.*, 2000).



Dosagem de aminoácidos solúveis livres totais (ALT): os aminoácidos solúveis foram extraídos segundo o método de Bieleski e Turner(1966), com duas repetições. Foi utilizado 200 mg de farinha fina e homogênea de sementes maduras de cevada com 2 repetições, em 2 mL de MCW (metanol: clorofórmio: água, na proporção 12:5:3). A mistura foi deixada em overnight a 4 °C e centrifugada a 10.0000 g durante 20 minutos. Ao sobrenadante foi adicionado 1mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada para cada 4 mL de MCW utilizado. A amostra foi centrifugada novamente e a fase aquosa formada foi retirada cuidadosamente. A fase coletada foi colocada em banho-maria por 1 h a 38 °C e utilizadas para dosagem de aminoácidos solúveis totais e determinação da composição de aminoácidos solúveis por HPLC de fase reversa (metodologia descrita anteriormente).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de óleo, proteína e aminoácidos encontram-se na Tabela 1.. Comparando as médias entre os níveis de óleo, proteína e aminoácidos totais na soja transgênica exposta e não exposta ao glifosato, constatou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos pela análise de variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 1 – Valores médios do teor de óleo, proteínas e aminoácidos em sementes de soja geneticamente modificada tolerante ao glifosato após expostas a aplicações de glifosato.

Tratamentos	Dose (g.e.a/ha)	Óleo (%)	Proteína (%)	Aminoácidos (nMol/mL)
T1 – Glifosato	720	18.4 a	39.3 a	159.73 a
T2 – Glifosato	960	18.9 a	37.1 a	136.05 a
T3 - Glifosato/glifosato	720/720	18.5 a	39.1 a	175.81 a
T4 - Glifosato/glifosato	960/720	18.4 a	38.1 a	147.42 a
T5 - Glifosato/glifosato/glifosato	960/720/720	18.6 a	38.7 a	127.43 a
T6 – Testemunha	---	18.8 a	38.6 a	136.99 a
DMS		0.89	2.3	51.87
CV (%)		2.0	2.5	26.6

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.



CONCLUSÃO

Comparando as médias entre os níveis de óleo, proteína e aminoácidos totais na soja transgênica exposta e não exposta ao glifosato, constatou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos.

REFERÊNCIAS

- BIELESKI. R.L.; TURNER. N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**. v.17. 278-293. 1966.
- BONATO. R.E; BERTAGNOLLI. P.F.; LANGE.C.E.; RUBIN. S.A.L.R Teor de óleo e de proteína em genótipos de soja desenvolvidos após 1990. **Pesq. Agropec.Bras**. v. 35. n. 12. p. 2391-2398. 2000.
- FEHR. W.E.; CAVINESS.C.E.; BURMOOD. D.T.; PENNINGTON. J.S. Stage of development descriptors for soybeans. *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**. v. 11. p. 929-31. 1971.
- JEZOVSEK, G.K. Uma nova proposta para o controle das ervas daninhas: o uso de plantas transgênicas. In: SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 1, Dourados, 1997. **Simpósio sobre herbicidas e plantas daninhas**. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1997. p.62-74.
- MATAVELI. L.R.V.; POHL. P.; MOUNICOU.S.; ARRUDA. M.A.Z.; SZPUNAR. J. A. Comparative study of element concentrations and binding in transgenic and non-transgenic soybean seeds. **Metallomics**. v.2. p.781–832. 2010.
- YEMM.E.W; COCKING.E.C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**. v.80. p.209-214. 1955.