



ISBN: 978-85-85564-34-6

XI WORKSHOP
AGROENERGIA
Matérias-Primas

2017

27 E 28
JUNHO

Centro de Convenções da Cana - IAC
Ribeirão Preto

DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO CHIQUÍMICO EM DIFERENTES PARTES DE SOJA GENETICAMENTE MODIFICADA

ANDRE LUIZ DE SOUZA LACERDA¹; SIDNEY ALMEIDA²; DANIEL ANDRADE SIQUEIRA FRANCO²; MARCUS BARRIFOUSE MATALLO²; ³SANDRO ROBERTO BRANCALIÃO

RESUMO

O trabalho em casa de vegetação (fitotrom) foi realizado com o objetivo de verificar o acúmulo de ácido chiquímico em soja geneticamente modificada em diferentes estádios fisiológicos e partes da planta. O ensaio foi realizado no Centro Experimental Central do Instituto Biológico em Campinas, SP, no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições.

DETERMINATION OF SHIKIMIC ACID IN DIFFERENT PARTS OF GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN

ANDRE LUIZ DE SOUZA LACERDA¹; SIDNEY ALMEIDA²; DANIEL ANDRADE SIQUEIRA FRANCO²; MARCUS BARRIFOUSE MATALLO²; ³SANDRO ROBERTO BRANCALIÃO

SUMMARY

The work in the greenhouse (fitotrom) was performed in order to verify the shikimic acid accumulation in genetically modified soybeans in different physiological stages and plant parts. The test was performed at the Experimental Center of Central Biological Institute in Campinas, SP, in a completely randomized design (CRD) with three replications.

INTRODUÇÃO

Um dos aspectos importantes na rota do ácido chiquímico é a inibição, pelo herbicida glifosato, da enzima 5-enol-piruvil-shikimato-fosfato sintetase (EPSPs) que é responsável por uma das etapas de síntese da fenilalanina, tirosina e triptofano (Christoffoleti *et al.*, 2003; Cerdeira *et al.*, 1988). O bloqueio da rota do chiquimato devido à ação do glifosato leva ao acúmulo, dentre outros, de altos níveis de ácido chiquímico com muitas implicações fisiológicas e ecológicas (Cole e Cerdeira, 1982). Dentre os efeitos podem ser citados: síntese de ácido indolacético (AIA) e de outros hormônios vegetais, síntese de clorofila, fitoalexinas, lignina, proteínas, fotossíntese, respiração, transpiração e permeabilidade de membranas (Becerril *et al.*, 1989; Lyndon e Duke, 1988; Duke e Hoagland, 1985).

¹Bolsista FAPESP, ²Centro Experimental Central do Instituto Biológico, Campinas, SP. ³Centro de Cana do IAC.



ISBN: 978-85-85564-34-6

XI WORKSHOP
AGROENERGIA
Matérias-Primas

2017

27 E 28
JUNHO

Centro de Convenções da Cana - IAC
Ribeirão Preto

OBJETIVO

O trabalho tem como objetivo verificar o acúmulo de ácido chiquímico em soja geneticamente modificada em diferentes estádios fisiológicos e partes da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes da variedade geneticamente modificada (BRS Valiosa RR) foram semeadas em vasos de polietileno com 30 cm de diâmetro na densidade de cinco plantas/vaso. Após emergência, as plântulas foram desbastadas deixando-se três plantas uniformes por vaso, sendo sub-irrigados constantemente para manter o nível de água no solo próximo à capacidade de campo. A temperatura dentro da casa de vegetação (fitotrom) foi mantida na faixa de 22 a 28 °C (± 3 °C), com 70% UR e fotoperíodo de 12 horas. As plantas foram pulverizadas com doses de 2 L/ha de glifosato do produto comercial Roundup Ready® formulação 480 g e.a/L.

As aplicações foram efetuadas no estádio fisiológico V₁ e V₂, ou seja, quando as bordas das folhas do primeiro e segundo trifólio não se tocavam mais, segundo classificação de Fehr *et al.* (1971). O equipamento de pulverização a ser utilizado foi regulado para volume de calda de 200 L/ha, com pressão de 279 Kpa e ponta tipo Teejet XR 110.02.

Amostras de folhas jovens da soja geneticamente modificada foram coletadas, no período de 24 e 48 horas após aplicação de glifosato, por meio de corte com tesoura no colo da soja no estádio fisiológico V₁ e V₂ e estratificada em ápice e base (A e B) e ápice, mediana e base (A, B e C), respectivamente, para determinação da concentração do ácido chiquímico ($\mu\text{g/g}$).

O método utilizado para extração e análise do ácido chiquímico das folhas de soja foi realizado conforme descrito por Bijay & Dale (1998). As amostras das folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e trituradas na proporção de 1:3 (tecido de folhas/volume de 0,25 N HCl). O extrato foi centrifugado a 25.000 g durante 15 minutos e o sobrenadante, analisado por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). O sobrenadante dos extratos foram centrifugados novamente a 15.000 g por 5 minutos para remover algumas partículas de matéria. Alíquotas de 20 a 50 μL do sobrenadante dos extratos centrifugados foram injetadas num cromatógrafo líquido (Shimadzu, modelo LC 2010).

A fase móvel empregada foi 95 % de acetonitrila, 1% de ácido fosfórico a 3,5 mM e 4% de água destilada, o pH foi ajustado para 2,5, na vazão de 1 mL min⁻¹ e com detecção por UV visível a 210 nm. A coluna utilizada foi a Phenomenex Lichrosorb 5 NH₂ (250 x 4 mm de diâmetro interno). Nessas condições, o tempo de retenção para o ácido chiquímico foi igual à 8 minutos. Entre cada injeção a coluna foi lavada com metanol até um novo equilíbrio ser alcançado. A confirmação da identidade do ácido chiquímico foi realizada pela comparação dos respectivos espectros obtidos por detector em arranjo de diodos (DAD) com o padrão do ácido chiquímico.



ISBN: 978-85-85564-34-6

XI WORKSHOP
AGROENERGIA
Matérias-Primas

2017

27 E 28
JUNHO

Centro de Convenções da Cana - IAC
Ribeirão Preto

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1, encontra-se a concentração de ácido chiquímico ($\mu\text{g/g}$) no estágio fisiológico V_1 e V_2 e estratificada em ápice e base (A e B) e em ápice, mediana e base (A, B e C), respectivamente, determinado 24 h após aplicação de glifosato. Nota-se na figura que os estádios $V1A$ e $V2A$ foram as partes vegetativa (ápice) que acumulou maior concentração de ácido chiquímico.

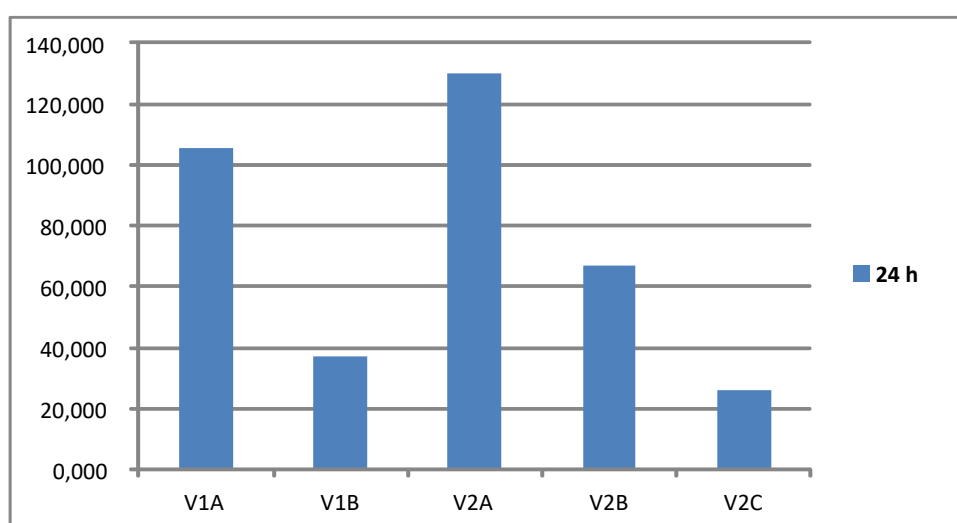


Figura 1 – Concentração de ácido chiquímico ($\mu\text{g/g}$) no estágio fisiológico V_1 e V_2 e estratificada em ápice e base (A e B) e em ápice, mediana e base (A, B e C), respectivamente, determinado 24 h após aplicação de glifosato.

Na Figura 2 encontra-se a concentração de ácido chiquímico ($\mu\text{g/g}$) no estágio fisiológico V_1 e V_2 estratificada em ápice e base (A e B) e em ápice, mediana e base (A, B e C), respectivamente, determinado 48 h após aplicação de glifosato. Nota-se mais uma vez que a concentração de ácido chiquímico concentrou-se mais no ápice (meristema) corroborando com a Figura 1.



ISBN: 978-85-85564-34-6

XI WORKSHOP
AGROENERGIA
Matérias-Primas

2017

27 E 28
JUNHO

Centro de Convenções da Cana - IAC
Ribeirão Preto

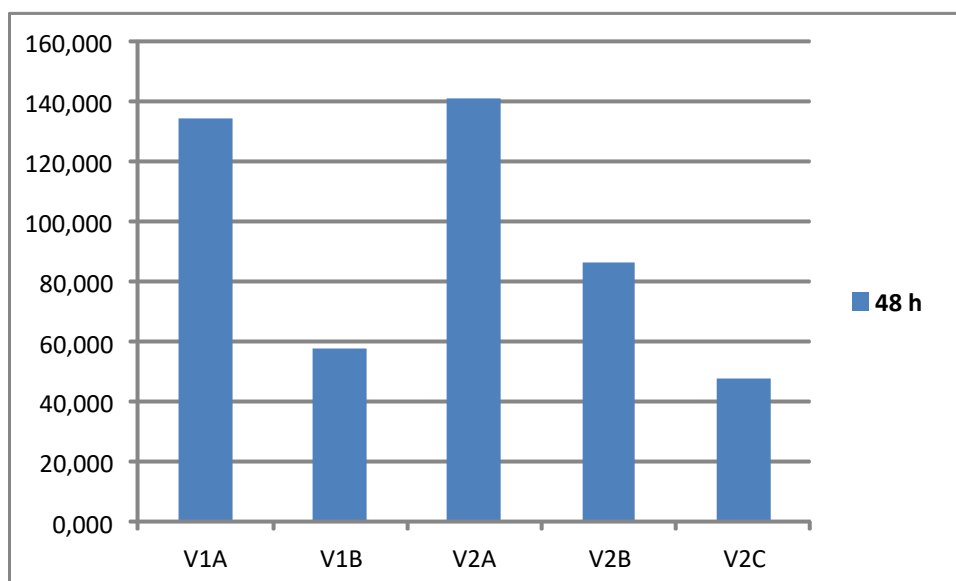


Figura 2 – Concentração de ácido chiquímico ($\mu\text{g/g}$) no estágio fisiológico V_1 e V_2 e estratificada em ápice e base (A e B) e em ápice, mediana e base (A, B e C), respectivamente, determinado 48 h após aplicação de glifosato.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que houve acúmulo de ácido chiquímico nas plantas de soja geneticamente modificada e o acúmulo foi maior nas partes jovens da planta, principalmente no meristema apical.

REFERÊNCIAS

- BECERRIL, J.M.; DUKE, S.O.; LYDON, J. Glyphosate Effects on Shikimate Pathway Products in Leaves and Flowers of Velvetleaf. **Phytochemistry**, v.28, p.695-99, 1989.
- BIJAY, K.S.; DALE, L.S. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate resistant plants. **Weed Technology**, 1998, v.12, n.3, 527-530.
- CERDEIRA, A.L., COLE, A.W., LUTHE, D.S.; KOCH, R.B.. Efeito de glyphosate na atividade de lipoxigenase em semente de caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.23, p.587-591, 1988.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; OVEJERO, R.F.L.; CARVALHO, J.C. Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas. Londrina, Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2003. 90p.
- COLE, A. W., CERDEIRA, A. L. 1982. Southernpea response to glyphosate desiccation. **HortScience**, v.17, p. 244-246.



ISBN: 978-85-85564-34-6

XI WORKSHOP
AGROENERGIA
Matérias-Primas

2017

27 E 28
JUNHO

Centro de Convenções da Cana - IAC
Ribeirão Preto

- DUKE, S.O.; HOAGLAND, R.E. **Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds.** In: The Herbicide Glyphosate. Londres, E. Grossbard e D. Atkinson, p. 75 - 91, 1985.
- FEHR, W.E.; CAVINESS, C.E.; BURMOOD, D.T.; PENNINGTON, J.S. Stage of development descriptons for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, p. 929-31, 1971.
- LYNDON, J.; DUKE, S.O. Glyphosate Induction of Elevated Leves of Hydroxybenzoic Acids in Higher Plants. **Journal Agriculture Food Chemical**, v.36, p. 813 - 18, 1988.