

HERBICIDAS INIBIDORES DA GLUTAMINA SINTETASE**HERBICIDE INHIBITORS GLUTAMINE SYNTHETASEI**

Debora DE O. LATORRE¹

Ilca P. DE F. E SILVA

Josué F. DA S. JUNIOR

Fernando F. PUTTI*

Ana P. SCHIMIDT

Rafael LUDWIG

RESUMO

O amônio glufosinate é um herbicida aplicado em pós-emergência, não seletivo, de baixa translocação e amplo espectro de controle de plantas daninhas. É o único herbicida comercializado no Brasil pertencente aos inibidores da glutamina sintetase (GS). A GS é a enzima responsável por catalisar a formação de glutamina, incorporando uma molécula de amônio no aminoácido glutamato e, sua inibição promove acúmulo de amônia a níveis tóxicos para as plantas. As plantas Liberty Link[®] são constituídas por um gene que codifica a produção da enzima fosfinotricina acetil transferase (PAT), responsável pela acetilação do amônio glufosinate, inativando-o na planta. Nesta revisão, serão abordados aspectos relacionados ao comportamento no solo, absorção e translocação, sintomas do herbicida amônio glufosinate, assim como a tecnologia Liberty Link[®] e casos de resistência.

Palavras-chave: amônio glufosinate, sítio de ação, glutamato.

ABSTRACT

Ammonium glufosinate is a post-emergence, non-selective, low translocation and broad-spectrum herbicide of weeds. It is the only herbicide marketed in Brazil with belong to the enzyme glutamine synthetase (GS) inhibitor group. GS is responsible for catalyzing the synthesis of glutamine, incorporating an ammonium molecule in glutamate amino acid, and its inhibition promotes ammonia accumulation to toxic levels in the plants. Liberty Link[®] plants contain a gene that produces the PAT enzyme, which is responsible for the acetylation of the ammonium glufosinate, inactivating it in plants. In this review, issues regarding

¹ Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP. Rua José Barbosa de Barros, nº 1780, Jd. Paraíso, CEP. 18.610-307 - Botucatu, SP. deboraolatorre@gmail.com.

persistence in the soil, absorption and translocation, ammonium glufosinate symptoms, as well as Liberty Link® technology and resistance cases of weeds will be discussed.

Keywords: ammonium glufosinate, site of action, glutamate

INTRODUÇÃO

O amônio glufosinate é um sal de amônio derivado de uma toxina natural isolada a partir de duas espécies bacterianas: *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygroscopicus* (DUKE; LYDON, 1987). Essas duas espécies bacterianas produzem uma substância com efeito herbicida chamada bialafos, composta por três peptídeos: 2 alaninas e 1 fosfotricina. O bialafos é um pró herbicida, que é degradado em fosfotricina pelas plantas daninhas alvo (DUKE et al., 2000).

Existem duas formulações do amônio glufosinate comercializadas no Brasil: Finale® e Liberty®, sendo Finale® o mais utilizado por apresentar menor classe toxicológica (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2003; ANDREI, 2009). É recomendada sua aplicação em pós emergência das plantas daninhas com jato dirigido em 15 culturas; Em dessecação no sistema de plantio direto, para soja e trigo; e na pós-emergência total do algodoeiro Liberty Link® (MAPA, 2003).

Como principais características físico-química podem-se citar: alta solubilidade em água – $1,37 \cdot 10^6$ mg L⁻¹; comportamento de ácido fraco – pKa < 2,0; Coeficiente de partição N-octanol/água (Kow) < 0,1; baixa pressão de vapor < 0,1 mPa (não volátil) (ARS, 2009).

Em relação a adsorção e lixiviação, é fracamente adsorvido pelos colóides do solo, cada solo apresentando um coeficiente de partição K_{ow}/carbono orgânico (K_{oc}): *Silt loam* – 352, *Silt loam* – 156, *Sand* – 9,6 e *Volcanic ash* – 1229 (ARS, 2009); altamente móvel e lixiviável, contudo não há quantificação de ingrediente ativo em profundidades superiores a 15 cm, devido a rápida degradação pelos microrganismos do solo; meia vida no solo de seis a 40 dias (varia de acordo com os tipos de solo: *Silt loam* - 3,7; *Silt loam* - 8,3; *Loamy sand* - 6,4; *Marchy soil* – 6,6 e *Peat soil* – 10). (ARS, 2009; RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Apresenta em sua composição ammonium 4-[hydroxy(methyl)phosphinoyl]-DL-homoalaninate ou ammonium DL-homoalanin-4-yl(methyl) phosphinate, ou seja, é composto por dois isômeros óticos D e L da. O isômero L- glufosinate atua como um potente inibidor da enzima glutamina sintetase, enquanto o D-glufosinate não mostra atividade herbicida e não é metabolizado pelas plantas (DEVINE et al., 1993; DUKE; LYDON, 1993; RUHLAND et al., 2002; ANDREI, 2009).

Ocorre transaminação no isômero L-glufosinate em plantas não transgênicas, formando um composto intermediário (ácido 2-oxo-4-hydroxymethylphosphinyl butanoico - PPO). O PPO passa por descarboxilação, formando o

metabólito principal (ácido 3-hydroxy-methyl-phosphinyl propanoico – MPP), que é um composto estável nas plantas. Porém ainda pode formar outro metabólito (ácido 2-methylphosphinico acético – MPA). Contudo, o PPO pode ainda ser reduzido por uma rota alternativa a ácido 2-hydroxy-4-hydroxymethylphosphinyl butanoico (MHB), que pode perder uma hidroxila e formar o metabólito ácido 4-hydroxymethylphosphinyl butanoico (MPB) (RUHLAND et al., 2002, 2004; OECD, 2002).

Quando em contato com o solo, ocorre rápida degradação do amônio glufosinate pelos microrganismos em MPP (principal produto da degradação do herbicida) e, eventualmente em dióxido de carbono em condições anaeróbicas e com ausência de luminosidade (TEBBE; REBER, 1988; WSSA, 1994). O MPP não é fitotóxico e nem apresenta atividade herbicida.

Absorção e Translocação

Segundo Schewerdtle et al. (1981) e Anderson et al. (1993), o amônio glufosinate é um herbicida sistêmico, devido sua tendência de translocação às bordas das folhas com a transpiração (via xilema). A absorção ocorre principalmente por folhas, pecíolos e caules e, os danos restritos nos pontos de aplicação. Para a maior parte das espécies de plantas, as maiores concentrações de glufosinate ocorrem 24 horas após a aplicação (HAAS; MÜLLER, 1987; SHELP et al., 1992; BERIAULT et al., 1999; COETZER, et al., 2001; SELLERS et al., 2004).

Alguns fatores podem interferir na velocidade de absorção do amônio

glufosinate, como: redução das atividades metabólicas das plantas por baixas temperaturas (DONN, 1982; LANGELÜDDEKE et al. 1988; MATHIASSEN; KUDSK, 1993), desidratação da cutícula das folhas devido à baixa umidade relativa do ar (ANDERSON, 1993; MATHIASSEN; KUDSK, 1993; PETERSEN; HURLE, 2001), hora da aplicação (SELLERS et al., 2004), ocorrência de chuvas após a aplicação dos tratamentos (LANGELÜDDEKE et al. 1988), redução na radiação fotossinteticamente ativa (KÖCHER, 1983), espécie alvo (MERSEY et al., 1990; MASCHOFF et al., 2000).

Embora apresente alta solubilidade em água, comportamento de ácido fraco e características físico-químicas para se mobilizar no floema e xilema, a translocação do amônio glufosinate é muito reduzida (KLEIER, 1988; MERSEY et al., 1990; SHELP et al., 1992; STECKEL et al., 1997; ROMAN et al., 2007; EVERMAN et al., 2009). De acordo com Everman et al. (2009) menos de 5% do produto foi translocado do ponto de aplicação para as demais partes da planta (raízes, áreas acima e abaixo da folha tratada).

Steckel et al. (1997) encontraram em quatro espécies de plantas daninhas tratadas com glufosinate- C_{14} mais de 88% do ingrediente ativo nas folhas tratadas 72 horas após a aplicação e menos de 11% desse glufosinate- C_{14} foi absorvido e alcançou as raízes de todas as plantas estudadas. Alguns pesquisadores sugerem que a absorção, translocação e metabolização dos herbicidas diferenciam em função da sensibilidade ou tolerância das

espécies de plantas aos herbicidas (RIDLEY; MCNALLY, 1985; WANAMARTA; PENNER, 1989; MERSEY et al., 1990; STECKEL et al. 1997).

Seletividade

O amônio glufosinate é um herbicida de amplo espectro de ação e não apresenta seletividade de modo geral tanto para plantas monocotiledôneas quanto para as dicotiledôneas. Somente em plantas Liberty Link® este herbicida apresenta seletividade, pois o ingrediente ativo é metabolizado em uma substância não tóxica às plantas (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Sintomatologia

Os sintomas ocasionados pelo amônio glufosinate são semelhantes aos ocasionados pelos herbicidas inibidores do fotossistema II (PSII) (clorose, decaimento na taxa de transporte de elétrons), contudo a fotossíntese não é o alvo principal (é um efeito secundário). Plantas tratadas submetidas a ausência de luz apresentam sintomatologia mais reduzida que plantas tratadas expostas à luz (HESS, 2000). De três a cinco dias após a aplicação dos tratamentos, aparecem sintomas de encharcamento nas folhas, evoluindo para clorose, secamento, necrose e morte total da planta em até duas semanas. No caule também podem ocorrer o surgimento de pontos necróticos após os sintomas visuais nas folhas (OLIVEIRA JR., 2011).

Resistência

Segundo Heap (2011), existem duas espécies de plantas daninhas com resistência a este grupo de herbicidas: *Eleusine indica*, confirmada em 2009 na Malásia e *Lolium multiflorum*, confirmada em 2010 no Oregon (EUA) com resistência múltipla (Amônio glufosinate e Glyphosate).

Tecnologia Liberty Link®

Plantas com a tecnologia Liberty Link® apresentam em seu DNA um gene que conferem resistência ao herbicida amônio glufosinate, que atua como inibidor competitivo da enzima glutamina sintetase. Esse gene de resistência é obtido a partir de isolados de duas espécies de bactérias altamente homólogas *Streptomyces hygroscopicus (bar)* e *S. viridochromogenes (pat)*, sendo que ambos expressam a enzima Phosphinothricina Acetyl Transferase (PAT), utilizada como marcador na seleção de plantas transgênicas. Baixos níveis de atividade dessa enzima são necessários para conferir resistência ao herbicida nas culturas (THOMPSON et al., 1987; RASCHE, 1995; VASIL, 1996; WEHRMANN et al., 1996; OECD, 2002).

A enzima PAT promove a acetilação do glufosinate em um composto estável e não tóxico para a planta: o ácido 2-acetamido-4-methylphosphinico-butanóico (N-acetyl-L-glufosinate – NAG) (MULLNER et al., 1993).

Os principais eventos de transgenia com plantas resistentes ao amônio glufosinate são: milho, algodão, soja, arroz, beterraba e canola, sendo somente os três primeiros liberados pela CTNBio no Brasil (COMISSÃO TÉCNICA

NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA, 2010; OECD, 2002).

CONCLUSÕES

O amônio glufosinate apresenta características físico-químicas que facilita sua ampla utilização, da dessecação à aplicação com jato dirigido. Ainda não existem registros de plantas daninhas resistentes a este mecanismo de

ação no Brasil, tornando-se uma alternativa na rotação de moléculas e mecanismo de ação de herbicidas, objetivando reduzir a seleção de biótipos resistentes de plantas daninhas no campo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Programa de Pós-Graduação em

Agronomia da FCA/UNESP/Botucatu pelo suporte científico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, D. M. et al. The influence of soil moisture, simulated rainfall and time of application on the efficacy of glufosinate-ammonium. *Weed Research*, Oxford, v. 33, p. 149-160, 1993.

ANDREI, E. *Compêndio de defensivos agrícolas*. 8. ed. São Paulo: Andrei Editora, 2009. 499 p.

ARS - Agricultural Research Service. *Pesticide Properties DataBase*. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=14199>>. Acesso em: 05 maio 2013. 2009.

BERIAULT, J.N. et al. Phloem transport of D, L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate resistant and susceptible *Brassica napus*. *Plant Physiology*, v. 121, p. 619-627, 1999.

COETZER, E.; AL-KHATIB, K; LOUGHIN, T.M.. Glufosinate efficacy, absorption, and translocation as affected by relative humidity and temperature. *Weed Science*, v.49, p.8-13, 2001.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA - CTNBio. Disponível em:

<http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/001/1873.pdf>. Acesso em:

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. *Physiology of herbicide action*. Englewood Cliffs: PTR Prentice Hall, p. 441, 1993.

DONN, G. Der Einfluss von Klimafaktoren auf die herbizide Wirkung von ammonium-(3-amino-3-carboxy-propyl)-methylphosphinat (Glufosinate). *Medel. Fac. Landbouwwetenschap. Rijksuniversiteit Gent, Nussallee*, v. 47, p. 105–110, 1982.

DUKE, S. O. e LYDON, J. *Herbicides from natural compounds*, *Weed Technology*, v.1, p.122-128, 1987.

DUKE, S. O.; LYDON, J. *Natural phytotoxins as herbicides*. In: DUKE, S. O.; MENN, J. J.; PLIMMER, J. R., (Eds.). *Pest control with enhanced environmental safety*. Washington, D.C., American Chemical Society,

1993. p. 111-121. (Symposium Series, 524).
- DUKE, S.O. et al. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Research*, v. 40, p. 99-111, 2000.
- EVERMAN, W. J. et al. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in transgenic and nontransgenic cotton, palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*), and pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*). *Weed Science*, v. 57, n. 4, p. 357-361, 2009.
- HAAS, P.; MULLER, F. Behaviour of glufosinate ammonium in weeds. In: BRITISH CROP PROTECTION CONFERENCE WEEDS, 1987, Bracknell. Proceedings... Bracknell: BCPC, 1987. p. 1075-1082.
- HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponível em: <<http://www.weedscience.org/summary/home.aspx>>. Acesso em: 05 set. 2011.
- HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science*, v.48, p.160-170, 2000.
- KLEIER, D. A. Phloem mobility of xenobiotics. I. Mathematical model unifying the weak acid and intermediate permeability theories. *Plant Physiology*, v. 86, p. 803-810, 1988.
- KÖCHER, H. Influence of the light factor on physiological effects of the herbicide HOE 39866, *Annals Applied Biology*, Oxford, v. 4, p. 227, 1983.
- LANGELUDDEKE, P.; BAEDEL, H.; BIERINGER, H. Trials on the influence of air humidity and rainfall on the efficacy of glufosinate-ammonium. In: SYMPOSIUM FACTORS INFLUENCING HERBICIDAL ACTIVITY AND SELECTIVITY, 1988, Wageningen. Proceedings... Wageningen, 1988. p. 227-232.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 11 set. 2013. 2003.
- MASCHOFF, J. R.; HART, S. E.; BALDWIN, J. L. Effect of ammonium sulfate on the efficacy, absorption, and translocation of glufosinate. *Weed Science*, v. 48, p. :2-6, 2000.
- MATHIASSEN, S. K.; KUDSK, P. The influence of adjuvants on the activity, rainfastness and response to climatic conditions of glufosinate. In: SYMPOSIUM QUANTITATIVE APPROACHES IN WEED AND HERBICIDE RESEARCH AND THEIR PRACTICAL APPLICATION, 1993, Braunschweig. Proceedings... Braunschweig: EWRS, p. 243-250, 1993.
- MERSEY, B. G. et al. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: absorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. *Pesticide Biochemistry Physiology*, v. 37, p. 90-98, 1990.
- MULLNER, H.; ECKES, P.; DONN, G. Engineering crop resistance to the naturally occurring glutamine synthetase inhibitor phosphinothricin. ACS Symposium Series. Pest Control with Enhanced Environmental Safety, v.3, p.38-47, 1993.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. Module II: herbicide biochemistry, herbicide metabolism transgenic plants. Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology n.25 Disponível em: <<http://www.oecd.org/science/biotrack/>

- 46815748.pdf >. Acesso em: 11 set. 2011. 2002
- OLIVEIRA JR., R.S. Mecanismos de Ação de Herbicidas. In: OLIVEIRA JR, R.S; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas*. Curitiba: OMNIPAX, 2011, p. 141-191.
- PETERSEN, J.; HURLE, K. Influence of climatic conditions and plant physiology on glufosinate-ammonium efficacy, *Weed Res.*, v. 41, p. 31–39, 2001.
- RASCHE, E.; CREMER, J. G. D.; ZINK, J. The development of glufosinate ammonium tolerant crops into the market. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference Weeds*, v. 3, p. 791–800, 1995.
- RIDLEY, S.M. e MCNALLY, S.F. Effects of phosphinothricin on the isozymes of glutamine synthetase isolated from plant species which exhibit varying degrees of susceptibility to the herbicide. *Plant Science*, v. 39, p.31-36, 1985.
- RODRIGUES, B. N. e ALMEIDA, F. S. *Guia de Herbicidas*. 6 ed. Londrina: Edição dos autores, p. 83 – 92, 2011.
- ROMAN, E. S. et al. *Como Funcionam os Herbicidas: da Biologia à Aplicação*. 1 ed. 2007. 57 p.
- RUHLAND, M.; ENGELHARDT, G.; PAWLIZKI, K. A comparative investigation of the metabolism of the herbicide glufosinate in cell cultures of transgenic glufosinate-resistant and non-transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and corn (*Zea mays*). *Environmental Biosafety Research*, v. 1, n. 1, p. 29-37, 2002.
- RUHLAND, M.; ENGELHARDT, G.; PAWLIZKI, K. Distribution and metabolism of D/L-, L- and D-glufosinate in transgenic, glufosinatetolerant crops of maize (*Zea mays* L ssp *mays*) and oilseed rape (*Brassica napus* L var *napus*). *Pest Management Science*. v. 60, p. 691–696, 2004.
- SCHWERDTLE, F.; BIERINGER, H.; FINKE, M. Hoe 39866 ± ein neues nicht selektives Blattherbizid. *Zeitschrift für Pflanzkrankheiten und Pflanzenschutz. Sonderheft*, Munich, v. 9, p. 431-440, 1981.
- SELLERS, A. B.; SMEDA, R.J.; LI, J.. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation is influenced by time of glufosinate application. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 78, p. 9-20, 2004.
- SHELP, B.; SWANTON, C.J.; HALL, J.C. Glufosinate (phosphinothricin) mobility in young soybean shoots, *Journal of Plant Physiology*, v.139, p. 626–628, 1992.
- STECKEL, G. J. et al. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. *Weed Science*, v. 45, p. 378-381, 1997.
- TEBBE, C.C. e REBER, H.H. Utilization of the herbicide phosphinothricin as a nitrogen source by soil bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.29, p.103–105, 1988.
- THOMPSON C.J. et al. Characterization of the herbicide-resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. *Embo Journal*, v. 6, n. 9, p. 2519–2523, 1987.
- VASIL, I.K. Phosphinothricin-resistant crops. In: DUKE, S. O. *Herbicide-resistant crops: Agricultural environmental, economic, regulatory and technical aspects*. New York: Lewis, p. 85-91, 1996.
- WANAMARTA, G. e PENNER, D. Foliar absorption of herbicides. *Weed Science*, v. 4, p. 215-231, 1989.
- WEHRMANN, A. et al. The similarities of bar and pat gene products make

them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology*, v.14, p. 1274–1278, 1996.

WSSA (Weed Science Society of America): *Herbicide Handbook*, p. 147–149, 1994.