

IMPORTÂNCIA DE ENZIMAS DETOXIFICANTES E ANTIOXIDANTES NA CARACTERIZAÇÃO DE RESISTÊNCIA NÃO RELACIONADA AO SÍTIO DE AÇÃO EM BIÓTIPOS DE *Eleusine indica*

Stéphani Patel Pasqualotto¹ (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Gabriel Felipe Stulp² (Coorientador), Giovana Marinho Hernandez¹, João Vitor Dalbianco Panica², João Henrique Rocha Barion², Rodrigo Orsini Pola², Rubem Silvério de Oliveira Junior² (Orientador).

E-mail: rsojunior@uem.br.

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

²Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR.

Agronomia/Fitotecnia

Palavras-chave: Modulação metabólica; Mecanismo de ação; Inibição enzimática.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo investigar os mecanismos de resistência ao glufosinate em biótipos de *Eleusine indica*, estudando o papel de enzimas detoxificantes e antioxidantes na metabolização do herbicida. Para isso, foram avaliadas as atividades enzimáticas de glutamina sintetase (GS), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione redutase (GR) e glutathione S-transferase (GST) em populações suscetível (S) e potencialmente resistente (R). As análises foram realizadas após a aplicação de doses de 600 e 1200 g glufosinate ha⁻¹, com coleta de amostras às 0, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após aplicação (HAA). Os resultados demonstraram que o glufosinate inibe a GS, com o biótipo R apresentando uma redução de mais de 99% da atividade entre 0 e 12 HAA. Mesmo com tal inibição, o biótipo R sobrevive, evidenciando que sua adaptação não tem relação com alterações no sítio de ação da GS. Mas, possui resposta metabólica caracterizada por uma atividade basal elevada das enzimas antioxidantes e, especialmente, pela indução da GST. O padrão sugere que os mecanismos de resistência são predominantemente não relacionados ao sítio de ação (NTSR), garantindo a detoxificação do herbicida e a mitigação dos danos oxidativos. Dessa forma, o estudo contribui para a compreensão dos processos bioquímicos envolvidos na resistência de *E. indica* ao glufosinate, fornecendo informações para desenvolvimento de estratégias de manejo desta planta daninha.

INTRODUÇÃO

Eleusine indica, conhecida como capim-pé-de-galinha, é uma planta daninha de grande relevância em áreas agrícolas tropicais e subtropicais. Possui alta capacidade competitiva e adaptabilidade a diferentes condições ambientais. Um dos principais desafios em seu controle é o desenvolvimento de resistência a herbicidas,

um problema amplamente documentado no Brasil, com relatos de biótipos com resistência múltipla (Heap, 2025). Essa resistência se manifesta por dois mecanismos: a resistência no sítio de ação (TSR), que ocorre por meio de alterações genéticas que modificam o alvo do herbicida, e a NTSR, um mecanismo mais complexo onde a planta impede que o herbicida atinja seu alvo, seja por absorção reduzida, translocação limitada ou por desativação metabólica (Jalaludin et al., 2017; Takano & Dayan, 2020).

A pressão de seleção é um fator crucial para o surgimento da resistência. O uso repetido de produtos com o mesmo mecanismo de ação, como o glufosinato, favorece a sobrevivência e proliferação de plantas com características genéticas que as tornam mais resistentes (Lei et al., 2024). Sendo assim, investigar os mecanismos de possível resistência de *E. indica* ao glufosinate por meio da determinação da atividade de enzimas relacionadas a funções antioxidantes e detoxificante em biótipos suscetível e com suspeita de resistência ao glufosinate, a fim de compreender e elucidar os possíveis processos bioquímicos envolvidos na NTSR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultivo dos biótipos de E. indica e aplicação dos tratamentos com glufosinate, avaliação da atividade enzimática e análise estatística

Biótipos de *E. indica* com suspeita de resistência a glufosinate foram coletados em áreas agrícolas do Brasil. As sementes dessas plantas foram cultivadas em casa de vegetação até atingirem o estágio de quatro perfilhos. Em seguida, foram aplicadas doses de 600 e 1200 g ha⁻¹ [FINALE®] utilizando um pulverizador costal. A população S, coletada em Cascavel-PR, que foi controlada com sucesso pela dose de bula (600 g ha⁻¹), e a população R, coletada em Jussara-PR, que mostrou controle ineficiente mesmo com doses mais altas (600 e 1200 g ha⁻¹). Foram feitas análises às 0, 12, 24, 48, 72 e 96 HAA.

Para enzimas antioxidantes, a extração foi realizada a partir de folhas maceradas em tampão fosfato com polivinilpirrolidona (PVP), seguida de centrifugação para obtenção do sobrenadante enzimático. A atividade da CAT, POD e GR foi quantificada por espectrofotometria. A CAT foi avaliada a 240 nm, monitorando a taxa de consumo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Aebi, 1984). A POD foi determinada a 470 nm, pela formação de purpurogalina (Putter, 1974), enquanto a GR foi mensurada a 340 nm, acompanhando a oxidação do NADPH (Foyer e Halliwell, 1976). Para a avaliação da enzima detoxificante GST, tecido foliar foi macerado com tampão fosfato, DTT e PVP, seguido de centrifugação como nas enzimas antioxidantes. Sua atividade foi medida a 340 nm, observando a conjugação da glutathione (GSH) com o substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) (Habig et al., 1974). Por fim, a atividade da GS, foi quantificada pela formação de γ-glutamilhdroxamato, com a absorbância medida a 540 nm, segundo Dayan et al. (2015) e Forlani (2000).

Os dados foram organizados num esquema fatorial 2x6, sendo o primeiro fator constituído pelos dois biótipos (R e S) e o segundo fator pelos tempos de análise após a aplicação do herbicida (0, 12, 24, 48, 72 e 96 HAA). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e no caso de efeitos significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando os pacotes de software R®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da atividade da GS no biótipo R mostrou uma inibição acentuada e rápida, com uma redução de 99% em 12 HAA. Esse resultado sugere que o glufosinate atinge e inibe o sítio de ação da enzima, descartando a hipótese de TSR, como mutações ou superexpressão da GS. Indicando que a sobrevivência do biótipo R é provavelmente mediada por mecanismos NTSR.

Quanto a atividade da CAT na dose de 600 g ha⁻¹, a atividade do biótipo R foi reduzida em 70% às 12 HAA, mantendo-se baixa até 96 HAA, enquanto o biótipo S não apresentou diferenças significativas. Em 0 HAA, o biótipo R apresentou atividade da CAT 43% maior que o biótipo S, sugerindo uma maior atividade basal desta enzima em condições controle. Na dose de 1200 g ha⁻¹, a resposta da CAT foi mais evidente. Indicando que, embora o biótipo R possa ter uma capacidade inicial de neutralização do H₂O₂ via CAT, essa enzima pode ser limitada sob estresse prolongado ou intenso, indicando que a planta resistente recorre a outros sistemas antioxidantes ou de detoxificação. Para a atividade da POD, na dose de 600 g ha⁻¹, o biótipo R apresentou uma redução de 30% na atividade da POD nas primeiras 12 HAA, seguida por um aumento subsequente. Em contraste, o biótipo S, que iniciou com atividade 45% menor que o biótipo R em 0 HAA, demonstrou um aumento significativo e contínuo, alcançando um pico de 414% às 48 HAA. Na dose de 1200 g ha⁻¹, a atividade da POD no biótipo R não apresentou mudanças significativas, enquanto o biótipo S teve um aumento gradual até 96 HAA, resultando em atividade 68% maior que no tempo 0 HAA. As PODs são importantes na neutralização de EROs e na biossíntese de lignina, contribuindo para a homeostase redox celular.

Para a GR, na dose de 600 g ha⁻¹, o biótipo R apresentou uma atividade basal de GR significativamente maior em 0 HAA em comparação com o biótipo S. Após a aplicação, a atividade da GR no biótipo R diminuiu rapidamente, mas se recuperou e se manteve estável. O biótipo S, por outro lado, mostrou um aumento na atividade da GR às 12 HAA, seguido por uma diminuição. Na dose de 1200 g ha⁻¹, o biótipo R manteve uma atividade de GR maior que o biótipo S, especialmente em 0 HAA. A GR é crucial para manter os níveis de glutathione reduzida (GSH), essencial para a detoxificação e defesa antioxidante.

A atividade da GST foi significativamente induzida no biótipo R em ambas as doses de glufosinate. Na dose de 600 g ha⁻¹, o biótipo R apresentou um aumento de 100% na atividade da GST às 12 HAA, enquanto o biótipo S não mostrou alteração significativa. Na dose de 1200 g ha⁻¹, o biótipo R demonstrou um aumento de 150% na atividade da GST às 12 HAA, mantendo-se elevada até 96 HAA. Tal indução no

biótipo R é um indicativo de que este mecanismo é central para a resistência ao glufosinate.

Tabela 1. Atividade enzimática ($\mu\text{mol. seg}^{-1} \cdot \text{mg biomassa fresca}^{-1}$) dos biótipos R e S de *E. indica* tratados com glufosinate.

		Glufosinate na dose de 600 g ha ⁻¹					
		0 HAA	12 HAA	24 HAA	48 HAA	72 HAA	96 HAA
CAT	R	22.4±2.4 Aa	6.7±6.0 Ab	8.7±2.5 Ab	5.3±1.6 Ab	5.9±1.6 Ab	4.3±0.7 Ab
	S	12.6±0.7 Ba	7.5±0.4 Aa	7.0±1.1 Aa	8.0±0.7 Aa	6.0±1.5 Aa	8.2±0.6 Aa
GST	R	10.7±2.2 Ab	21.1±6.2 Ab	14.1±2.6 Ab	31.7±5.5 Aa	21.9±2.5 Ab	41.0±8.6 Aa
	S	2.1±0.5 Ab	6.5±1.1 Bb	8.7±0.3 Ab	18.9±3.8 Ba	22.4±2.7 Aa	10.0±1.9 Bb
GR	R	27.8±0.7 Aa	23.3±1.1 Aa	29.8±0.5 Aa	27.1±1.5 Aa	23.4±1.3 Aa	25.6±1.1 Aa
	S	7.1±1.8 Bb	18.4±2.1 Aa	21.9±1.5 Ba	19.6±2.9 Aa	21.6±3.0 Aa	23.4±3.8 Aa
POD	R	0.75±0.04 Aa	0.52±0.06 Bb	0.82±0.04 Ba	0.87±0.05 Ba	0.93±0.08 Aa	0.61±0.06 Bb
	S	0.41±0.02 Bd	0.85±0.04 Ac	1.30±0.02 Ab	2.11±0.13 Aa	0.70±0.04 Bc	0.81±0.01 Ac
GS	R	3.015±0.583 a	0.029±0.006 b	0.020±0.009 b	0.050±0.006 b	0.069±0.002 b	0.059±0.010 b
		Glufosinate na dose de 1200 g ha ⁻¹					
		0 HAA	12 HAA	24 HAA	48 HAA	72 HAA	96 HAA
CAT	R	22.4±2.4 Aa	27.0±3.2 Aa	3.6±1.0 Bb	4.3±2.3 Ab	0.9±0.0 Ab	3.6±2.3 Ab
	S	17.8±1.9 Aa	19.4±0.8 Ba	15.1±1.4 Aa	10.0±1.6 Ab	4.4±1.4 Ab	3.8±0.3 Ab
GST	R	8.7±2.5 Ab	13.4±3.5 Ab	18.0±2.5 Ab	18.1±5.5 Ab	16.9±1.9 Ab	78.8±13.9 Aa
	S	2.6±0.6 Aa	3.3±0.3 Aa	4.3±0.7 Aa	3.2±0.8 Ba	15.5±3.9 Aa	6.9±1.3 Ba
GR	R	27.8±1.6 Aa	22.4±0.7 Aa	27.1±1.9 Aa	21.7±2.1 Aa	10.6±3.5 Bc	17.2±1.1 Ab
	S	23.9±1.8 Aa	25.1±1.3 Aa	23.9±0.2 Aa	23.1±2.0 Aa	29.4±0.7 Aa	23.4±2.0 Aa
POD	R	0.75±0.04 Aa	0.54±0.06 Bb	0.78±0.01 Aa	0.76±0.08 Aa	0.42±0.02 Bb	0.61±0.17 Bb
	S	0.69±0.08 Ab	0.86±0.03 Ab	0.66±0.00 Ab	0.68±0.06 Ab	0.80±0.05 Ab	1.16±0.17 Aa

Letras minúsculas indicam diferenças entre as médias nas linhas (tempos de análise após aplicação do herbicida) e letras maiúsculas representam diferenças entre as colunas (biótipos de *E. Indica*).

CONCLUSÕES

Conclui-se que a resistência de *E. indica* ao glufosinate no biótipo R é predominantemente mediada por mecanismos NTSR. A atividade basal elevada das enzimas antioxidantes e a alta indução da GST, permitem que a planta neutralize os danos oxidativos e metabolize o herbicida.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq, Laboratório de Oxidações Biológicas e ao NAPD.

REFERÊNCIAS

- HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 2025. Disponível em: <http://www.weedscience.org>. Acesso em: 8 de jun 2025.
- JALALUDIN, A. *et al.* Characterisation of glufosinate resistance mechanisms in *Eleusine indica*. **Pest Management Science**, v. 73, n. 6, p. 1091–1100, 2017.

LEI, T. *et al.* Metabolic resistance mechanism to glufosinate in *Eleusine indica*.

Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 204, art.106083, 2024.

TAKANO, H. K.; DAYAN, F. E. Adaptive antioxidant responses in glufosinate-treated plants. **Pest Management Science**, v. 76, n. 12, p. 3911-3925, 2020.