



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**

**REFLEXOS DO MECANISMO DE AÇÃO DOS HERBICIDAS  
NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA  
EM SEMENTES DE ARROZ**

**RODRIGO FERREIRA MACHADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Dr. Antonio Carlos Souza Albuquerque Barros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes para a obtenção do título de Doutor em Ciências: Ciência e Tecnologia de Sementes (Dr.).

**PELOTAS  
Rio Grande do Sul - Brasil  
Outubro de 2005**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**

**REFLEXOS DO MECANISMO DE AÇÃO DOS HERBICIDAS  
NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA  
EM SEMENTES DE ARROZ**

**RODRIGO FERREIRA MACHADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Dr. Antonio Carlos Souza Albuquerque Barros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes para a obtenção do título de Doutor em Ciências: Ciência e Tecnologia de Sementes (Dr.).

**PELOTAS  
Rio Grande do Sul - Brasil  
Outubro de 2005**

Dados de catalogação na fonte:  
( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744 )

M149r Machado, Rodrigo Ferreira

Reflexos do mecanismo de ação dos herbicidas na qualidade fisiológica e na atividade enzimática em sementes de arroz / Rodrigo Ferreira Machado ; orientador Antonio Carlos Souza Albuquerque Barros; co-orientadores Ademir dos Santos Amaral e Paulo Dejalma Zimmer . – Pelotas, 2005. –32 f. : il. Tese ( Doutorado ). Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas,. Pelotas, 2005.

1. Oryza sativa 2. Herbicida 3. Atividade enzimática I Barros, Antonio Carlos Souza Albuquerque (orientador) II .Título.

CDD 633.18

RODRIGO FERREIRA MACHADO

REFLEXOS DO MECANISMO DE AÇÃO DOS HERBICIDAS  
NA QUALIDADE FISIOLÓGICA E NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA  
EM SEMENTES DE ARROZ

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Dr. Antonio Carlos Souza Albuquerque Barros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes para a obtenção do título de Doutor em Ciências: Ciência e Tecnologia de Sementes (Dr.).

APROVADA: 27 de outubro de 2005.

---

Dr. Luis Osmar Braga Schuch

---

Dr. Cleiton Perleberg

---

Dr. Paulo Dejalma Zimmer  
(Co-orientador)

---

Dr. Ademir dos Santos Amaral  
(Co-orientador)

---

Dr. Antonio Carlos S. A. Barros  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Professor Dr. Antonio Carlos Souza Albuquerque Barros, pela orientação, amizade e conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários dos Laboratórios, Didático de Análise de Sementes e Bio-sementes da FAEM, pelo auxílio durante a realização deste trabalho.

Aos bolsistas de Iniciação Científica, acadêmicos de Engenharia Agrônômica, pelo auxílio prestado.

Aos colegas do curso e amigos, pelo estímulo, amizade e companheirismo.

A Manuela Trevisan Cardoso pelo carinho, incentivo e auxílio em todos os momentos.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

SUMÁRIO.....	v
SUMMARY.....	vii
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
ANEXOS.....	29

## SUMÁRIO

MACHADO, RODRIGO FERREIRA. D.S., Universidade Federal de Pelotas, outubro de 2005. **Reflexos do mecanismo de ação dos herbicidas na qualidade fisiológica e na atividade enzimática em sementes de arroz.** Orientador: Dr. Antonio Carlos S.A. Barros, Co-orientadores: Dr. Paulo Dejalma Zimmer e Dr. Ademir dos Santos Amaral.

Os herbicidas modernos geralmente inibem a atividade de uma enzima/proteína na célula e, conseqüentemente, desencadeiam uma série de eventos que matam ou inibem o desenvolvimento da célula ou do organismo. Enzimas são proteínas que aumentam a velocidade das reações químicas, possibilitando a ocorrência dessas reações nas células em condições de pressão e temperatura compatíveis com a vida do organismo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito residual dos herbicidas na qualidade fisiológica e na atividade enzimática em sementes de arroz. Foram testados quatro herbicidas (clomazone, quinclorac, propanil, byspiribac-sodium) em duas épocas de aplicação e quatro cultivares de arroz (ARRANK, BRS-PELOTA, BR-IRGA 410 e o BR-IRGA 417). Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes foram realizados o teste de germinação, teste de frio e condutividade elétrica. Quanto à atividade enzimática foram avaliadas as seguintes enzimas: esterase (EST), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH), glutamato desidrogenase (GTDH), fosfogluco isomerase (PGI) e a fosfatase ácida (ACP). Os resultados obtidos



não revelaram efeito significativo do mecanismo de ação dos herbicidas na qualidade fisiológica e na atividade enzimática em sementes das quatro cultivares avaliadas.

Palavras-chave - *Oryza sativa* L., herbicida, atividade enzimática.

## SUMMARY

MACHADO, RODRIGO FERREIRA. D.S., Universidade Federal de Pelotas, octubre de 2005. **Reflexes of the mechanism of herbicides action in the physiologic quality and in the enzymatic activity in rice seeds.** Adviser: Dr. Antonio Carlos S.A. Barros, Comittee: Dr. Paulo Dejalma Zimmer e Dr. Ademir dos Santos Amaral.

The modern herbicides usually inhibit the activity of an enzyme/protein in the cell and, consequently, they unchain a series of events that you/they kill or they inhibit the development of the cell or of the organism. Enzymes are proteins that increase the speed of the chemical reactions, making possible the occurrence of those reactions in the cells in pressure conditions and compatible temperature with the life of the organism. The present work had as objective evaluates the residual effect of the herbicides in the physiologic quality and in the enzymatic activity in rice seeds. Four herbicides were tested (clomazone, quinclorac, propanil, byspiribac-sodium) in two application times and four you cultivate of rice (ARRANK, BRS-PELOTA, BR-IRGA 410 and BR-IRGA 417). To evaluate the physiologic quality of the seeds the germination test, test of cold and electric conductivity they were accomplished. As for the enzymatic activity they were appraised the following enzymes: esterase, glutamate oxaloacetate transaminase, malate dehydrogenase, glutamate dehydrogenase, phosphoglucose isomerase and the acid phosphatase. The obtained results didn't reveal significant effect of the mechanism of action of the herbicides in the

physiologic quality and in the enzymatic activity in seeds of the four cultivate appraised.

Key words - *Oryza sativa* L., herbicide, enzymatic activity

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o principal alimento para a maioria da população mundial, constituindo-se, juntamente com o trigo e o milho, no cereal mais produzido no mundo (AGOSTINETTO et al., 2001).

A produtividade de grãos de arroz irrigado por inundação no Rio Grande do Sul, com média de 6,0 t/ha (BRASIL, 2004), pode ser considerada baixa, quando comparada com a de outros países, principalmente os asiáticos. Esse resultado é decorrente de vários fatores, dentre os quais destaca-se a interferência das plantas daninhas sobre o desenvolvimento da cultura. Ainda assim, a produtividade brasileira aumentou 12% na década de 90, em virtude da incorporação de tecnologias que, contudo, não foram suficientes em favorecer a expressão do potencial dos cultivares modernos, com capacidade produtiva superiores a 8,0 t/ha (YOKOYAMA et al., 1999).

Para alcançar os máximos rendimentos, as lavouras devem crescer livres de plantas daninhas desde o início. A interferência destas é um dos principais fatores que limitam a produtividade e a rentabilidade da cultura do arroz. Dentre as espécies daninhas, o arroz vermelho merece um destaque especial, por estar disseminado em quase toda a área cultivada com arroz no Rio Grande do Sul. As alternativas de controle desta infestante são somente parciais e estima-se redução anual de 1,2 milhão de toneladas de grãos por safra (MENEZES & RAMIREZ, 2004).

Com relação às demais plantas daninhas, na quase totalidade da área, os produtores utilizam o controle químico, com alternativas eficientes oferecidas pelo mercado. O ideal é que se faça o controle químico o mais cedo possível. No entanto, como em muitas áreas os produtores atrasam o controle das plantas daninhas, o resultado é maior custo com herbicidas, menor eficiência no controle e redução no rendimento de grãos. A época mais adequada para o controle de plantas daninhas é quando elas estão com até três folhas, antes do estágio de afilamento do arroz.

Muitos herbicidas registrados para a cultura do arroz irrigado, podem em aplicações tardias, apresentar um efeito fitotóxico podendo acarretar algum efeito prejudicial no desenvolvimento da planta.

Vários herbicidas indicados para a cultura do arroz irrigado possuem o intervalo de segurança superior ao ciclo da cultura. Segundo Rodrigues & Almeida (1998), intervalo de segurança é o período de tempo entre a última aplicação da substância e a colheita do produto que vai ser utilizado na alimentação humana ou animal. Entre os principais cultivares de arroz irrigado registrados e recomendados para o cultivo no estado do Rio Grande do Sul, existem cultivares de diferentes ciclos desde cultivares muito precoces (<105 dias), precoces (106-120 dias), médios (121-135 dias), tardios (136-150 dias) a cultivares muito tardios com ciclo maior de 150 dias.

Quando por algum motivo os produtores realizam o controle das plantas daninhas com aplicações tardias dos herbicidas, a colheita dos cultivares de ciclo mais curto será realizada antes do fim do intervalo de segurança de muitos dos herbicidas utilizados, podendo ainda existir resíduos de ingredientes ativos destes herbicidas nos produtos colhidos: grãos ou sementes.

Os herbicidas modernos geralmente inibem a atividade de uma enzima/proteína na célula e, conseqüentemente, desencadeiam uma série de eventos que matam ou inibem o desenvolvimento da célula ou do organismo. Enzimas são proteínas que aumentam a velocidade das reações químicas, possibilitando a ocorrência dessas reações nas células em condições de pressão e temperatura compatíveis com a vida do organismo. Essas enzimas são moléculas protéicas relativamente grandes que possuem um local (sítio catalítico) que é diretamente envolvido com o(s) substrato(s) nas etapas que antecedem a reação química (VIDAL, 1997).

A ação fitotóxica de um herbicida pode ser separada em duas fases: o mecanismo de ação e o modo de ação. Entende-se por mecanismo de ação, o primeiro processo bioquímico ou biofísico no interior celular a ser inibido pela atividade herbicida. Este processo inicial pode ser suficiente para matar as plantas sensíveis. Porém, normalmente, diversas outras reações químicas ou processos são necessários para matar a planta. O somatório total destes processos é denominado modo de ação.

O herbicida bispiribac-sodium pertencente ao grupo químico pirimidil carboxy, é indicado para o controle em pós-emergência (PÓS) de gramíneas, ciperáceas e algumas dicotiledôneas (RODRIGUES & ALMEIDA, 1998), apresenta o mecanismo de ação denominado de inibidores de acetolactato sintase (ALS). Os inibidores da ALS, como o próprio nome diz, são inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), também chamada acetohidroxiacetato sintase (AHAS). A ALS é a primeira enzima da rota de síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina.

ALS e outras três enzimas são comuns a duas rotas metabólicas que ocorrem em plastídeos de tecidos jovens de plantas e produzem os três aminoácidos. Na rota que produz valina e leucina, a ALS cataliza a reação de duas moléculas de piruvato para formar acetolactato, o precursor destes aminoácidos. A enzima também cataliza a reação entre piruvato e cetobutirato, para produzir acetohidroxiacetato, o precursor de isoleucina. A ALS requer FAD, tiamina pirofosfato (TPP) e  $Mg^{+2}$  ou  $Mn^{+2}$  para ser ativada (VIDAL & MEROTTO Jr., 2001).

A inibição do crescimento das plantas é detectada 1 a 2 horas após o tratamento com herbicidas, bem antes de haver efeitos sobre outros processos, como as reações fotossintéticas, respiração aeróbica ou síntese de RNA ou proteínas. Estudos concluíram que o herbicida bloqueia rapidamente o ciclo celular de  $G_2$  para mitose e de  $G_1$  para a síntese de DNA. Embora sem nenhum efeito direto sobre o aparato mitótico, é possível que haja função regulatória sobre o controle da divisão celular (BROWN, 1990; COBB, 1992).

Um possível efeito da inibição da ALS por herbicidas é a acumulação do substrato desta enzima, o cetobutirato. No entanto, não está claro ainda se o cetobutirato desempenha alguma função significativa no modo de ação destes herbicidas em plantas.

Além disso, o ácido cetoisovelérico, intermediário da rota de produção de valina e leucina, é precursor de coenzima A (CoA), necessária para a síntese de acetil-CoA, importante intermediário de muitas rotas metabólicas nos vegetais, especialmente da síntese de lipídeos e terpenos (BROWN, 1990; DEVINE et al., 1993).

O clomazone pertencente ao grupo químico isoxazolidinonas, é indicado para o controle em pré-emergência (PRÉ) de mono e dicotiledôneas, podendo ainda na cultura do arroz ser aplicado logo após o início da emergência. Esse herbicida apresenta o mecanismo de ação inibidor da síntese de carotenóides.

O mecanismo de ação do clomazone ainda não está esclarecido. Inicialmente imaginava-se que o local de ação primário do clomazone fosse enzimas do início da síntese dos carotenóides, como isopentenil pirofosfato isomerase e prenil transferase, enzimas responsáveis pela elongação da cadeia dos carotenóides para 10, 15 ou 20 carbonos, com posterior geração de estresse oxidativo, que destrói as membranas das células, levando assim as plantas à morte. Após diversos trabalhos, demonstrou-se que essas enzimas não são inibidas por clomazone, restando as possibilidades de que um metabólito de clomazone produzido *in vivo* seja o verdadeiro inibidor, ou o local de inibição seja fora da rota de biossíntese dos carotenóides. Se a primeira possibilidade for verdadeira, clomazone deveria sofrer bioativação pelas plantas sensíveis, o que contribuiria para justificar sua seletividade às plantas tolerantes. Trabalhos posteriores com metabólitos de clomazone também não tiveram êxito em encontrar o verdadeiro inibidor. É possível que algum desses metabólitos seja convertido para a forma tóxica nas plantas (DEVINE et al., 1993; NORMAN et al., 1990).

As plantas possuem mecanismos para evitar o estresse oxidativo produzido normalmente em pequeno grau durante a fotossíntese. O estresse oxidativo é provocado por moléculas extremamente reativas ou oxidantes, como o oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), superóxido ( $O^{2-}$ ), radical hidroxila ( $OH^*$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) que irão peroxidar os lipídios das membranas, formando novos radicais lipídicos, também capazes de oxidar novos lipídios e membranas, levando assim as plantas tratadas à morte.

Os radicais livres são formados quando a clorofila, na presença de luz, adquire energia e passa ao estado de clorofila tripleto ( $^3Chl$ ). Essa clorofila

reativa é que forma os demais radicais livres acima citados. Os carotenóides tem a função de dissipar o excesso de energia da clorofila na forma de calor e evitar a formação de  $^3\text{Chl}$ . Na presença dos herbicidas inibidores de carotenóides, ocorre acúmulo de radicais livres e conseqüentemente prejuízo para as células (VIDAL & MEROTTO Jr., 2001).

O quinclorac herbicida pertencente ao grupo químico quinolinas, é indicado para o controle em pós-emergência de mono e dicotiledôneas, possui o mecanismo de ação chamado de inibidor da síntese de parede celular. Existem três hipóteses quanto ao mecanismo de ação deste composto: 1) mecanismo similar aos mimetizadores de auxina (reguladores do crescimento); 2) estímulo de síntese de etileno com co-produção de cianeto, a qual bloqueia o transporte de elétrons para redução do oxigênio; e 3) inibição da síntese de parede celular (VIDAL, 1997).

Auxinas são reguladores de crescimento vegetal que interferem na alongação celular. Auxinas controlam a atividade de genes através de uma seqüência de eventos. Inicialmente as auxinas ativam proteínas receptoras presentes na membrana celular. Esses receptores enviam mensageiros secundários que irão ocasionar dois tipos de efeitos na célula vegetal : efeitos de rápida resposta e efeitos de longo prazo.

Logo após a aplicação de auxinas há acúmulo de cálcio no citoplasma, estímulo a produção de etileno e acidificação da parede celular. O etileno promove a formação de celulase (enzimas que degradam celulose) na parede celular e, graças ao turgor de água da célula, ocorre alongação celular. Ao longo prazo, o cálcio ativa a proteína calmodulin, que por sua vez, aciona enzimas controladoras de genes chave, responsáveis pelo metabolismo de diversos componentes da célula.

Normalmente os níveis de auxina estão sob controle da célula e são elevados apenas quando é necessária a alongação celular ou outra atividade que lhe é específica. Quando se aplica herbicidas auxinas sintéticas aos vegetais sensíveis, os níveis celulares de auxinas aumentam e o metabolismo da planta fica desregulado. Muitos dos sintomas observados após a aplicação de auxinas são causados pela ação de etileno. Assim, epinastia (enrolamento de caule e pecíolos), murchamento, clorose e queda de folhas, são efeitos



secundários, que ocorrem graças a ação de etileno, mas que tem papel importante na morte das plantas sensíveis.

Já o propanil pertencente ao grupo químico dos derivados da cloroanilida, indicado para o controle em pós-emergência de mono e dicotiledôneas, apresenta o mecanismo de ação chamado de inibidor fotossintético. Apesar das propriedades herbicidas do propanil serem conhecidas desde o início da década de 60 o seu mecanismo de ação não está completamente elucidado. Sabe-se que este composto interfere na fotossíntese e, especula-se que isto ocorra devido a três razões: 1) inibição da ATP-sintase (produção de energia na fotossíntese); 2) inibição do fluxo de elétrons; e 3) inibição do transporte de fosfato para dentro da célula e do cloroplasto. O propanil também inibe a síntese de RNA e proteína em 70 e 90%, respectivamente (VIDAL, 1997). Os sintomas de clorose ocorrem poucos dias após o tratamento, seguidos de dessecação e necrose foliar e morte das plantas.

Com tudo o que foi exposto acima, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito residual dos herbicidas na qualidade fisiológica das sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento a campo foi realizado na localidade do Barro Duro no município de Pelotas-RS, e as avaliações realizadas no Laboratório de Análise de Sementes e de Bio-Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel na Universidade Federal de Pelotas, durante o ano agrícola 2003/04.

A semeadura foi realizada em 08/11/2003, sob sistema convencional de preparo do solo e a emergência ocorreu no dia 15/11/2003. Foram avaliados em uma combinação fatorial 9 tratamentos e 4 cultivares, utilizando o delineamento experimental de blocos com parcela dividida, com duas repetições. As parcelas foram constituídas por 4 linhas de 4 metros de comprimento, espaçadas em 30 centímetros. Os cultivares foram alocados em sub-parcelas e os tratamentos nas parcelas.

Foram utilizados quatro cultivares de arroz com diferentes ciclos de vida: BR-IRGA 410 (121-135 dias), BR-IRGA 417 (106-120 dias), BRS PELOTA (121-135 dias) e ARRANK (<105 dias). Também foram usados quatro herbicidas com diferentes intervalos de segurança: byspiribac-sodium (118 dias), clomazone (não especificado devido à modalidade de uso), quinclorac (90 dias) e propanil (80 dias), em duas épocas de aplicação: época 1 e época 2 com 15 e 25 dias após a emergência das plântulas respectivamente.

Os herbicidas foram utilizados nas seguintes dosagens: byspiribac-sodium (1,25 L/ha), clomazone (1,4 L/ha), quinclorac (0,75 Kg/ha) e propanil (10 L/ha).

Nas duas épocas de aplicação dos herbicidas foram utilizados tapumes de madeira para evitar a deriva do produto aplicado e assim evitar a contaminação das parcelas vizinhas.

Os tratamentos consistiram em: 1) clomazone época 1; 2) quinclorac época 1; 3) propanil época 1; 4) byspiribac-sodium época 1; 5) clomazone época 2; 6) quinclorac época 2; 7) propanil época 2; 8) byspiribac-sodium época 2 e 9) testemunha.

O manejo da cultura do arroz para a obtenção das sementes, as quais foram utilizadas nas avaliações, foi realizado de acordo com as Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil (SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO, 2003).

As sementes foram colhidas próximo ao ponto de maturação fisiológica, sendo que a cultivar ARRANK foi colhida no dia 01/03/2004 e as cultivares BR-IRGA 410, BR-IRGA 417 E BRS PELOTA foram colhidas no dia 26/03/2004.

Após colhidas as sementes foram debulhadas manualmente e secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 50°C, até atingirem a umidade de 13%. Após o processo de secagem as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca.

O teste de germinação foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), exceto o número de sementes que foi de 200 (4 repetições de 50) por tratamento, num germinador com temperatura de 25°C. Como tratamento de superação de dormência foi empregado o método de pré-secagem a temperatura de 50°C, por 96 horas, em estufa com circulação de ar.

O teste de frio foi realizado seguindo-se a metodologia descrita por Vieira & Carvalho (1994), com 4 repetições de 50 sementes. As sementes foram distribuídas sobre papel de germinação umedecido com 2,5 vezes o peso do papel em água destilada. Os rolos com as sementes foram acondicionados dentro de sacos plásticos vedados e levados à câmara fria, onde permaneceram por 7 dias a temperatura de 10°C. Após este período os rolos foram retirados da embalagem plástica e levados ao germinador com temperatura de 25°C durante 7 dias para então ser procedida a contagem das plântulas normais. Foram consideradas plântulas normais àquelas que apresentaram todas as estruturas dentro da normalidade e comprimento total

de no mínimo 2,5 cm. As médias de vigor pelo teste de frio foram expressas em percentagem de plântulas normais.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido conforme as recomendações da ISTA (1995), utilizando-se 75 ml de água deionizada previamente mantidas a 20°C por 24 horas. Após este período foram colocadas 50 sementes em cada copo plástico, perfazendo um total de 4 repetições por tratamento. Em seguida, as sementes foram colocadas em temperatura de 20°C por 24 horas e realizada a leitura de condutividade.

Para a análise das enzimas, foi utilizada eletroforese em gel de poliacrilamida a 6%. Os géis foram colocados em cubas eletroforéticas mantidas em câmara fria com temperatura entre 4 e 6°C. As migrações eletroforéticas foram feitas com diferença de potencial de 10 v/cm e usou-se 25 mA durante toda a corrida, até o corante da linha de corrida (azul de bromofenol) atingir a extremidade inferior do gel.

Para a extração das enzimas foi utilizada toda a plântula (folha e raiz). As amostras foram constituídas de plântulas com 7 dias após as sementes terem sido colocadas em rolo de papel, em germinador a 25°C, segundo as Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 1992).

Os extratos foram obtidos pela maceração das plântulas em tampão usado no gel, na proporção de 2 de volume para 1 de peso de amostra, em placas de porcelana mantidas sobre cubos de gelo. O sistema de tampão utilizado foi o descrito por Scandalios (1969)

Foram usados sistemas de coloração citados por Scandalios (1969) para as enzimas esterase (EST) e glutamato oxaloacetato transaminase (GOT); Alfenas (1998), para as enzimas malato desidrogenase (MDH), glutamato desidrogenase (GTDH) e fosfogluco isomerase (PGI); e Payne (1985) para a enzima fosfatase ácida (ACP).

Os géis foram fotografados e digitalizados utilizando-se o “Kodak Electrophoresis Documentation and Analysis System” (EDAS 120) e as bandas foram identificadas pelo programa Gel-Pro Analyzer<sup>(TM)</sup> (MEDIA CYBERNETICS, 1997), com o qual também foi calculada as massas das bandas.

Os dados do teste de germinação, teste de frio, condutividade elétrica e atividade das 6 enzimas avaliadas foram submetidos à análise de variância e

comparação de médias pelos testes de Duncan a 5% de significância, e o Teste F para contrastes entre os níveis de tratamento, os quais foram realizados no programa SANEST (ZONTA et al., 1986).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos no experimento, observou-se que os produtos químicos utilizados não afetaram a qualidade fisiológica das sementes, como pode ser observado nas Tabelas 1 e 2. Não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados para o teste de germinação e o teste de frio, embora tenha havido diferenças entre os cultivares estudados. A germinação e o vigor das sementes mantiveram a mesma tendência nas 4 cultivares avaliadas.

O teste de frio é classificado como um teste de resistência a estresse que avaliam o desempenho de sementes expostas a condições desfavoráveis do ambiente.

O teste de frio é o mais antigo e mais pesquisado nos Estados Unidos. Procura avaliar a resposta de amostras de sementes submetidas à combinação de baixa temperatura, alto grau de umidade do substrato e, se possível, agentes patogênicos. Dois tipos de estresse predominam no teste, pois a temperatura subótima incentiva a perda de solutos celulares, devido à configuração do sistema de membranas, enquanto a atividade de microrganismos exerce efeito prejudicial ao desempenho das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

O vigor é diretamente proporcional ao grau de sobrevivência das sementes expostas a essas condições; com isso, procura-se estimar o comportamento de lotes de sementes quando ocorre redução da temperatura, acompanhada pela

elevação da disponibilidade de água, na época da instalação da cultura. Os resultados do teste de frio seriam comparáveis ou representariam a mais baixa germinação que poderia ser obtida da amostra avaliada, em contraste com a verificada no teste de germinação (HAMPTON & TEKRONY, 1995). Entretanto, embora as condições do teste de frio promovam estresse de intensidade considerável, essa observação freqüentemente não é confirmada na prática.

Segundo Krzyzanowsky et al. (1991), o teste de frio pode funcionar como um instrumento de grande valor para a seleção prévia de lotes de sementes que apresentam bom potencial de emergência em solos frios e úmidos, condições estas que são normalmente encontradas em semeaduras a partir de setembro a meados de outubro na região Sul do Brasil.

O teste de condutividade elétrica é classificado como um teste bioquímico, e está baseado na relação existente entre o vigor de sementes e a integridade dos sistemas de membranas celulares. O princípio do teste estabelece que sementes menos vigorosas (ou mais deterioradas) apresentam menor velocidade de restabelecimento da integridade das membranas celulares durante a embebição e, em conseqüência, liberam maiores quantidades de solutos para o meio exterior. A perda de lixiviados inclui açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas, enzimas e íons inorgânicos ( $K^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $Mn^{+2}$ ). Sob condições de campo, essa liberação após a semeadura, além de provocar a perda da compartimentalização celular, estimula o crescimento de microrganismos nocivos à emergência das plântulas (MARCOS FILHO, 2005). Membranas mal estruturadas estão diretamente relacionadas com o processo de deterioração das sementes e, portanto, com sementes de baixo vigor (AOSA, 1983).

Vários fatores, discutidos por Marcos Filho et al. (1987) e por Vieira e Krzyzanowski (1999), podem afetar os resultados desse teste e necessitam de monitoramento cuidadoso para assegurar a consistência dos resultados. Dentre eles destacam-se o genótipo, o grau de umidade, o tamanho e a condição física das sementes entre outras.

Os resultados demonstraram diferenças entre os cultivares em relação ao teste de condutividade elétrica. Segundo Bruggink et al. (1991) o teste de condutividade elétrica pode ser influenciado por diversos fatores entre os quais destaca-se o cultivar.

O teste de condutividade elétrica tem sido reconhecido como eficiente para a avaliação do vigor de sementes de várias espécies, mas não para todas as estudadas. Em outros casos, o insucesso desse teste tem sido atribuído à influência do genótipo, associada a características do tegumento, permitindo a liberação mais ou menos acentuada dos lixiviados (RECH et al., 1999; PANOBIANCO & MARCOS FILHO, 2001).



TABELA 1. Teste de germinação e teste de frio de sementes de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	Teste de Germinação (%)				Teste de frio (%)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	92 a A	95 a B	92 a B	95 a A	85 a A	76 a B	70 a B	88 a A
2- Quinclorac ep. 1	95 a A	92 a B	96 a B	96 a A	86 a A	77 a B	86 a B	84 a A
3- Propanil ep. 1	97 a A	94 a B	94 a B	94 a A	86 a A	81 a B	78 a B	87 a A
4- Byspiribac ep. 1	98 a A	91 a B	92 a B	98 a A	91 a A	67 a B	75 a B	86 a A
5- Clomazone ep. 2	97 a A	93 a B	93 a B	99 a A	86 a A	80 a B	81 a B	84 a A
6- Quinclorac ep. 2	96 a A	93 a B	93 a B	97 a A	87 a A	81 a B	78 a B	87 a A
7- Propanil ep. 2	97 a A	94 a B	91 a B	95 a A	84 a A	71 a B	77 a B	87 a A
8- Byspiribac ep. 2	97 a A	94 a B	94 a B	96 a A	89 a A	79 a B	81 a B	82 a A
9- Testemunha	91 a A	93 a B	94 a B	96 a A	85 a A	67 a B	77 a B	84 a A
Médias	96	93	93	96	87	75	78	85
CV fator A <sup>1</sup> (%)	2,02				4,14			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	4,91				7,08			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

TABELA 2. Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ ) de sementes de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	CE ( $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ )			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	40,75 a B	47,38 a A	41,72 a B	30,42 a C
2- Quniclorac ep. 1	38,92 a B	45,18 a A	35,45 a B	31,44 a C
3- Propanil ep. 1	41,13 a B	39,87 a A	39,88 a B	31,33 a C
4- Byspiribac ep. 1	39,47 a B	48,04 a A	37,65 a B	35,04 a C
5- Clomazone ep. 2	38,77 a B	48,41 a A	39,14 a B	31,39 a C
6- Quinclorac ep. 2	36,22 a B	45,26 a A	37,65 a B	31,21 a C
7- Propanil ep. 2	38,50 a B	50,73 a A	36,31 a B	31,02 a C
8- Byspiribac ep. 2	36,89 a B	45,71 a A	36,26 a B	30,16 a C
9- Testemunha	37,96 a B	48,41 a A	41,02 a B	31,88 a C
Médias	38,73	46,55	38,34	31,54
CV fator A <sup>1</sup> (%)	8,22			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	8,05			

<sup>1</sup>Fator A - Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Foi realizado o Teste F para contrastes entre os níveis de tratamento, época 1 e época 2, para o teste de germinação, teste de frio e condutividade elétrica, onde não foi observado diferença estatística entre os contrastes avaliados.

As massas apresentadas nas Tabelas 3, 4, 5, 6, 7 e 8 foram obtidas através da soma das massas das bandas quando presentes em número maior do que uma nos zimogramas.

A atividade da enzima esterase (EST) pode ser observada na Tabela 3, através da massa total da enzima no gel para cada tratamento. Não foi observado diferença estatística entre os tratamentos avaliados em relação a atividade da EST. Os cultivares BRS PELOTA, BR IRGA 410 e BR IRGA 417 apresentaram uma maior atividade da EST do que o cultivar ARRANK.

No Rio Grande do Sul, apenas seis ancestrais contribuem com 86% dos genes dos cultivares mais plantados (RANGEL et al., 1996). Como consequência desta estreita base genética, os cultivares apresentam um alto grau de parentesco e de similaridade de suas características morfofenológicas e agrônômicas que dificultam a identificação varietal (GUIDOLIN, 1993).

Segundo a ISTA (1992), a discriminação de cultivares é realizada com mais facilidade quando além de características morfológicas, são usados métodos eletroforéticos. Marcadores isoenzimáticos, além do baixo custo e acessibilidade da técnica, geralmente fornecem ampla informação genética para diversas aplicações (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

TABELA 3. Atividade da enzima esterase (EST) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	EST – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	14,836 a B	33,204 a A	27,052 a A	28,116 a A
2- Quinclorac ep. 1	17,990 a B	30,643 a A	27,604 a A	26,860 a A
3- Propanil ep. 1	19,721 a B	31,975 a A	33,469 a A	24,914 a A
4- Byspiribac ep. 1	19,380 a B	25,348 a A	21,209 a A	27,536 a A
5- Clomazone ep. 2	17,863 a B	33,263 a A	27,573 a A	28,940 a A
6- Quinclorac ep. 2	16,833 a B	27,962 a A	28,005 a A	32,169 a A
7- Propanil ep. 2	19,099 a B	26,242 a A	25,084 a A	28,105 a A
8- Byspiribac ep. 2	14,213 a B	22,506 a A	24,602 a A	32,120 a A
9- Testemunha	20,016 a B	28,291 a A	31,329 a A	27,859 a A
Médias	17,772	28,826	27,325	28,513
CV fator A <sup>1</sup> (%)	5,92			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	14,72			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Os zimogramas de EST em plântulas mostraram que os cultivares BRS PELOTA e ARRANK apresentaram duas bandas, enquanto BR IRGA 410 e BR IRGA 417 apresentaram três bandas para a enzima EST. Bonow (1999) detectou três padrões diferentes de bandas nos genótipos estudados e cinco bandas nos genótipos El paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, BR IRGA 416 E BR IRGA 417 em folhas de plântulas de arroz. Essas diferenças talvez possam ser em parte explicadas pelas diferentes regiões da planta que foram analisadas. Neste trabalho foi utilizada toda a plântula (folhas e raízes) para extração das enzimas. Bonow (1999), por sua vez, utilizou o terço médio das folhas para análises. Wielewicki (2001), analisando enzimas de EST observou seis bandas nos tratamentos a 20°C e na ausência de oxigênio, e quatro

bandas na presença de oxigênio. Quando a temperatura de crescimento das plântulas foi de 25°C em aerobiose e em anaerobiose, foram observadas quatro bandas da EST nas plântulas de todos os genótipos. Romero et al. (1993), observaram duas zonas de atividade nos zimogramas de EST, com algumas variações de mobilidade das bandas entre os genótipos. Wu et al. (1997) apud Bonow (1999), analisando isoenzimas de esterase em 848 acessos de arroz, concluíram que a maioria deles apresentava de duas a quatro bandas eletroforéticas.

A enzima esterase está relacionada com o catabolismo de lipídeos, fonte de carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (BEWLEY & BLACK, 1994), uma vez que o maquinário fotossintetizante não está preparado para suprir toda a demanda de carbono requerida pela planta.

A enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) esteve presente em todos os tratamentos avaliados não diferindo significativamente entre si (Tabela 4). Quanto aos cultivares avaliados, observou-se maior atividade da GOT no cultivar ARRANK do que no BRS PELOTA, BR IRGA 410 e BR IRGA 417.

Segundo Stryer (1996) a aspartato transaminase, nomenclatura que, conforme Alfnas (1998) também designa a enzima GOT é uma das mais importantes transaminases, pois catalisa a transferência da amina do aspartato para o  $\alpha$ -cetogluturato: aspartato +  $\alpha$ -cetogluturato = oxaloacetato + glutamato. O glutamato sofre desaminação oxidativa para liberar  $\text{NH}_4^+$  para a formação de novos aminoácidos (RIEGEL, 1998; LEHNINGER et al., 1995).

TABELA 4. Atividade da enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	GOT – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	13,418 a A	14,267 a B	15,745 a B	10,862 a B
2- Quinclorac ep. 1	18,401 a A	11,941 a B	13,626 a B	12,117 a B
3- Propanil ep. 1	21,778 a A	11,441 a B	11,532 a B	16,503 a B
4- Byspiribac ep. 1	20,552 a A	14,217 a B	14,356 a B	21,222 a B
5- Clomazone ep. 2	18,075 a A	17,185 a B	10,852 a B	12,732 a B
6- Quinclorac ep. 2	21,337 a A	14,357 a B	18,180 a B	14,642 a B
7- Propanil ep. 2	22,138 a A	13,519 a B	11,401 a B	17,533 a B
8- Byspiribac ep. 2	25,607 a A	10,186 a B	16,438 a B	19,421 a B
9- Testemunha	16,746 a A	16,109 a B	11,152 a B	17,117 a B
Médias	19,784	13,691	13,698	15,794
CV fator A <sup>1</sup> (%)	9,71			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	25,77			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Analisando o zimograma da enzima GOT foram observadas duas bandas nos tratamentos, o que coincide com os resultados encontrados por Romero et al. (1993), os quais apresentaram duas bandas e que se mostraram distintas em cada genótipo, e por Wielewicki (2001). Já Bonow (1999) detectou três bandas de GOT nos genótipos por ele estudados.

Com relação à enzima malato desidrogenase (MDH) não foi observado diferença significativa entre os tratamentos avaliados (Tabela 5), enquanto que o cultivar BR IRGA 410 mostrou uma maior atividade da MDH mas não diferiu significativamente do ARRANK e BRS PELOTA.

TABELA 5. Atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	MDH – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	20,838 a A B	21,340 a A B	22,573 a A	16,787 a B
2- Quinclorac ep. 1	19,818 a A B	23,288 a A B	24,442 a A	20,553 a B
3- Propanil ep. 1	21,292 a A B	20,569 a A B	26,230 a A	20,297 a B
4- Byspiribac ep. 1	17,414 a A B	17,478 a A B	21,922 a A	16,383 a B
5- Clomazone ep. 2	22,043 a A B	23,793 a A B	22,617 a A	22,740 a B
6- Quinclorac ep. 2	20,508 a A B	22,162 a A B	23,351 a A	11,851 a B
7- Propanil ep. 2	24,625 a A B	20,587 a A B	24,297 a A	23,327 a B
8- Byspiribac ep. 2	13,610 a A B	16,375 a A B	12,627 a A	18,131 a B
9- Testemunha	20,983 a A B	19,909 a A B	23,075 a A	15,585 a B
Médias	20,125	20,611	22,348	18,406
CV fator A <sup>1</sup> (%)	14,38			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	18,01			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Observando-se as zonas de atividade no zimograma de MDH, todos os cultivares em todos os tratamentos apresentaram duas bandas, diferente do que foi observado por Romero et al. (1993), que encontrou três zonas de atividade para essa enzima o que, segundo esses autores, reflete a divergência dos genomas estudados para esse sistema de enzimas.

A MDH ocorre tanto na matriz mitocondrial como no citoplasma das células. Nas mitocôndrias atua nas duas reações finais do ciclo do ácido cítrico, o fumarato é hidratado para produzir malato, que é subsequenteamente oxidado pela MDH, para regenerar Oxaloacetato (OAA) e produzir outra molécula de NADH. O OAA produzido será capaz de reagir com outro acetil-CoA e continuar o ciclo, o NADH produzido será oxidado na fosforilação oxidativa para produção de ATP (TAIZ & ZEIGER, 2004).

No citoplasma a MDH catalisa a reação de OAA (derivado do fosfoenolpiruvato) para malato produzindo NAD<sup>+</sup> que é necessário para a glicólise. A MDH também atua no ciclo do glioxilato na oxidação do malato a OAA que se combina com uma outra acetil-CoA para continuar o ciclo, dentro do glioxissomo, e no citosol quando oxida o malato transportado da mitocôndria

em OAA o qual será convertido a fosfoenolpiruvato que será metabolizado para produzir sacarose pela rota gliconeogênica (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A atividade da enzima glutamato desidrogenase (GTDH) não mostrou diferença significativa entre os 9 tratamentos avaliados (Tabela 6). Com relação aos cultivares avaliados o BR IRGA 417 manifestou uma maior atividade para GTDH do que os outros, sendo que entre os cultivares BR IRGA 410 e ARRANK não houve diferença significativa. Conforme zimograma da GTDH, todos os cultivares e tratamentos apresentaram uma única banda de atividade para esta enzima.

TABELA 6. Atividade da enzima glutamato desidrogenase (GTDH) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	GTDH – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	3,650 a B C	2,578 a C	5,838 a B	9,365 a A
2- Quinclorac ep. 1	5,080 a B C	2,744 a C	8,432 a B	10,120 a A
3- Propanil ep. 1	3,723 a B C	3,862 a C	7,456 a B	12,053 a A
4- Byspiribac ep. 1	8,445 a B C	2,549 a C	8,702 a B	10,924 a A
5- Clomazone ep. 2	4,818 a B C	3,123 a C	3,257 a B	10,667 a A
6- Quinclorac ep. 2	6,412 a B C	3,506 a C	5,112 a B	8,331 a A
7- Propanil ep. 2	2,054 a B C	3,702 a C	3,606 a B	12,036 a A
8- Byspiribac ep. 2	4,217 a B C	5,488 a C	7,210 a B	6,106 a A
9- Testemunha	3,049 a B C	3,770 a C	4,620 a B	6,728 a A
Médias	4,605	3,480	3,359	9,592
CV fator A <sup>1</sup> (%)	32,89			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	45,07			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

A GTDH é uma enzima que catalisa uma reação reversível que sintetiza ou desamina o glutamato ( $2\text{-oxoglutarato} + \text{NH}_4^+ + \text{NAD(P)H} \leftrightarrow \text{glutamato} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD(P)}^+$ ). Esta é uma rota alternativa de assimilação do amônio. Embora esta enzima seja relativamente abundante, ela não pode substituir a rota da glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT) para a assimilação do

amônio, tendo como função principal desaminar o glutamato (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A atividade da enzima fosfogluco isomerase (PGI) pode ser observado na Tabela 7. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados. Já entre os cultivares estudados, observou-se uma maior atividade da enzima PGI nos cultivares ARRANK e BR IRGA 410.

TABELA 7. Atividade da enzima fosfogluco isomerase (PGI) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	PGI – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	102,331 a A	59,017 a B	79,666 a A	43,643 a C
2- Quniclorac ep. 1	119,175 a A	54,930 a B	88,389 a A	43,388 a C
3- Propanil ep. 1	100,104 a A	42,724 a B	99,201 a A	30,226 a C
4- Byspiribac ep. 1	93,444 a A	51,015 a B	88,303 a A	36,024 a C
5- Clomazone ep. 2	94,533 a A	64,756 a B	100,919 a A	54,788 a C
6- Quinclorac ep. 2	100,660 a A	52,686 a B	106,665 a A	41,998 a C
7- Propanil ep. 2	92,674 a A	44,238 a B	67,321 a A	58,524 a C
8- Byspiribac ep. 2	92,895 a A	55,141 a B	132,161 a A	26,157 a C
9- Testemunha	102,316 a A	54,247 a B	123,995 a A	40,594 a C
Médias	99,792	53,195	98,513	41,704
CV fator A <sup>1</sup> (%)	13,70			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	21,16			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Analisando os zimogramas para a enzima PGI observou-se a presença de cinco bandas em todos os tratamentos avaliados. Em análises realizadas por Bonow (1999) em sementes e em folhas de arroz, foi detectado oito bandas para a enzima PGI. Augustin et al. (1997), analisando isoenzimas de fosfogluco isomerase em arroz irrigado, encontraram padrões similares aos encontrados por Bonow (1999) nas cultivares BRS 6 (Chuí), BRS 7 (Taim), BRS Agrisul, BR IRGA 409 e em arroz vermelho.

O comportamento da enzima fosfatase ácida (ACP) pode ser observado na Tabela 8 através da massa total da enzima no gel. Foram detectadas bandas de ACP em todos os tratamentos avaliados porém, não foi observado



diferenças significativa. A atividade da enzima ACP foi maior no cultivar BRS PELOTA não havendo diferença entre os cultivares ARRANK, BR IRGA 410 e BR IRGA 417.

TABELA 8. Atividade da enzima fosfatase ácida (ACP) em plântulas de arroz dos cultivares ARRANK, PELOTA, IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados

Tratamentos	ACP – massa (ng)			
	ARRANK	PELOTA	IRGA 410	IRGA 417
1- Clomazone ep. 1	18,788 a A B	22,161 a A	18,455 a B	15,772 a A B
2- Quinclorac ep. 1	16,019 a A B	15,103 a A	14,901 a B	20,017 a A B
3- Propanil ep. 1	17,919 a A B	21,280 a A	12,280 a B	18,168 a A B
4- Byspiribac ep. 1	24,068 a A B	25,767 a A	18,036 a B	15,654 a A B
5- Clomazone ep. 2	13,783 a A B	24,659 a A	12,258 a B	21,355 a A B
6- Quinclorac ep. 2	20,269 a A B	17,472 a A	18,529 a B	20,306 a A B
7- Propanil ep. 2	18,634 a A B	18,969 a A	14,721 a B	16,696 a A B
8- Byspiribac ep. 2	15,400 a A B	20,386 a A	18,345 a B	16,793 a A B
9- Testemunha	14,666 a A B	20,929 a A	15,775 a B	23,210 a A B
Médias	17,727	20,747	15,922	18,663
CV fator A <sup>1</sup> (%)	19,13			
CV fator B <sup>2</sup> (%)	27,21			

<sup>1</sup>Fator A – Cultivares.

<sup>2</sup>Fator B - Tratamentos.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro dos tratamentos e cultivares, não diferem estatisticamente pelo Teste de Duncan a 5%.

Foi detectado duas bandas para a ACP em todos os tratamentos avaliados. Trabalhos realizados por Bonow (1999) e Guidolin (1993), encontraram sete bandas para ACP em plântulas de arroz. Já Wielewicki (2001) detectou seis bandas para a enzima ACP em vários genótipos avaliados.

A ACP é uma enzima largamente distribuída no reino vegetal. É uma hidrolase capaz de clivar ésteres de fosfato, transformando o fosfato da forma orgânica para a forma inorgânica. Tem sido sugerido que ela pode, sob certas condições, estar envolvida na mobilização de reservas de nutrientes da planta, no transporte ativo de açúcares e outros compostos através da membrana, na diferenciação de plastídeos ou ainda no processo de senescência (BRESEGHELO et al. 1992).

Para as seis enzimas estudadas foi realizado o Teste F para contrastes entre os níveis de tratamentos, época 1 e época 2, onde não foi observado diferença estatística entre os contrastes avaliados.

## CONCLUSÕES

- Não foi observado efeito residual dos herbicidas estudados tanto na qualidade fisiológica como na atividade enzimática de sementes de arroz;
- As épocas de aplicação dos herbicidas não afetaram a qualidade fisiológica e a atividade enzimática de sementes de arroz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINETTO, D.; FLECK, N.G.; MENEZES, V.G. Herbicidas não seletivos aplicados na fase de maturação do arroz irrigado. **Sci. Agric.**, v.58, n.2, p.277-285. 2001.

ALFENAS, A.C. **Eletroforese de Enzimas e Proteínas Afins**. Viçosa:UFV, 1998. 574p.

AOSA - ASSOCIATION OF SEED ANALISTS. **Seed vigour testing handbook**. AOSA, 1983. 93p. (Contribution, 32).

AUGUSTIN, E.; FRANCO, D.F.; TERRES, A.L.S. Detecção de mistura varietal e caracterização de cultivares de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) através de padrões isoenzimáticos. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 22, 1997, Camboriú. **Anais...** Itajaí: EPAGRI, 1997. p.84-86.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds – Physiology of Development and Germination**. 2ed. New York. Plenum Press. 1994. 445p.

BONOW, S.; AUGUSTIN, E.; FRANCO, D.F.; PETERS, J.A.; TERRES, A.L.S. Caracterização isoenzimática de genótipos de arroz. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.36, n. 2, p. 291-300. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/download/safra/ArrozSerieHist.xls>. Acesso em 24 out. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BRESEGHELO, M.L.; OLIVEIRA, I.P.; THUNG, M.D.T. Respostas de cultivares de feijão ao teste de fosfatase ácida. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 647-654. 1992.

BROWN, H.M. Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. **Pesticide Science**, London, v. 29, p. 263-281, 1990.

BRUGGINK, H.; KRAAK, H.L.; DIJKEMA, M.H.G.E. Some factors influencing electrolyte leakage from maize (*Zea mays* L.). **Seed Science and Technology**. n.1, v.1, p.15-20, 1991.

COBB, A. **Herbicides and plant physiology**. London: Chapman & Hall, 1<sup>a</sup> ed, 1992, 315p.

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

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220p.

GUIDOLIN, A.F. **Caracterização de genótipos de arroz irrigado por técnicas eletroforéticas**. Pelotas. 1993. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 1993.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. (ed). **Handbook of vigour test methods**. Zurich, International Seed Testing Association. 3ed. 117p., 1995.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Handbook of variety testing**. Zurich, 1992. 44p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **Handbook of Vigour Test Methods**. 3 ed. Zurich, 1995, 117p.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, v.1, n.2, p. 1-50, 1991.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2 ed. São Paulo, SARVIER, 1995. 839p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 495p., 2005.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba, Fealq, 230p., 1987.

MEDIA CYBERNETICS. **Gel-Pro Analyser Version 3.0 for Windows User's Guide**. Media Cybernetics, L.P Silver Spring, 1997.

MENEZES, V.G.; RAMIREZ, H. Competitividade e sustentabilidade na produção de arroz irrigado. **Seed news**. Pelotas, n 5, p. 16-18, set.-out. 2004.

NORMAN, M.A.; LIEBL, R.A.; WIDHOLM, J.M. Uptake and metabolism of clomazone in tolerant-soybean and susceptible-cotton photomixotrophic cell suspension cultures. **Plant physiology**, Rockville, v. 92, n. 5, p. 777-784, 1990.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Evaluation of the physiological potential of tomato seeds. **Seed Technology**, v. 23, n. 2, p. 151-161, 2001.

PAYNE, R.C. Electrophoresis testing procedure used by Federal Seed Laboratory to help distinguish varieties. **Federal Seed Lab. Bull.** 20p., 1985.

RANGEL, P.H.N.; GUIMARÃES, E.P.; NEVES, P.C.F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 349-357, 1996.

RECH, E.G.; VILLELA, F.A.; TILLMANN, M.A.A. Avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 1999.

RIEGEL, R.E. **Bioquímica**. São Leopoldo. Ed. Unissinos, 1998. 401p.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.L.S.de. **Guia de herbicidas**. Londrina, 1998 648p.

ROMERO, G.O.; AMANTE-BORDEOS, A.D.; DALMACIO, R.D.; ELLORAN, R.; SITCH, L.A. Comparative studies of isozymes in *Oryza sativa*, *O. minuta*, and their interespecific derivatives: evidence for homoeology and recombination. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 87, p. 609-615. 1993.

SCANDALIOS, J.G. Genetic control of múltiple molecular forms of encimes in plants: a review. **Biochemical Genetics**, New York, v.3, p.37-39, 1969.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz Irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Itajaí, SC: SOSBAI, 2003. 126p.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. 1996. 1000p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed. 719p. 2004.

VIDAL, R.A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti, 1997, 165p.

VIDAL, R.A.; MEROTTO Jr., A. **Herbicidologia**. Porto Alegre: editores, 2001, 152p.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D.; França Neto, J.B. (ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Abrates, 1999. cap. 4, p. 1-26.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores – SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986, 150p.

WIELEWICKI, A.P. **Efeito de aerobiose e anaerobiose sobre a atividade enzimática e desenvolvimento inicial de plântulas de *Oryza sativa* L.** Pelotas. 2001. 61f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2001.

WU, X.M.; CHEN, C.B.; LI, D.Y. Esterase isozymes in the wild rices of Guangxi. **National Agriculture Library**. Disponível em: <<http://www.probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/rgn/rgn3/v3I10.html>>. Acesso em: 21 fev. 1997.

YOKOYAMA, L.P.; RUCATTI, E.G.; KLUTHCOUSKI, J. Economia da produção: conjuntura, mercados e custos. In: VIEIRA, N.R.A.; SANTOS, A.B.; SANT'ANA, E.P. (Eds.) **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 1999. p.36-57.

ANEXOS



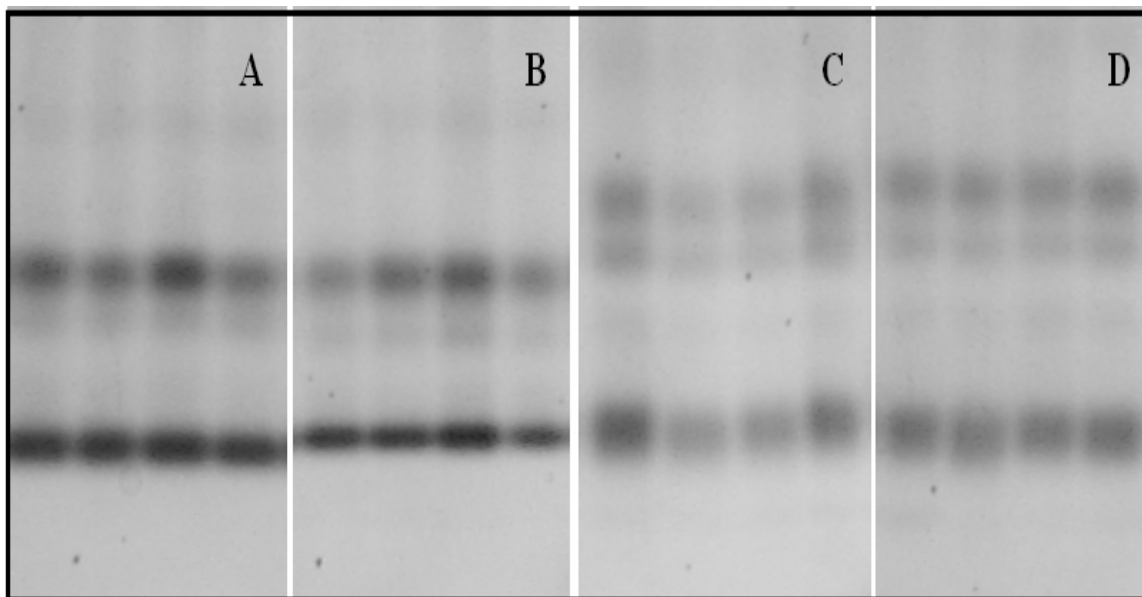


FIGURA 1. Zimograma de esterase (EST) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417(D).

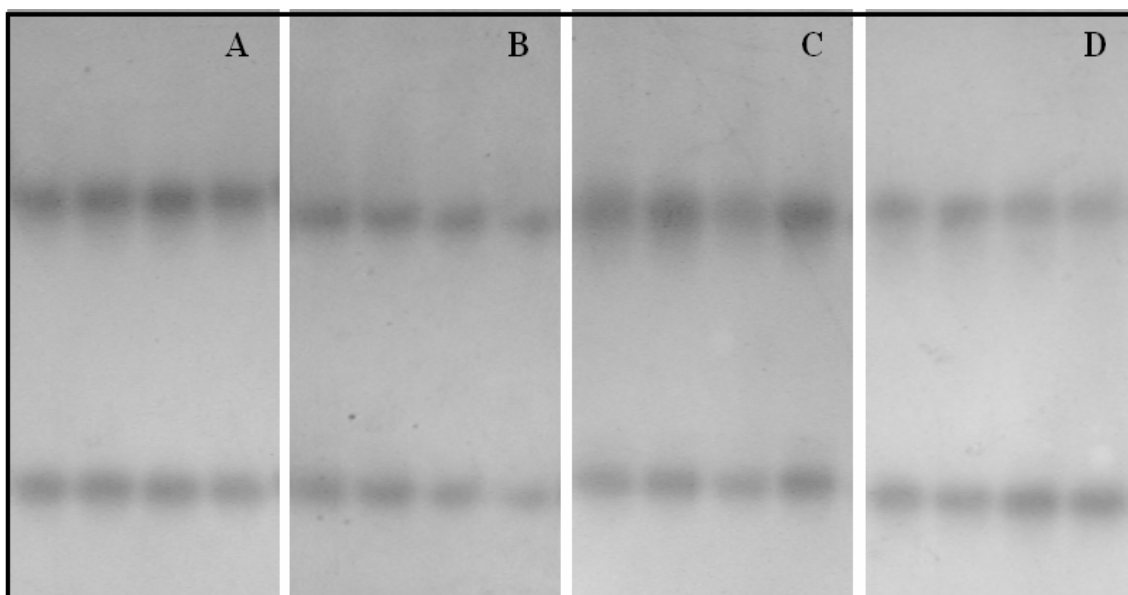


FIGURA 2. Zimograma de glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417 (D).

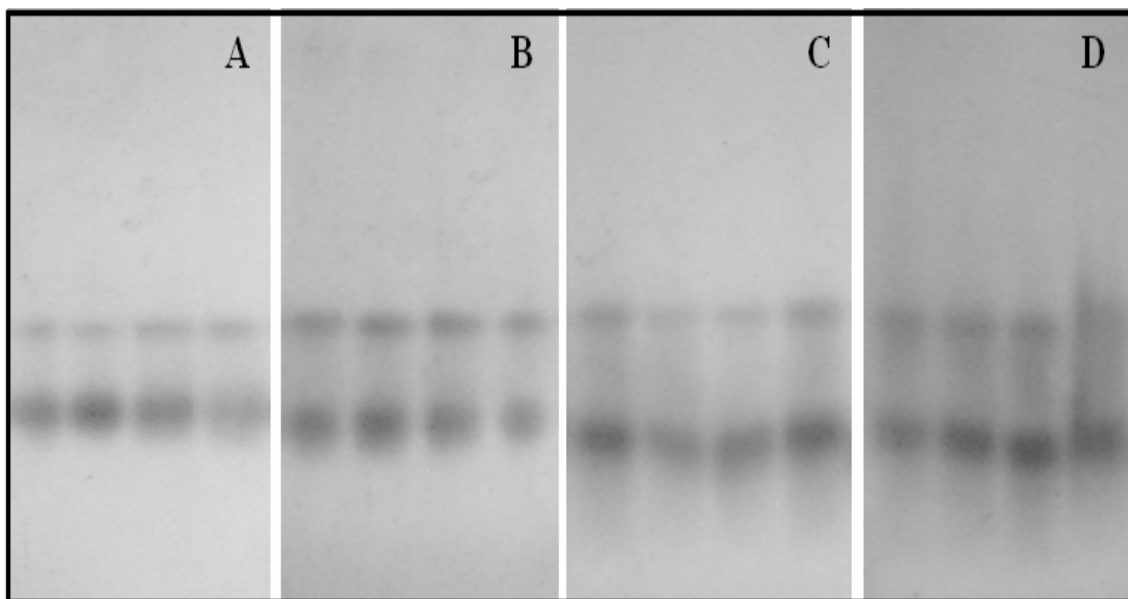


FIGURA 3. Zimograma de malato desidrogenase (MDH) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417 (D).

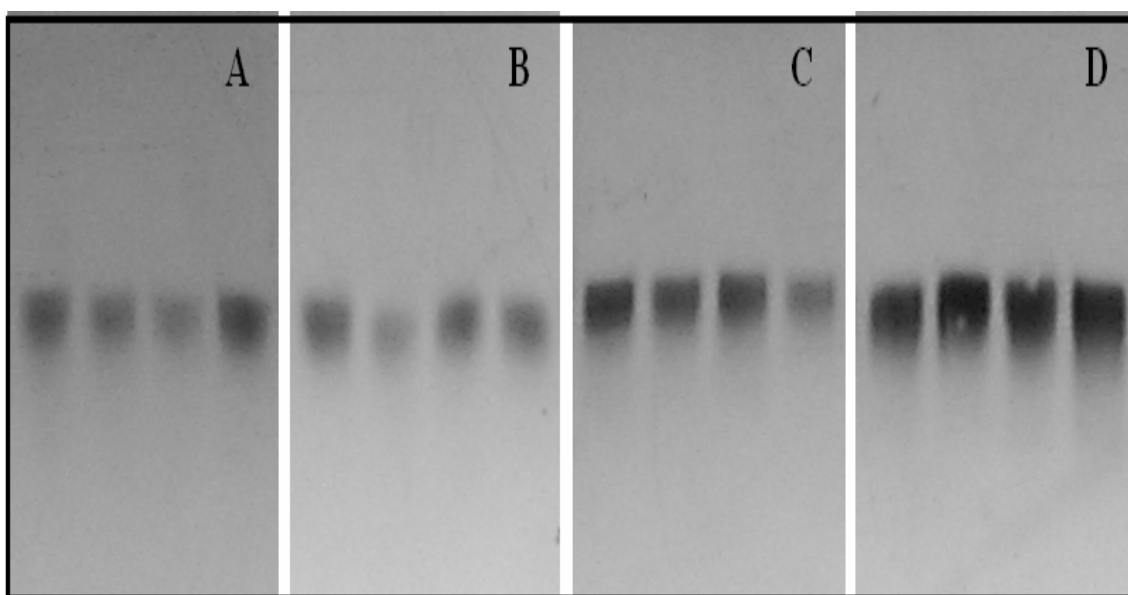


FIGURA 4. Zimograma de glutamato desidrogenase (GTDH) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417 (D).

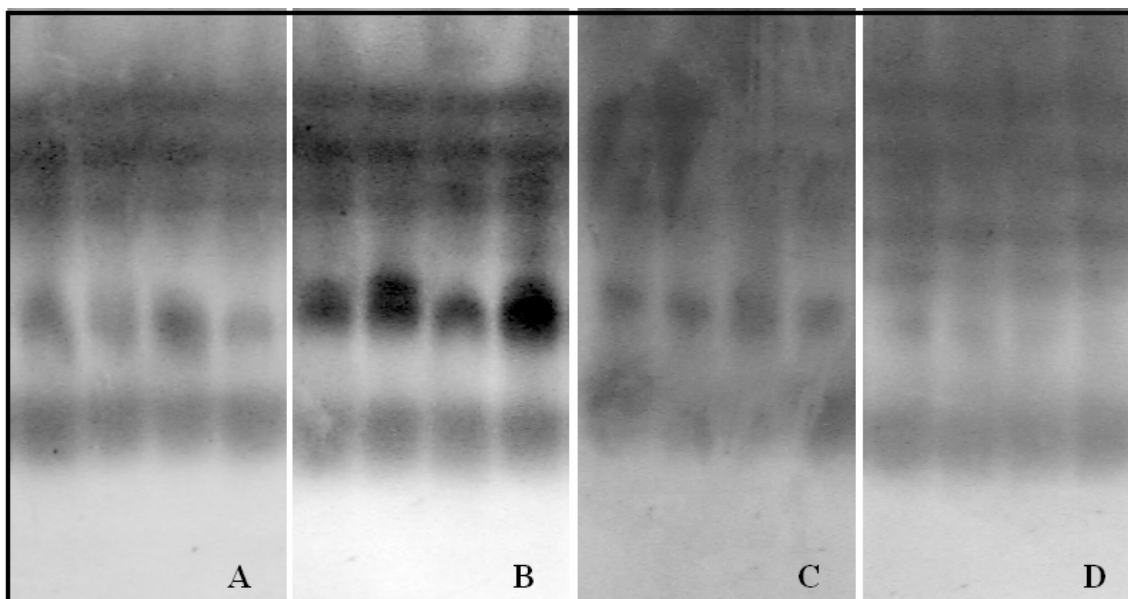


FIGURA 5. Zimograma de fosfogluco isomerase (PGI) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417 (D).

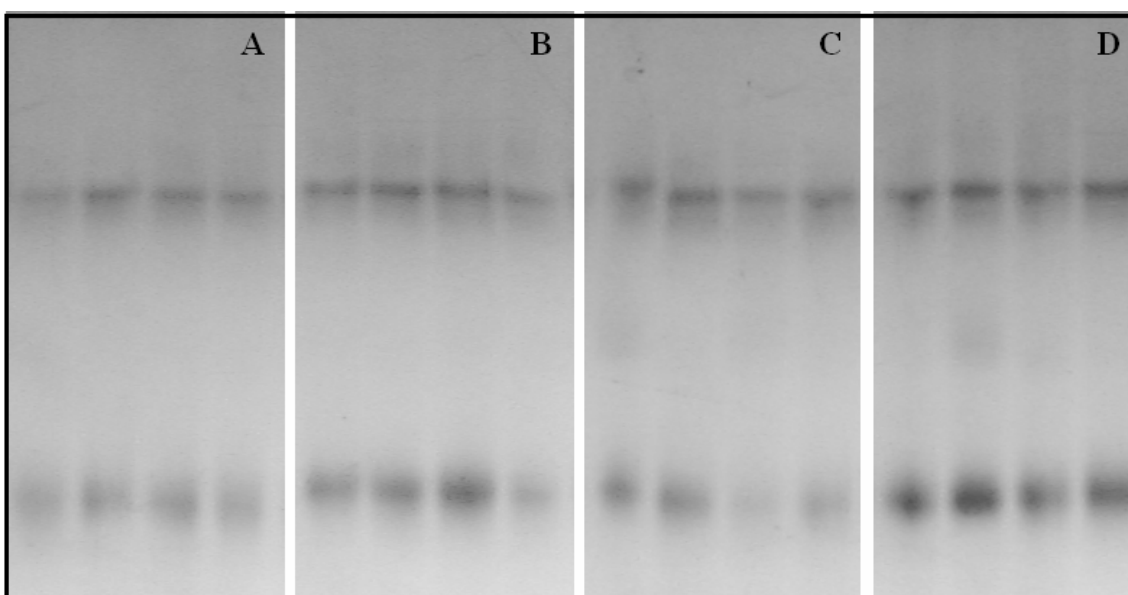


FIGURA 6. Zimograma de fosfatase ácida (ACP) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e BR IRGA 417 (D).

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)