

REFLEXOS DO MECANISMO DE AÇÃO DE HERBICIDAS NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM PLÂNTULAS DE ARROZ¹

RODRIGO FERREIRA MACHADO², ANTONIO CARLOS SOUZA ALBUQUERQUE BARROS³,
PAULO DE JALMA ZIMMER³, ADEMIR DOS SANTOS AMARAL⁴

RESUMO - O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito residual de herbicidas na qualidade fisiológica e na atividade enzimática em plântulas de arroz. Foram testados quatro herbicidas (clomazone, quinclorac, propanil, bispiribac-sodium) em duas épocas de aplicação e quatro cultivares de arroz (ARRANK, BRS-PELOTA, BR-IRGA 410 e BR-IRGA 417). Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes foram realizados os testes de germinação, de frio e de condutividade elétrica. Quanto à atividade enzimática foram avaliadas as enzimas: esterase, glutamato oxaloacetato transaminase, malato desidrogenase, glutamato desidrogenase, fosfogluco isomerase e a fosfatase ácida. Herbicidas com mecanismos de ação diferentes, podem modificar o desempenho fisiológico de sementes de arroz, ao serem aplicados em pós-emergência. A expressão enzimática varia em função do genótipo e não decorrente do efeito residual do herbicida.

Termos para indexação: *Oryza sativa*, germinação, enzimas.

REFLEXES OF THE MECHANISM OF HERBICIDES ACTION IN SEED PHYSIOLOGIC QUALITY AND IN THE ENZYMATIC ACTIVITY OF RICE SEEDLINGS

ABSTRACT - The present work had the objective of evaluating 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, bispiribac-sodium) in two application times and four rice cultivars (ARRANK, BRS-PELOTA, BR-IRGA 410 and BR-IRGA 417). To evaluate the physiologic quality of the seeds the germination test, cold test and electric conductivity were accomplished. For the enzymatic activity it was evaluated the following enzymes: esterase, glutamate oxaloacetate transaminase, malate dehydrogenase, glutamate dehydrogenase, phosphoglucose isomerase and the acid phosphatase. The herbicides of different mechanisms of action in post emergence application, can modify rice physiologic performance. The enzymatic expression varies as a function of the genotype and it is not dependent of the herbicide residual effect.

Index terms: *Oryza sativa*, germination, enzymes.

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 6,0t.ha⁻¹ (Brasil, 2004), pode ser considerada baixa, comparativamente 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,

¹ Submetido em 19/09/2005. Aceito para publicação em 24/07/2006. Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes -FAEM/UFPeI;

² Eng. Agrônomo, Dr., Professor da UERGS, Três Passos-RS, rfm.agro@terra.com.br;

³ Eng. Agrônomo., Dr., Professor, Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPeI, Caixa Postal: 354, CEP 96001-970, Pelotas-RS, acbarros@ufpel.edu.br;

⁴ Eng. Agrônomo., Dr., Pesquisador.

não foram suficientes em favorecer a expressão do potencial dos cultivares modernos, com capacidade produtiva superiores a 8,0t.ha⁻¹ (Yokoyama et al., 1999).

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 bysribac-sodium pertencente ao grupo químico pirimidil carboxy, é indicado para o controle em pós-emergência de gramíneas, ciperáceas e algumas dicotiledôneas (Rodrigues e Almeida, 1998), apresenta o mecanismo de ação denominado de inibidores de ALS. Os inibidores da ALS, inibem a enzima acetolactato sintase (ALS), também chamada acetohidroxiacetato sintase (AHAS). A enzima ALS é a primeira enzima da rota de síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada, denominadas valina, leucina e isoleucina.

A enzima 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 enzima ALS requer FAD, tiamina pirofosfato (TPP) e Mg⁺² ou Mn⁺² para ser ativada (Vidal e Merotto Jr., 2001).

A inibição do crescimento das plantas é detectada uma a duas 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 G₂ para mitose e de G₁ 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 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 (Norman et al., 1990; Devine et al., 1993).

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 singletto (¹O₂), 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 3Chl . Na presença dos herbicidas inibidores de carotenóides, ocorre acúmulo de radicais livres e conseqüentemente prejuízo para as células (Vidal e Merotto Jr., 2001).

O quinclorac herbicida, pertencente ao grupo químico quinolinas, 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, ativa 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. 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.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito residual de herbicidas na qualidade fisiológica de 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 nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Bio-Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel na Universidade Federal de Pelotas, no ano agrícola 2003/04.

Foram utilizadas sementes de arroz dos cultivares BR-IRGA 410, BR-IRGA 417, BRS PELOTA E ARRANK, e os herbicidas byspiribac-sodium, clomazone, quinclorac e propanil em duas épocas de aplicação (15 e 25 dias após a emergência).

Os tratamentos consistiram em: a) clomazone época 1, b) quinclorac época 1, c) propanil época 1, d) byspiribac-sodium época 1, e) clomazone época 2, f) quinclorac época 2, g) propanil época 2, h) byspiribac-sodium época 2 e i) testemunha.

A semeadura foi realizada em novembro de 2003, sob sistema convencional de preparo do solo. Foram avaliados em uma combinação fatorial nove tratamentos e quatro cultivares, utilizando o delineamento experimental de blocos em parcela dividida, com três repetições. As parcelas foram constituídas por quatro linhas de quatro metros de comprimento, espaçadas de 30 centímetros. Os cultivares foram alocados em subparcelas e os tratamentos nas parcelas. A colheita foi realizada em março de 2004.

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 (quatro amostras de 50) por tratamento, num germinador com temperatura de 25°C. Para 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 e Carvalho (1994), com quatro amostras 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 mantidos em câmara fria, onde permaneceram por 7 dias a uma 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, que apresentaram comprimento total mínimo de 2,5cm. Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido conforme a ISTA (1995), utilizando-se 75mL 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 quatro amostras 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⁻¹ e corrente elétrica de 25mA 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 sete 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 duas partes de volume para uma 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^(TM) (MEDIA CYBERNETICS, 1997), com o qual também foi calculada as massas das bandas.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelos testes de Duncan a 5% de significância, realizados no programa SANEST (Zonta et al., 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos no experimento, observou-se que os produtos químicos utilizados, de maneira geral, 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.

Nos testes de germinação e de frio, os lotes de sementes dos cultivares PELOTA e IRGA 410, apresentaram desempenho inferior relativamente aos lotes dos cultivares ARRANK e IRGA 417.

No teste de condutividade elétrica, o lote do cultivar IRGA 417 teve desempenho superior, os lotes das cultivares ARRANK e IRGA 410, intermediários e o do cultivar BRS PELOTA, desempenho inferior.

Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos químicos, no teste de germinação, para o cultivar ARRANK, verificou-se que nos tratamentos com Propanil e Byspiribac, aplicado nas épocas 1 e 2 e Clomazone, aplicado na época 2, as sementes apresentaram germinação com 6 a 7 pontos percentuais superior à testemunha.

Os resultados do teste de frio, no cultivar BRS PELOTA, mostraram nos tratamentos Propanil, na época 1, Clomazone; Quinclorac e Byspiribac aplicados na época 2, superioridade de 12 a 14 pontos percentuais relativamente à testemunha.

No cultivar IRGA 410, verificou-se a superioridade do tratamento Quinclorac, época 1 de 9 pontos percentuais e inferioridade do tratamento Clomazone, época 1, igual a 7 pontos percentuais em relação à testemunha.

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 sementeiras a

TABELA 1. Resultados dos testes de germinação e de frio em sementes de arroz dos cultivares ARRANK, BRS PELOTA, BR IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados. Pelotas, RS, 2003/04.

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	95 a	92 a	95 a	85 a	76 a	70 a	88 a
2- Quinlorac ep. 1	95 a	92 a	96 a	96 a	86 a	77 a	86 a	84 a
3- Propanil ep. 1	97 a	94 a	94 a	94 a	86 a	81 a	78 a	87 a
4- Byspiribac ep. 1	98 a	91 a	92 a	98 a	91 a	67 a	75 a	86 a
5- Clomazone ep. 2	97 a	93 a	93 a	99 a	86 a	80 a	81 a	84 a
6- Quinlorac ep. 2	96 a	93 a	93 a	97 a	87 a	81 a	78 a	87 a
7- Propanil ep. 2	97 a	94 a	91 a	95 a	84 a	71 a	77 a	87 a
8- Byspiribac ep. 2	97 a	94 a	94 a	96 a	89 a	79 a	81 a	82 a
9- Testemunha	91 a	93 a	94 a	96 a	85 a	67 a	77 a	84 a
Médias	96 A	93 B	93 B	96 A	87 A	75 B	78 B	85 A
CV Cultivares (%)	2,02			4,14				
CV Tratamentos (%)	4,91			7,08				

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem pelo teste de Duncan a 5%.

TABELA 2. Resultados do teste de condutividade elétrica em sementes de arroz dos cultivares ARRANK, BRS PELOTA, BR IRGA 410 e IRGA 417, nos diferentes tratamentos avaliados. Pelotas, RS, 2003/04.

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

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

partir de setembro a meados de outubro na região Sul do Brasil.

O teste de condutividade elétrica está baseado na relação existente entre o vigor de sementes e a integridade dos sistemas de membranas celulares. Membranas mal estruturadas estão diretamente relacionadas com o processo de deterioração das sementes e, portanto, com sementes de baixo vigor (AOSA, 1983). 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.

A atividade da enzima esterase (EST), observada na Figura 1, não mostrou diferença entre os tratamentos avaliados. Os cultivares BRS PELOTA, BR IRGA 410 e 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

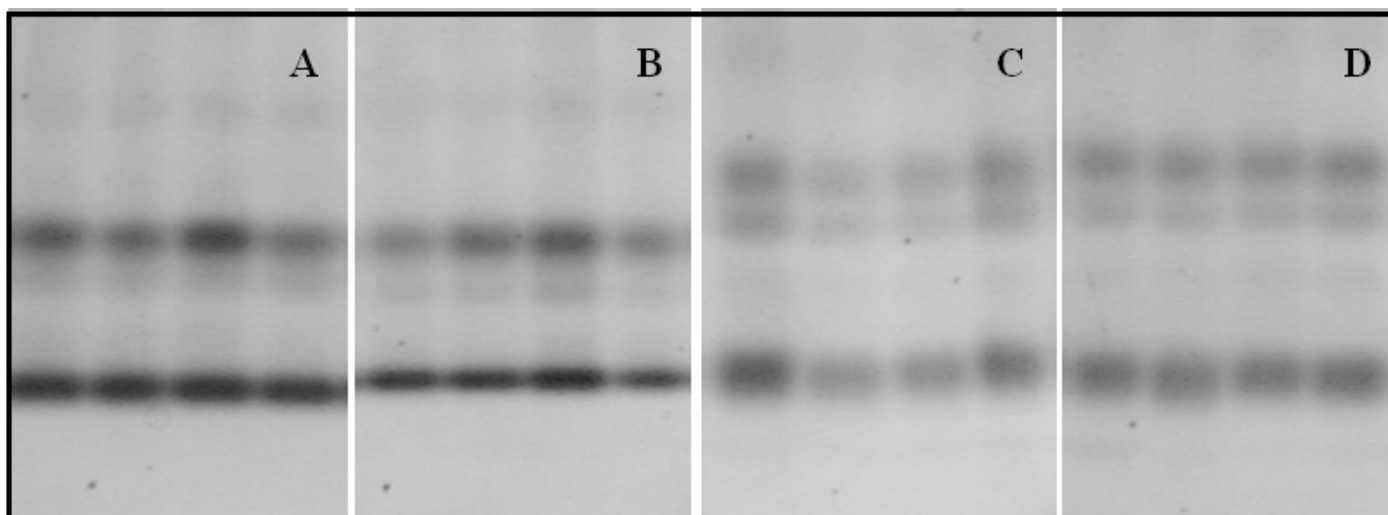


FIGURA 1. Zimograma de esterase (EST) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417(D).

agronômicas que dificultam a identificação varietal (Guidolin, 1993).

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

Os zimogramas de EST em plântulas (Figura 1) mostraram que os cultivares BRS PELOTA e ARRANK apresentaram duas bandas, enquanto BR IRGA 410 e BR IRGA 417 apresentaram três bandas. Bonow et al. (2001), detectaram 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 partes da planta que foram analisadas. Neste trabalho foi utilizada toda a plântula (folhas e raízes) para extração das enzimas. Bonow et al. (2001), por sua vez, utilizaram o terço médio das folhas para análises. Analisando enzimas de EST, Wielewicki (2001), 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.

A enzima esterase está relacionada com o catabolismo de lipídeos, fonte de carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (Bewley e 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 significativa entre si. 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 Alfenas (1998) também designa a enzima GOT é uma das mais importantes transaminases, pois catalisa a transferência da amina do aspartato para o á-cetoglutarato: aspartato + á-cetoglutarato = oxaloacetato + glutamato. O glutamato sofre desaminação oxidativa para liberar NH_4^+ para a formação de novos aminoácidos (Lehninger et al., 1995; Riegel, 1998).

Analisando o zimograma da enzima GOT (Figura 2) 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 et al. (2001) detectaram três bandas de GOT nos genótipos estudados.

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

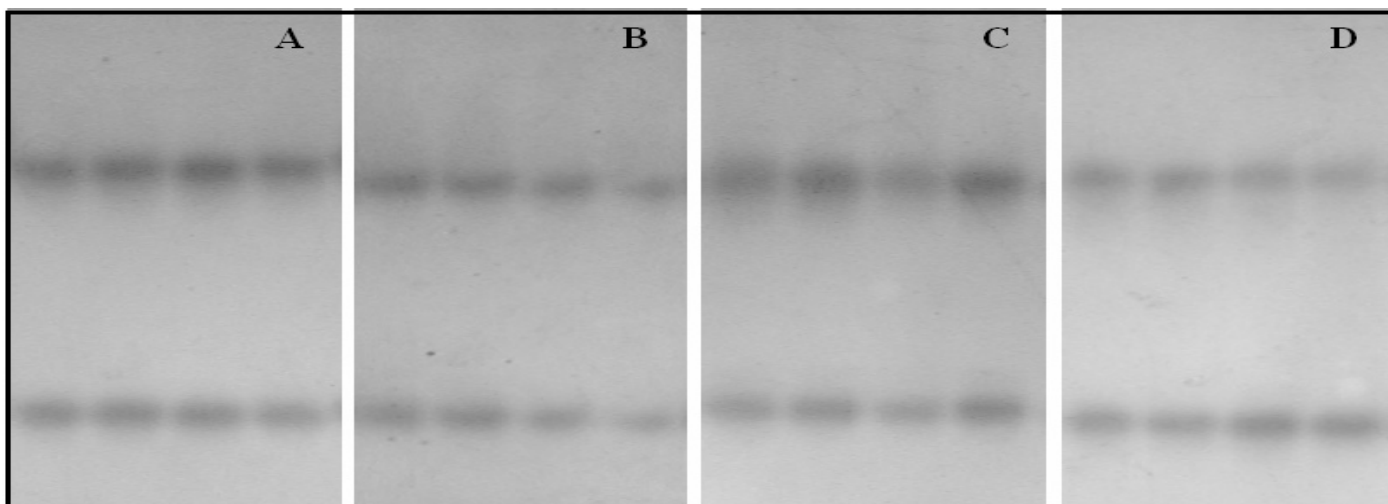


FIGURA 2. Zimograma de glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417 (D).

Observando-se as zonas de atividade no zimograma de MDH, todos os cultivares em todos os tratamentos apresentaram duas bandas (Figura 3), diferente do que foi observado por Romero et al. (1993), que encontraram três zonas de atividade para essa enzima o que, segundo esses autores, reflete a divergência dos genômas 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 subsequente oxidado pela MDH, para regenerar Oxaloacetato (OAA) e produzir outra molécula de NADH. A produção de OAA 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 e Zeiger, 2004).

No citoplasma, a MDH catalisa a reação de OAA (derivado

do fosfoenolpiruvato) para malato produzindo NAD^+ 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 e Zeiger, 2004).

A atividade da enzima glutamato desidrogenase (GTDH) não mostrou diferença significativa entre os nove tratamentos avaliados. 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 (Figura 4), todos os cultivares e tratamentos apresentaram uma única banda de atividade para esta enzima.

A enzima GTDH que catalisa uma reação reversível que

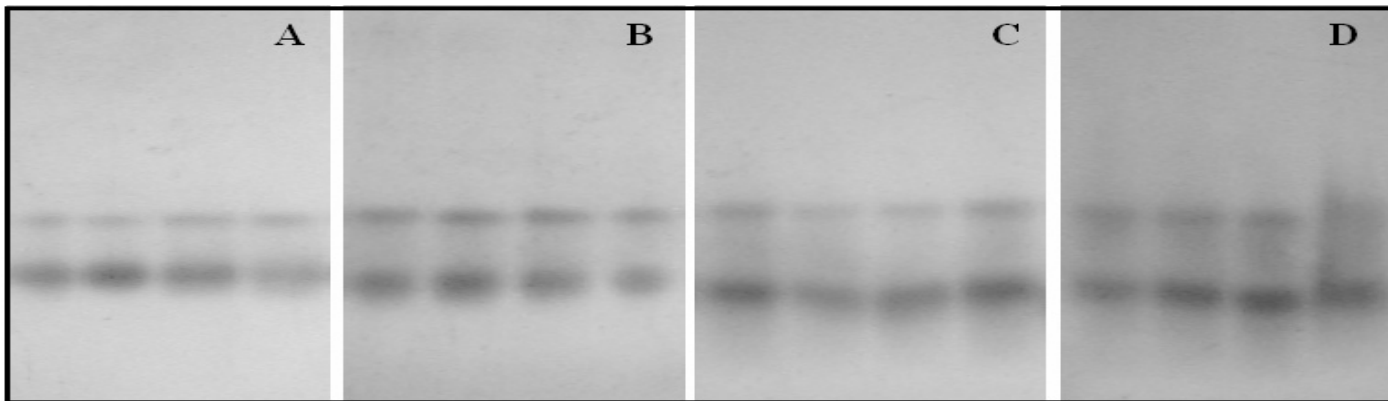


FIGURA 3. Zimograma de malato desidrogenase (MDH) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417 (D).

sintetiza ou desamina o glutamato ($2\text{-oxoglutarato} + \text{NH}_4^+ + \text{NAD(P)H} \text{ glutamato} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD(P)}^+$). 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 e Zeiger, 2004).

A atividade da enzima fosfogluco isomerase (PGI) pode ser observado na Figura 5. 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.

Analisando os zimogramas para a enzima PGI (Figura 5) observou-se a presença de cinco bandas em todos os tratamentos avaliados. Em análises realizadas por Bonow et al. (2001) em sementes e em folhas de arroz, foram detectadas oito bandas para a enzima PGI. Ao analisar isoenzimas de fosfogluco isomerase em arroz irrigado, Augustin et al. (1997), encontraram padrões similares aos encontrados por Bonow

et al. (2001) 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 Figura 6. 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.

Foram detectadas duas bandas para a ACP em todos os tratamentos avaliados (Figura 6). Trabalhos realizados por Bonow et al. (2001) e Guidolin (1993), mostraram 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

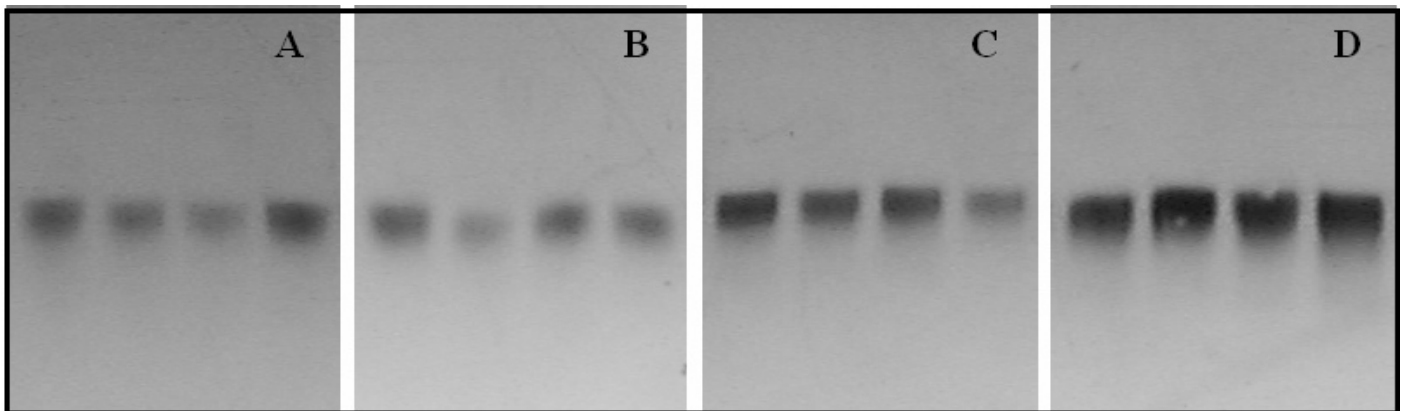


FIGURA 4. Zimograma de glutamato desidrogenase (GTDH) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417 (D).

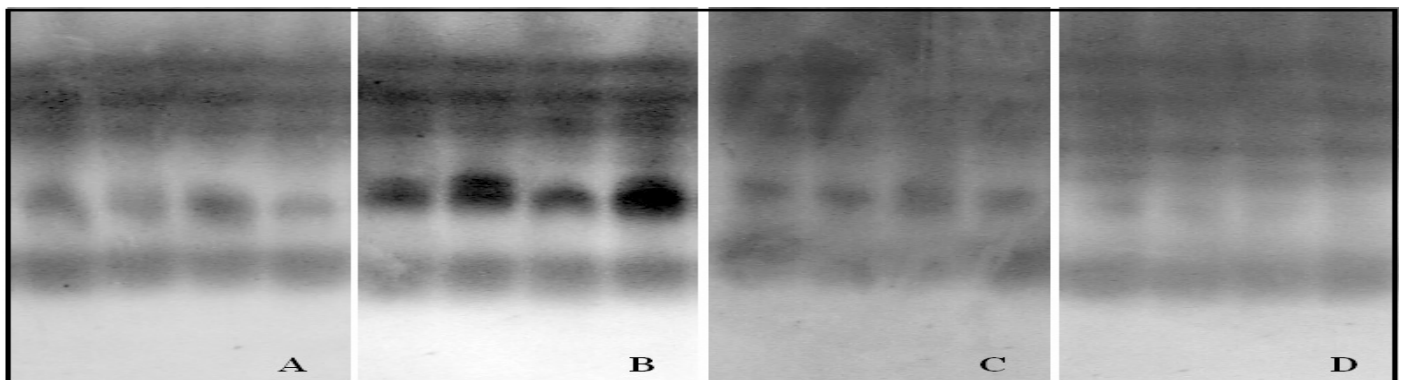


FIGURA 5. Zimograma de fosfogluco isomerase (PGI) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417 (D).

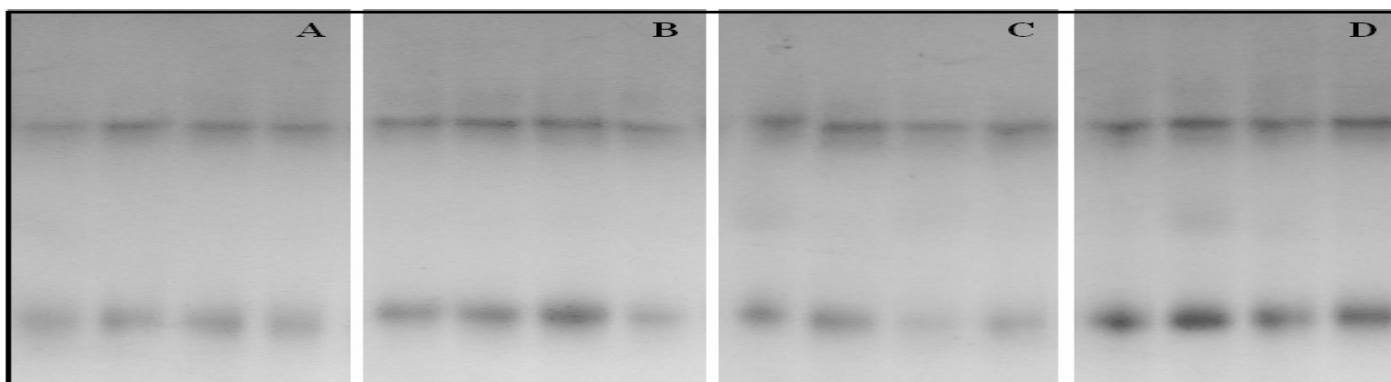


FIGURA 6. Zimograma de fosfatase ácida (ACP) obtido a partir de plântulas de arroz dos cultivares: BRS PELOTA (A), ARRANK (B), BR IRGA 410 (C) e IRGA 417 (D).

plastídeos ou ainda no processo de senescência (Breseghelo et al., 1992).

CONCLUSÕES

Herbicidas com mecanismos diferentes, aplicados em pós-emergência, podem modificar o desempenho fisiológico de sementes de arroz.

A expressão enzimática varia em função do genótipo e não decorrente de efeito residual do herbicida.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINETTO, D.; FLECK, N.G.; MENEZES, V.G. Herbicidas não seletivos aplicados na fase de maturação do arroz irrigado. *Scientia Agricola*, 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 ANALYSTS. **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. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 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. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 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 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.
- 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.
- MEDIA CYBERNETICS. **Gel-Pro Analyser Version 3.0 for Windows User's Guide**. Media Cybernetics, L.P Silver Spring, 1997.
- 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.
- 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. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.5, p.349-357, 1996.
- RIEGEL, R.E. **Bioquímica**. São Leopoldo. Ed. Unissinos, 1998. 401p.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.L.S. **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 interspecific derivatives: evidence for homoeology and recombination. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 87, p. 609-615. 1993.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemical Genetics**, New York, v.3, p.37-39, 1969.
- 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.
- 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.

