

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Sementes



Tese

**Respostas de cultivares de soja ao resíduo da mistura dos
herbicidas imazapyr e imazapic**

Diego Severo Fraga

Pelotas, 2016

DIEGO SEVERO FRAGA

**RESPOSTAS DE CULTIVARES DE SOJA AO RESÍDUO DA MISTURA DOS
HERBICIDAS IMAZAPYR E IMAZAPIC**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Sementes).

Orientador: Dr. Dirceu Agostinetto

Coorientadores: Dr. Francisco Amaral Villela

Dr. Leandro Vargas

Pelotas, 2016

Banca examinadora:

André Andres, Dr.

Edinalvo Rabaioli Camargo, Ph.D.

Paulo Dejalma Zimmer, Dr.

Francisco Amaral Villela, Dr.
(Coorientador)

Dirceu Agostinetto, Dr.
(Orientador)

Aos meus pais Sérgio e Nora Lúcia;
Aos meus irmãos Douglas e Marja;

OFEREÇO E DEDICO

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida e pela força, coragem e perseverança para trilhar este caminho.

Aos meus pais e meus irmãos que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Ao Professor Dirceu Agostinetto, exemplo de competência e profissionalismo, pela paciência na orientação, ensinamentos, incentivo, conselhos, amizade e confiança.

Ao Professor Francisco Amaral Villela, pela disponibilidade e paciência que sempre manifestou em ajudar-me, ensinamentos, amizade e incentivo.

Ao Professor Leandro Vargas, pelos ensinamentos, conselhos, amizade e disponibilidade do laboratório de plantas daninhas da Embrapa Trigo.

À minha madrinha Rita de Cássia Fraga Damé pela força e incentivo na realização da Pós-Graduação.

À querida Queli Ruchel pelo auxílio e apoio incondicional durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos Professores Luis Antonio de Avila, Jesus Juarez de Oliveira Pinto, Edinalvo Camargo, Geri Eduardo Meneghello, Lilian Madruga de Tunes, Paulo Dejalma Zimmer, Silmar Peske e Thiago Zanatta Aumonde pelo apoio e auxílio na etapa inicial da pesquisa.

Aos pesquisadores da Embrapa Clima Temperado André Andres, Ana Claudia Barneche e Giovani Theisen pelo auxílio, disponibilidade da área e das sementes de soja para execução do trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes pela oportunidade de realização do curso, ao secretário Antônio Carlos Bandeira pe apoio, e aos professores que contribuíram para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de doutorado.

Aos meus colegas e amigos do Centro de Herbologia (CEHERB) Ana Claudia Langaro, Andrés Antonio Monge Vargas, André da Rosa Ulguim, Bruno Moncks, Camila Tarouco, Cláudia de Oliveira, Daiane Benemann, Edna Souza, Fabio Schreiber, Fernanda Caratti, Franciele Mariani, Jader Job Franco, João Paulo Refatti, Joanei Cechin, Laís Perboni, Leonard Pivetta, Mariane Pertile, Marcos Nohatto, Nixon Westendorff, Queli Ruchel, Renan Zandoná, Theodoro Schneider, Vinicius Zimmer pela amizade, incentivo, auxílio na execução dos trabalhos e pelos momentos de convívio.

Aos meus colegas e amigos do laboratório de sementes Alex Leal, André Mendonça, André Brunes, Caio Dorr, Carolina Borges, César Iván, Cristiane Deuner, Elisa Lemes, Ewerton Gewer, Flávio Abib, Geliandro Rigo, Geison Aisemberg, Irene Leitzke, Lizandro Tavares, Mariana Peil, Otávio Correa, Patrícia Migliorini, Paulo Eberhardt, Sandro de Oliveira, Taiane Viana, Tiago Pedó pela amizade, convívio e execução dos trabalhos.

Aos estagiários e bolsistas: Ana Marina Pedrolo, Daniela Tessaro, Fabricio Seger, Gabriel Gossler, Gustavo Dal Forno, Helbert Carvalho, Humberto Farias, Ítalo Moraes, Jéssica Garcia, Jéssica Gomes, João Moraes, Jonas Schmidt, Jonathan Torchelsen, Lucas Thurmer, Marcelo Timm, Pedro Dias, Renata Arns, Roberto Neto Neto, Sandro Piesanti, Thiago Duarte (Capão) pela amizade, risadas e auxílio na execução dos experimentos.

Aos amigos integrantes da equipe Resteva F. C. que juntamente comigo sagrou-se campeã do torneio da Atlético em 2014 Anderson Reis, Eduardo Streck, Emerson Lenz, Humberto Farias, Marcelo Capelari, Ronan Ritter e Rudmar Seiter.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

FRAGA, Diego Severo. **Respostas de cultivares de soja ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic**. 2016. 129f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A rotação da cultura da soja ao arroz irrigado e sucessão com azevém pode ser considerado opção para manejo de plantas daninhas em área de terras baixas, principalmente o arroz-vermelho. Além disso, o surgimento de novas tecnologias de soja resistente a herbicidas do grupo das imidazolinonas como a Cultivance® pode auxiliar o produtor de sementes no controle de plantas daninhas quando associadas a sistemas de manejo como “plante-aplique” e “aplique-plante”. Dessa forma, os objetivos da pesquisa foram avaliar a fitotoxicidade, os componentes da produtividade e a qualidade fisiológica das sementes de cultivares de soja contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância a sulfonilureias e Roundup Ready®, frente ao resíduo de doses crescentes da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado; avaliar a permanência do resíduo do herbicida no solo em virtude do acúmulo de massa da matéria seca da parte aérea de plantas de azevém, semeadas em sucessão com a cultura da soja; quantificar a atividade da enzima ALS em cultivares de soja resistentes ou suscetíveis ao herbicida imazapic; avaliar as alterações nos metabólitos secundários de plantas de soja contendo essas tecnologias, submetidas a mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic nos sistemas de manejo “plante-aplique” e “aplique-plante”. Para isso, foram realizados experimentos em campo, casa-de-vegetação e laboratório da Universidade Federal de Pelotas, Embrapa Clima Temperado e Embrapa Trigo, utilizando diferentes cultivares de soja submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic. Os resultados demonstraram que a cultivar de soja contendo a tecnologia Cultivance® é resistente a mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic aplicado no manejo do arroz irrigado, porém, as demais cultivares são suscetíveis. O resíduo do herbicida afeta a produtividade e a qualidade fisiológica da semente das cultivares estudadas. A massa da matéria seca da parte aérea do azevém, é reduzida na presença do resíduo do herbicida. O K_M (concentração de piruvato) da enzima ALS das cultivares de soja são semelhantes, contudo o $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima da reação) da cultivar resistente é menor, comparado às demais, supondo-se que a

resistência da cultivar contendo a tecnologia Cultivance® pode ser decorrente da insensibilidade da enzima ALS ao herbicida imazapic. As cultivares suscetíveis apresentam, em geral, maior teor de clorofila e sofrem maior ação das espécies reativas de oxigênio, comparadas a resistente. A elevação da dose da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic aumenta a ação do sistema antioxidante enzimático, por meio das enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, independente do sistema de manejo.

Palavras-chave: *Glycine max*. Imidazolinonas. Metabolismo secundário. Enzima ALS.

Abstract

FRAGA, Diego Severo. **Answers of soybean cultivars to carryover of herbicides mixture imazapyr and imazapic**. 2016. 129f. Tesis (Doctorate) - Program of Post-Graduation in Seed Science and Technology. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Soybean crop rotation with irrigated rice and succession with ryegrass may be considered an option to weed management in flooded area, mainly for red rice. Besides that new technologies appearance of soybean herbicide resistant of imidazolinone group such as Cultivance® may help seed farmers in the weed control when associated to management systems such as “plant-apply” and “apply-plant”. Thus the research objectives were evaluate phytotoxicity, yield components and physiological quality of soybean seeds’ cultivars containing Cultivance®, sulfonylurea tolerant and Roundup Ready® technologies, as affected by carryover of increasing doses of mixture of herbicides imazapyr and imazapic spraying in management of irrigated rice crop; evaluate herbicide carryover in soil due ryegrass shoot dry matter, seeded in succession with soybean crop; quantify ALS enzyme activity in soybean cultivars resistant or susceptibles to imazapic herbicide; evaluate the changes on secondary metabolism of soybean plants containing these technologies, submitted to mixture of herbicides imazapyr and imazapic in “plant-apply” and “apply-plant” management systems. Therefore experiments were performed on field, greenhouse and laboratories in the Federal University of Pelotas, Embrapa Temperate Climate and Embrapa Wheat, using different soybean cultivars submitted to imazapyr+imazapic herbicide. The results showed that soybean cultivar containing Cultivance® technology is resistant to mixture of herbicides imazapyr and imazapic sprayed in management of irrigated rice, but the others cultivars are susceptibles. The herbicide carryover affect the crop yield and physiological quality of seed of the studied cultivars. Ryegrass shoot dry matter is affected by herbicide carryover. ALS enzyme K_M (pyruvate concentration) of soybean cultivars are similar, however the V_{max} (maximum reaction speed) of resistant cultivar is minor, compared with the other cultivars, supposing that the resistance of the cultivar containing Cultivance® technology may be due insensibility ALS enzyme to imazapic herbicide. The susceptibles cultivars show, in general, more chlorophyll and suffer more action of reactive oxygen species, compared to resistant. The increasing dose of mixture of herbicides imazapyr and imazapic enhance the action of enzymatic antioxidant system, by means of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase enzymes, independent of management system.

Key words: *Glycine max*, imidazolinones, secondary metabolism, ALS enzyme

Lista de Figuras

Figura 1	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 10 dias após a emergência (DAE) (389 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	41
Figura 2	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE).(399 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	42
Figura 3	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(409 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	42
Figura 4	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 67 dias após a emergência (DAE).(445 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	43
Figura 5	Produtividade (kg ha ⁻¹) das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	45
Figura 6	Número de legumes por planta de cultivares de soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	48

Figura 7	Número de sementes por planta de cultivares de soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	48
Figura 8	Primeira contagem da germinação (PCG) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	50
Figura 9	Germinação (G) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	50
Figura 10	Germinação de sementes após o teste de envelhecimento acelerado (EA) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	51
Figura 11	Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de cultivares de soja, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	53
Figura 12	Comprimento da raiz (cm) de plântulas de cultivares de soja, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	54
Figura 13	Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 60 dias após emergência. (603 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	57
Figura 14	Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 90 dias após emergência.(633 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	58

Figura 15	Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 120 dias após emergência. (663 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	59
Figura 16	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE).(375 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	70
Figura 17	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	71
Figura 18	Estatura (cm) de plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE).(375 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	73
Figura 19	Estatura (cm) de plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação) FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	74
Figura 20	Área foliar (cm ²) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, quantificada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	75
Figura 21	Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, quantificada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	76
Figura 22	Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g ⁻¹ MF) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação) FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014.....	78

Figura 23	Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g ⁻¹ MF) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	79
Figura 24	Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	81
Figura 25	Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic, avaliado aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	82
Figura 26	Curva padrão de acetoina utilizada para a determinação da atividade da enzima ALS. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014.....	83
Figura 27	Curva padrão de proteína utilizada para a determinação da atividade da enzima ALS. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014.....	83
Figura 28	Atividade da enzima acetolactato sintase (ALS) (μmol acetoina.mg ⁻¹ .h ⁻¹) das plantas das cultivares de soja suscetíveis (CD249STS e NA5909RR) e resistente (BRS382CV) ao herbicida imazapic, expressa em produção de acetoina, em função de diferentes concentrações de substrato (piruvato). Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014.....	85
Figura 29	Inibição <i>in vitro</i> da atividade da enzima ALS (% de Fitotoxicidade) de plantas das cultivares de soja suscetíveis (CD249STS e NA5909RR) e resistente (BRS382CV), submetidas a doses do herbicida imazapic. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014.....	86
Figura 30	Teor de clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	94

Figura 31	Relação entre os teores de clorofilas <i>a/b</i> (mg g^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	95
Figura 32	Teor de clorofilas totais (mg g^{-1}) de plantas de cultivares de soja em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	96
Figura 33	Teor de peróxido de hidrogênio (mM g^{-1} MF) de plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	97
Figura 34	Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g^{-1} MF) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	98
Figura 35	Atividade da enzima APX (UA mg^{-1} proteína minuto^{-1}) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	99
Figura 36	Teor de clorofila <i>a</i> (mg g^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	100
Figura 37	Teor de clorofila <i>b</i> (mg g^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	102
Figura 38	Teor de clorofilas totais (mg g^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	102

Figura 39	Relação entre os teores de clorofilas <i>a/b</i> (mg g^{-1}) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	104
Figura 40	Teor de proteína (mg caseína g^{-1} MF) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	105
Figura 41	Atividade da enzima SOD (UA mg^{-1} proteína minuto^{-1}) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	106
Figura 42	Atividade da CAT (UA mg^{-1} proteína minuto^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	107
Figura 43	Atividade da APX (UA mg^{-1} proteína minuto^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	108

Lista de Tabelas

Tabela 1	Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 10, 20, 30 e 67 dias após a emergência (DAE). (389, 399, 409 e 445 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	44
Tabela 2	Produtividade (kg ha ⁻¹) das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	46
Tabela 3	Peso de mil sementes (PMS) (g), número de legumes por planta (Leg pl ⁻¹) e número de sementes por planta (Sem pl ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, 2014.....	49
Tabela 4	Primeira contagem da germinação (PCG), germinação (G) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	52
Tabela 5	Comprimento de parte aérea (CPA) (cm), comprimento de raiz (CR) (cm), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência a campo (EC) (%) de plântulas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, 2014.....	53

Tabela 6	Massa fresca da parte aérea (MFPA) (g) e da raiz (MFR) (g), massa seca da parte aérea (MSPA) (g) e da raiz (MSR) (g) de plântulas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeI, 2014.....	55
Tabela 7	Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de plantas de azevém semeadas em sucessão às cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 60, 120 e 150 dias após a emergência (DAE). (603, 663 e 693 dias após a aplicação). ETB/UFPeI, 2014.....	56
Tabela 8	Fitotoxicidade das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic aos 20 e 30 dias após a emergência (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	72
Tabela 9	Estatura (cm) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo do herbicida imazapic+imazapyr, avaliada aos 20 e 30 dias após emergência (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014.....	72
Tabela 10	Área foliar (cm ²) e massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência das plantas (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	76
Tabela 11	Teor de clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹) e clorofilas totais (mg g ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, avaliadas aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	77
Tabela 12	Teor de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) (mM g ⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapic+imazapyr, avaliado aos 20 e 30 dias após a emergência das plantas (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014.....	78

Tabela 13	Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g ⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	79
Tabela 14	Extravasamento de eletrólitos (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	80
Tabela 15	Extravasamento de eletrólitos (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014.....	82
Tabela 16	Concentração de piruvato (K _M) (mM) e velocidade máxima da reação (V _{máx}) (μmol mg ⁻¹ h ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapic. EMBRAPA Trigo, Passo Fundo, RS, 2014.....	85
Tabela 17	Valores do I ₅₀ , com intervalo de confiança (IC) e fator de resistência (FR) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidos à aplicação de diferentes doses do herbicida imazapic. EMBRAPA Trigo, Passo Fundo, RS, 2014.....	86
Tabela 18	Teor de clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹) e relação <i>a/b</i> (mg g ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	95
Tabela 19	Teor de clorofila <i>a</i> (mg g ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, 2014.....	96
Tabela 20	Teor de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) (mM g ⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	97

Tabela 21	Peroxidação líquida em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g ⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, 2014.....	98
Tabela 22	Teor de clorofila <i>a</i> (mg g ⁻¹), teor de clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹) e teor de clorofilas totais (mg g ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	103
Tabela 23	Relação entre os teores de clorofilas <i>a/b</i> (mg g ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/UFPeI, 2014.....	103
Tabela 24	Peroxidação líquida em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g ⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, 2014.....	104
Tabela 25	Teor de proteínas (mg caseína g ⁻¹ MF), atividade da enzima CAT (UA mg ⁻¹ proteína minuto ⁻¹) e APX (UA mg ⁻¹ proteína minuto ⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.....	109

Sumário

1 Introdução.....	22
2 Capítulo I - Resposta de cultivares de soja e azevém em rotação/sucessão ao arroz irrigado cultivado em Sistema Cultivance®	34
2.1 Introdução.....	34
2.2 Material e métodos.....	36
2.3 Resultados e discussão.....	39
2.4 Conclusões.....	59
3 Capítulo II - Alterações morfológicas, metabólicas e atividade da enzima ALS em plantas de soja submetidas a aplicação de herbicidas do grupo das imidazolinonas.....	61
3.1 Introdução.....	61
3.2 Material e métodos.....	64
3.2.1 Morfologia e metabolismo secundário.....	64
3.2.2 Atividade da enzima ALS.....	66
3.3 Resultados e discussão.....	69
3.3.1 Morfologia e metabolismo secundário.....	69
3.3.2 Atividade da enzima ALS.....	82
3.4 Conclusões.....	87
4 Capítulo III - Alterações no metabolismo secundário de plantas de soja submetidas à aplicação de herbicidas em diferentes sistemas de manejo de plantas daninhas.....	88
4.1 Introdução.....	88
4.2 Material e métodos.....	90

4.3 Resultados e discussão.....	93
4.4 Conclusões.....	110
5 Conclusões.....	111
6 Referências.....	113
Vita.....	129

1 INTRODUÇÃO

O arroz é uma das culturas mais importantes do mundo, sendo cultivado em todos os continentes. É considerado a principal fonte de alimento do mundo, juntamente com trigo e milho, sendo responsável pela alimentação de mais da metade da população (FAO, 2016). Observou-se, no Brasil, que nas últimas cinco safras houve diminuição da área semeada em 16%, contudo a produção aumentou 3,5% e a produtividade 16,7%. No Estado do Rio Grande do Sul, verificou-se que a área semeada permaneceu inalterada, porém houve acréscimos na produção e produtividade (CONAB, 2016).

A cultura do arroz está sujeita a fatores do ambiente que podem beneficiar ou limitar seu crescimento e desenvolvimento, com influência positiva ou negativa na produtividade e qualidade final do produto colhido. A ocorrência de plantas daninhas destaca-se, como um dos principais fatores limitantes do potencial produtivo da cultura do arroz irrigado, sendo as perdas variáveis em função da espécie infestante, intensidade de infestação, cultivar de arroz utilizada e práticas de manejo adotadas na lavoura (AGOSTINETTO et al., 2001). A ausência de controle de plantas daninhas, na cultura do arroz, pode levar a redução de 80 a 90% na produtividade (ANDRES; MACHADO, 2004).

O arroz-vermelho compete significativamente com o arroz cultivado e pertence a mesma espécie, sendo comprovado que a infestação de única planta m^{-2} pode reduzir em $755kg\ ha^{-1}$ a produtividade da cultura (OTTIS et al., 2005). Pesquisas apontam que, cerca de 60% das áreas orizícolas do Rio Grande do Sul apresentam infestações de média a alta com arroz-vermelho. Essa informação foi registrada em levantamento que demonstrou a incidência de 10 a 200 panículas m^{-2} nas áreas amostradas (MARCHESAN et al., 2004). O elevado índice de propágulos

da lavoura arrozeira se deve, principalmente, a diminuição de áreas de pousio, a intensificação do uso do solo, ao uso do monocultivo e a falta de consciência de produtores sobre as repercussões negativas do uso de sementes de arroz contaminadas com propágulos de arroz-vermelho e/ou preto (FLECK et al., 2008).

As características predominantes da planta e da semente de arroz-vermelho que o distingue do arroz cultivado são: ciclo mais longo e plantas de porte mais alto do que as cultivares modernas, colmos finos, folhas de cor verde-claro e decumbentes, alto vigor e alta capacidade de afilhamento com emissão de afilhos ontogenicamente atrasados, pericarpo de cor avermelhada, pálea e lema com variação de cor, pilosidade e aderência da pálea e lema no pericarpo, presença ou não de arista, deiscência precoce das espiguetas e sementes com dormência (NOLDIN; CHANDLER; MCCAULEY, 1999). Devido às similaridades morfofisiológicas e bioquímicas com o arroz cultivado, o arroz-vermelho não pode ser controlado por herbicidas em situações de utilização de cultivares convencionais, não transgênicas ou não selecionadas para tolerância aos produtos.

Entre os métodos disponíveis para controle de plantas daninhas, o controle químico, mediante uso de herbicidas, tem sido o mais utilizado na lavoura orizícola, em razão da sua praticidade, eficiência e menor custo comparado a outros métodos de controle. O controle químico de arroz-vermelho não era possível até poucos anos, com o uso de genótipos convencionais, por haver similaridades morfofisiológicas entre o arroz cultivado e a espécie daninha. Porém, com o desenvolvimento da tecnologia Clearfield® (BASF, 2004) em arroz cultivado foi encontrada alternativa eficaz de manejo no controle seletivo de plantas daninhas, principalmente o arroz-vermelho, com a utilização de plantas de arroz tolerantes a herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas (SANTOS et al., 2007).

O grupo das imidazolinonas inclui os herbicidas imazapyr, imazapic, imazethapyr, imazamox, imazamethabenz e imazaquin, que contêm em suas moléculas uma estrutura em comum, o imidazol. Esses herbicidas são absorvidos pelas raízes e folhas das plantas, sendo transportados pelo floema e xilema, acumulando-se nos pontos de crescimento. As imidazolinonas controlam amplo espectro de plantas daninhas, incluindo poaceas, ciperáceas e latifoliadas (KRAEMER et al., 2009). O mecanismo de ação desses herbicidas é a inibição da enzima aceto-hidroxi ácido sintase (AHAS), também referida como acetolactato

sintase (ALS). Esta enzima é a primeira na rota da biossíntese dos aminoácidos de cadeia ramificada valina, leucina e isoleucina (YU; POWLES, 2014). A atuação destes herbicidas reduz ou bloqueia a atividade catalítica da enzima ALS resultando na deficiência desses aminoácidos e, por consequência, interrompe a síntese de proteínas, interferindo na síntese de DNA e no crescimento celular (TAN, 2006).

Esses herbicidas são caracterizados pela eficácia em baixas doses, largo espectro no controle de plantas daninhas e longa persistência no solo (LOUX; REESE, 1993). A persistência desses herbicidas pode chegar a 90 dias para o herbicida imazapic e, 90 a 730 dias para o imazapyr (GRYMES; CHANDLER; NESTER, 1995). Resíduos de herbicidas do grupo das imidazolinonas no solo podem ser observados em vários estudos que demonstram a interferência negativa no crescimento e desenvolvimento de culturas suscetíveis, utilizadas em sistema de sucessão e/ou rotação a culturas tolerantes (MOYER; ESAU, 1996; GAZZIERO et al., 1997).

A rotação de culturas é eficiente no controle do arroz-vermelho, (MARCHEZAN et al., 1995; AVILA et al., 2000), como também o pousio do solo e o preparo de verão, proporcionando redução do banco de sementes (AVILA et al., 2000). A prática de pousio para controle de plantas daninhas tem longa história de sucesso, embora trabalhos recentes sugiram que culturas competitivas também podem ser bem sucedidas, assim como sistemas alternados cultura/pousio visando a supressão das plantas daninhas em alguns casos (DERKSEN et al., 1994). O sistema de rotação de culturas permite variações no período de preparo do solo, densidade da biomassa vegetal que cobre o solo, época de colheita e subsequente cultivo e manejo de plantas daninhas (BRAZ et al., 2006). Neste sistema, nenhuma espécie é continuamente beneficiada por um ambiente, técnica de manejo, colheita ou manuseio em pós-colheita consistentemente favorável. Diante disso, a rotação de culturas é considerada essencial nos sistemas de manejo integrado de plantas daninhas (CARVALHO; MORAES, 2011).

No Estado Americano do Arkansas, o arroz é normalmente rotacionado com soja. Ainda que o arroz seja cultura mais rentável do que a soja, esta última é utilizada em rotação para controle de arroz-vermelho. Em 2009, a rotação arroz-soja representou aproximadamente 68% da área cultivada no Estado do Arkansas (WILSON Jr.; RUNSICK; MASSANTI, 2009). A rotação do arroz irrigado com soja vem sendo utilizada como técnica eficiente no manejo do arroz-vermelho, pois essas

espécies requerem condições diferenciadas no manejo de água e solo, além de proporcionarem rotação de mecanismo de ação herbicida (GOMES JR.; CHRISTOFFOLETI, 2008). O cultivo de arroz, em associação com a rotação de culturas como soja, permite a redução da degradação e do empobrecimento do solo causados pela erosão, promove aumento do teor de matéria orgânica, maior retenção de umidade no solo, além de possibilitar menor emergência de plantas daninhas proibidas em áreas de produção de sementes (BORTOLOTTTO et al., 2008).

A sucessão soja-azevém também pode ser alternativa rentável, pois favorece a integração lavoura-pecuária, auxilia na produção de palha e raízes promovendo melhoria das características físicas do solo, o que aumenta viabilidade da semeadura direta. O azevém é muito utilizado no sistema de integração lavoura-pecuária em razão da possibilidade de ressemeadura natural, de sua capacidade de crescer nas entrelinhas de soja, alto valor nutricional e alto potencial de produção de forragem (BARTH NETO et al., 2013).

A cultura da soja, diante de seu impacto no agronegócio nacional e internacional, tem apresentado intensa atividade de pesquisa dirigida à obtenção de informações que possibilitem a melhorias no sistema produtivo. Nos últimos anos, principalmente com a abertura de novas áreas sob vegetação de cerrado, o Brasil passou a ser o segundo maior produtor de soja do mundo com produção total superior a 100 milhões de toneladas de grãos. Dentre os Estados brasileiros, o Mato Grosso é o maior produtor nacional, com 28,3 milhões de toneladas colhidas, seguido do Paraná com 18,5 milhões e, o Rio Grande do Sul com 14,8 milhões (CONAB, 2016).

Nas últimas cinco safras de soja, observou-se no Brasil, aumento de 25% na área semeada com elevações de 33% na produção e 13% na produtividade. Para o Estado do Rio Grande do Sul, houve aumento de 21% da área semeada com acréscimos de 44 e 32% na produção e produtividade, respectivamente (CONAB, 2016).

Embora as condições edafoclimáticas de áreas de terras baixas não assegurem produtividades estáveis à cultura da soja, esta se apresenta como alternativa de cultivo ao arroz irrigado na região Sul do Rio Grande do Sul. O cultivo da soja vem sendo utilizado em rotação com arroz irrigado, ocupando espaços que anteriormente vinham sendo deixados em pousio. Na região Sul, a área semeada

em rotação com arroz irrigado na safra 2014/15 foi de 284,1 mil hectares, chegando a produtividade de 2,1t ha⁻¹ (IRGA, 2016), tornando-se opção para diversificar a produção e fugir das oscilações do preço do arroz, além de trazer melhorias às condições de fertilidade e estrutura do solo.

Devido sua grande importância, a cultura da soja tem apresentado intensa atividade de pesquisa dirigida à obtenção de informações que possibilitem aumento na produtividade e redução nos custos de produção. Isto tem exigido contínua reformulação e adaptação de novas tecnologias e manejos.

A intensificação do uso do herbicida glyphosate, após o lançamento de culturas Roundup Ready® (RR), ocasionou a seleção de plantas daninhas resistentes a esse herbicida, as quais passaram a limitar a produtividade das culturas. Com poucas alternativas para controle seletivo das espécies resistentes a herbicidas, a tendência é que as empresas disponibilizem novas culturas tolerantes e/ou resistentes a outros herbicidas, como a tecnologia Cultivance®.

A tecnologia Cultivance® foi obtida por pesquisadores da Embrapa, fruto de modificações genéticas utilizando a técnica de biobalística para expressar o gene alterado *csr1-2* de *Arabidopsis thaliana* L, fornecido pela empresa Basf (RECH; VIANNA; ARAGÃO, 2008). Denominada primeiramente de CV127, é derivada de uma variedade comercial da Embrapa, altamente produtiva, do grupo de maturação VIII, chamada Conquista. Esta variedade é proveniente da transformação do tecido do eixo embrionário que foi retirado do meristema apical da semente de soja. A proteína AtAHASL, codificada pelo gene *csr1-2* é estrutural e funcionalmente idêntica a AtAHASL nativa, com exceção da substituição do aminoácido serina, para asparagina no resíduo 653 (TAN et al., 2005).

O sistema Cultivance® combina os herbicidas do grupo das imidazolinonas, imazapyr e imazapic, de largo espectro de controle com soja resistente a esses herbicidas (CARLSON et al., 2012). Neste sistema, a aplicação do herbicida pode ser realizada após a semeadura, até no máximo, o estágio V₁ da cultura, chamado “plante-aplique”. Este sistema permite controle de plantas daninhas de forma preventiva, eliminando a competição inicial e permitindo maiores produtividades (BASF, 2014). Outro sistema utilizado no manejo de plantas daninhas é o “aplique-plante”, que utiliza herbicidas pré-emergentes no manejo e é baseado no histórico da área (OLIVEIRA JR et al., 2006).

Outra tecnologia que visa ao manejo de plantas daninhas na soja é a tolerância a sulfonilureias (STS), técnica esta que surgiu primeiramente como alternativa para controle mais eficiente da buva (*Conyza* sp.), que apresenta resistência ao glyphosate (COODETEC, 2015), mas atualmente é utilizada para complementar o controle de outras plantas daninhas problemáticas a cultura. Os herbicidas do grupo das sulfonilureias pertencem ao mecanismo de ação dos inibidores da ALS (ROSO; VIDAL, 2011). A tecnologia STS foi desenvolvida por mutagênese de sementes, utilizando-se etil-metanossulfonato como agente mutagênico (SEBASTIAN et al., 1989). A mutação responsável pela tolerância as sulfonilureias ocasiona a substituição do aminoácido prolina, por serina na posição 197, localizada em apenas uma das duas cópias do gene ALS presente em soja. Esta tolerância foi obtida por meio de técnicas convencionais de melhoramento genético, em que cultivares STS apresentam degradação aumentada de alguns herbicidas na planta (SEBASTIAN et al., 1989).

A introdução da soja STS possibilitou aplicações do herbicida chlorimuron ou combinado com outras sulfonilureias ou ainda, com algumas imidazolinonas, promovendo maior período de controle de plantas daninhas ao longo do ciclo da cultura, redução de danos na soja e produção de sementes de qualidade (CULPEPPER et al., 1997).

Em áreas de produção de sementes pode-se constatar que, mesmo produtos aplicados em dose e forma corretas podem ocasionar fitotoxicidade à cultura e comprometer a produção e a qualidade das sementes, quanto ao vigor e à germinação (MORAES et al., 1997). A qualidade de sementes é o somatório dos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários da semente, responsáveis por sua capacidade de originar plântulas altamente produtivas (MARCOS-FILHO, 2005). A máxima qualidade da semente é alcançada quando ela atinge a maturidade fisiológica, que é o ponto em que apresenta o máximo conteúdo de matéria seca, vigor e germinação, embora apresente ainda alto conteúdo de umidade, o qual é variável de acordo com a espécie (POPINIGIS, 1985; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Na cultura da soja, a maturação para a colheita mecânica é atingida com cerca de 18% de umidade (MARCOS-FILHO, 2005).

Sementes de qualidade são aquelas que possuem alto vigor, isto é, são capazes de originar plantas normais em condições ambientais desfavoráveis, o que pode ocorrer em campo. Porém, a redução da qualidade no campo é frequente,

principalmente no final da maturação ou no período de pré-colheita. Este fenômeno é conhecido como deterioração de campo ou deterioração por umidade, o qual é definido como o processo que ocorre depois do ponto de maturidade fisiológica (ponto no qual a semente possui o mais alto grau de vigor e viabilidade) e antes que as sementes sejam colhidas. Este processo pode ser considerado como o fator que mais afeta a qualidade das sementes de soja, uma vez que no intervalo entre a maturidade fisiológica e a colheita, período que normalmente é de duas semanas, as sementes ficam expostas a ciclos alternados de alta e baixa umidade, causada por chuvas frequentes ou por flutuações diárias na umidade relativa do ar, o que resulta na deterioração das sementes (PESKE; BARROS; SCHUCH, 2012).

A qualidade fisiológica da semente é avaliada através de dois parâmetros fundamentais: viabilidade e vigor. A viabilidade é medida, principalmente, pelo teste de germinação em condições favoráveis, o qual determina a máxima germinação da semente, enquanto o vigor é determinado sob condições desfavoráveis, medindo-se o declínio de alguma função bioquímica ou fisiológica (POPINIGIS, 1985). Sementes com baixo vigor podem provocar reduções na velocidade de emergência, na uniformidade, na emergência total, no tamanho inicial e no estabelecimento de estandes adequados, fatores esses que podem influenciar a acumulação de matéria seca, e assim, afetar a produtividade (KOLCHINSKI; SCHUCH; PESKE, 2005).

O surgimento de tecnologias resistentes a herbicidas na cultura da soja para controle de plantas daninhas como soja Cultivance® é ferramenta importante para obtenção de sementes de qualidade. Estudos permitem identificar alterações na atividade da enzima, as quais são responsáveis pelo caráter de resistência, como identificado em *Oryza sativa* (RAJGURU et al., 2005) resistente a herbicidas inibidores da enzima ALS.

A elucidação do mecanismo envolvido na resistência de plantas a herbicidas permite determinar alternativas de manejo que possibilitem diminuir a pressão de seleção sobre o herbicida. Os mecanismos que conferem resistência de culturas e/ou plantas daninhas a herbicidas podem decorrer da alteração, ou não, do local de ação do herbicida. O local de ação alterado pode ocorrer pela troca de um ou mais aminoácidos da enzima alvo, impedindo o correto acoplamento do herbicida, ou ainda, pela super expressão da enzima alvo, aumentando o número de locais para acoplamento do herbicida (POWLES; YU, 2010). Se a resistência está associada a alteração no local de ação do herbicida, este pode acarretar mudança na

funcionalidade da enzima, resultando em insuficiente ou excessivo produto da biossíntese (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009). A alteração na enzima ALS, sítio de ação de herbicidas do grupo das imidazolinonas, pode resultar em mudança de afinidade tanto com o herbicida quanto pelo substrato na rota que a enzima ALS está envolvida (HAN; VILA-AIUB, 2010; LI et al., 2013; YU).

A presença de pontos de mutação no gene e, a substituição específica de um aminoácido na enzima podem afetar a estrutura e a função da enzima ALS, reduzindo sua atividade (EBERLIEN et al., 1997; YU; HAN; VILA-AIUB, 2010; LI et al., 2013). A maior parte dos casos de resistência aos inibidores da enzima ALS relatados envolvem único ponto de mutação no gene alvo, que reduz a afinidade da enzima ao herbicida (BURGOS et al., 2013). Alterações no local de ação geralmente decorrem de mutações nos genes que codificam a enzima (DEVINE; SHUKLA, 2000), resultando em redução de sua afinidade com os inibidores porém, com ausência ou reduzida perda da função enzimática (TRANEL; WRIGHT, 2002). Dessas alterações, foram encontrados seis aminoácidos conservados que, na substituição, tornaram-se responsáveis pela resistência, sendo eles: alanina 122 (Ala₁₂₂), alanina 205 (Ala₂₀₅), prolina 197 (Pro₁₉₇), serina 653 (Ser₆₅₃), triptofano 574 (Trp₅₇₄) (TRANEL; WRIGHT, 2002) e aspartato (Asp₃₇₆) (WHALEY; WILSON; WESTWOOD, 2007).

A maioria dos estudos visa apenas a elucidar o mecanismo relacionado ao local alvo, e não examinam a resistência relacionada ao local não alvo de ação do herbicida (AHMAD-HAMDANI et al., 2013; BURGOS et al., 2013). Em alguns casos, ambos mecanismos podem estar envolvidos, como no caso de *Avena* spp. resistente aos inibidores da ACCase (AHMAD-HAMDANI et al., 2013). Portanto, é necessário examinar tanto o local alvo, como não alvo dos herbicidas, considerando a possibilidade de coexistência (AHMAD-HAMDANI et al., 2013). Se o mecanismo de resistência não é relacionado à alteração do local de ação, uma ou mais formas atuam impedindo que o herbicida chegue em quantidades letais no ponto de inibição, impedindo sua inibição completa (POWLES; YU, 2010). Estes mecanismos envolvem a diminuição da absorção e/ou da translocação dos herbicidas, aumento das taxas de metabolismo ou sequestro do herbicida (DINELLI et al., 2008; POWLES; YU, 2010). Plantas resistentes a herbicidas que apresentam este mecanismo tendem a acelerar a degradação do herbicida por meio do aumento da

atividade da glutathione-S-transferase, da citocromo P₄₅₀ ou da glicosil-transferase (DÉLYE, 2013).

Outro fator que pode influenciar na redução da produção de sementes ou produtividade da cultura é o estresse ambiental, como elevadas ou baixas temperaturas, seca, salinidade, radiação ultravioleta, ozônio e infecções patogênicas que são potencialmente prejudiciais às plantas (VAN BREUSEGEM et al., 2001).

O aspecto comum de todas essas condições adversas é a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs) no interior do metabolismo secundário da célula vegetal (FOYER; NOCTOR, 2005; GECHEV et al., 2006). As EROs também podem ser produzidas devido à ação antrópica, pelo uso de diversos xenobióticos, dentre os quais destaca-se o uso de herbicidas (DEVINE; DUKE; FEDTKE, 1993; COUÉE et al., 2006).

O estresse oxidativo em sistemas biológicos, incluindo os vegetais, é resultante de superprodução das EROs que são subprodutos de reações de oxirredução, apresentando-se tanto como radicais livres, quanto na forma molecular de não radical. Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, formando oxigênio singlete (O_2), ou de sucessivas adições de elétrons ao O_2 , reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ($O_2^{\bullet-}$) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) (SCANDALIOS, 2005). Como consequência, as EROs causam peroxidação de lipídios, modificações proteicas, rompimento das cadeias de DNA, destruição de clorofilas e extravasamento de eletrólitos, de modo que, tais eventos podem culminar na morte celular (MOLLER; JENSEN; HANSSON, 2007).

O H_2O_2 tem ação deletéria, porque participa da reação formadora de $OH^{\bullet}$, o oxidante mais reativo na família das EROs. A alta reatividade do radical $OH^{\bullet}$ resulta em reações rápidas e inespecíficas, com distintos substratos, podendo potencialmente reagir com todos os tipos de moléculas biológicas (MYLONA; POLIDOROS, 2011). As plantas possuem diferentes sistemas de defesa contra os estresses ambientais, o que lhes permite adaptar-se para minimizar os danos que podem ocorrer pela ação das EROs (BOR; ÖZDEMİR; TÜRKAN, 2003; RADETSKI; COTELLE; FÉRARD, 2000).

As plantas protegem suas células e compartimentos subcelulares dos efeitos fitotóxicos das EROs através de dois mecanismos de proteção, um sistema antioxidante não enzimático, que compreende os compostos fenólicos, clorofilas e carotenoides; e, outro enzimático, composto por enzimas antioxidantes como

superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) (SCANDALIOS, 2005; MITTLER, 2002). Esses mecanismos de proteção incluem enzimas antioxidantes e metabólitos que desintoxicam essas formas de EROs, além de mecanismo que dissipa o excesso de energia absorvida antes da formação do O_2 . A partição entre estes dois sistemas sob condições de estresse pode ser regulada pela concentração de O_2 no sistema (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003).

As clorofilas (*a* e *b*) e os carotenoides são os pigmentos fotossintéticos mais abundantes e considerados antioxidantes hidrofóbicos. As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, local onde é realizada fotossíntese, a qual possui duas etapas importantes: a clara ou fotoquímica que ocorre nas membranas dos tilacoides e a escura ou bioquímica, no estroma dos cloroplastos. A clorofila é a molécula responsável pela captação de energia luminosa, que irá ser convertida em carboidratos. Dessa forma, alterações na síntese deste pigmento podem ocasionar distúrbios no desenvolvimento vegetal (LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os carotenoides constituem outro grupo de antioxidantes hidrofóbicos, constituídos por longas cadeias de hidrocarbonetos com duplas ligações conjugadas. Esta propriedade permite a ancoragem nas membranas fosfolipídicas (KRINSKY, 1989). A estrutura dos conjugados permite deslocar elétrons desemparelhados e atuar como doadora de elétrons monovalentes, sendo responsável pela drenagem da energia de ativação do O_2 (KIM et al., 2004; LEDFORD; NIYOGI, 2005), desta forma, decréscimo na sua biossíntese poderá causar danos às plantas (HAVAUX; NIYOGI, 1999).

A SOD está presente nos organismos aeróbicos, onde desempenham importante função na defesa contra a toxicidade causada pelas EROs, sendo, desta forma, importante no mecanismo de tolerância ao estresse. O papel biológico da SOD é a dismutação de dois radicais $O_2^{\bullet-}$, convertendo a H_2O_2 e O_2 . Essas enzimas participam da modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). Uma vez que dismutam o $O_2^{\bullet-}$, agem indiretamente na redução do risco de formação do $OH^{\bullet}$ a partir do $O_2^{\bullet-}$ (DINAKAR; DJILIANOV; BARTELS, 2012).

A CAT é considerada, juntamente com a SOD, como as mais eficientes enzimas antioxidantes. Ambas apresentam função combinada, de modo que a CAT converte o H_2O_2 , originado em função da atividade da SOD, em H_2O e O_2

(SCANDALIOS, 2005). As plantas possuem várias isoformas de CAT, as quais podem dismutar diretamente o H_2O_2 ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (VAN BREUSEGEM et al., 2001). Como a CAT opera sem agente redutor, ela fornece às plantas uma forma energeticamente eficiente para remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012).

As peroxidases inclui grupo de enzimas capazes de catalisar a oxidação de componentes celulares como H_2O_2 ou peróxidos orgânicos (KVARATSKHELIA; WINKEL; THORNELEY, 1997), dentre eles destaca-se a enzima APX, a qual, atua na função de proteção antioxidativa nas plantas. Esta enzima catalisa a transferência de elétrons ao H_2O_2 usando diferentes substratos reduzidos como doadores. Em plantas o mais importante redutor para o H_2O_2 é o ascorbato, sendo que a APX utiliza duas moléculas de ascorbato para reduzir o H_2O_2 à H_2O , com a geração concomitante de duas moléculas de monodehidroascorbato (MDHA) (FOYER; NOCTOR, 2005).

Sob condições fisiológicas normais, a produção de H_2O_2 e $\text{O}_2^{\bullet-}$, nos peroxissomos, deveria ser adequadamente controlada pela CAT, APX e SOD, respectivamente (CORPAS; BARROSO; DEL RÍO, 2001). Geralmente, a resposta antioxidante ao estresse por herbicida varia de acordo com seu modo de ação e da cultura. Desta forma, o papel das enzimas antioxidantes em situações de estresse é controlar a acumulação de EROs e assim, limitar os danos oxidativos (MITTLER, 2002; SHARMA et al., 2012). Os antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011).

Diante disso, a identificação de respostas morfológicas e metabólicas da cultura da soja rotacionada com arroz irrigado, e do azevém em sucessão a soja submetidas ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic proporciona alternativa ao produtor para manejo de plantas daninhas resistentes, como o arroz-vermelho, podendo, deste modo, produzir sementes de qualidade com maior rentabilidade na mesma área.

As hipóteses gerais da pesquisa foram: o resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic utilizado na cultura do arroz não causa fitotoxicidade à cultivar de soja contendo a tecnologia Cultivance® e não afeta negativamente a qualidade fisiológica das sementes, porém causa fitotoxicidade e reduz a qualidade das sementes das cultivares de soja STS e RR (Capítulo I); o resíduo do herbicida não

altera a massa da matéria seca da parte aérea do azevém semeado em sucessão às cultivares de soja (Capítulo I); o resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic causa maior fitotoxicidade, menor estatura, área foliar e massa da matéria seca da parte aérea de cultivares de soja suscetíveis, comparadas à cultivar resistente, contendo a tecnologia Cultivance® (Capítulo II); a alteração no metabolismo secundário das cultivares de soja suscetíveis ao herbicida são maiores, comparativamente à cultivar resistente (Capítulo II); a atividade da enzima ALS é maior na cultivar resistente, em comparação às cultivares suscetíveis ao herbicida imazapic (Capítulo II); e, a produção de metabólitos secundários e danos celulares das cultivares de soja suscetíveis a mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic são maiores do que a cultivar resistente, tanto no sistema “plante-aplique” quanto no “aplique-plante” (Capítulo III).

Os objetivos gerais da pesquisa foram: avaliar a fitotoxicidade a cultura da soja, aos componentes da produtividade e a qualidade fisiológica das sementes contendo as tecnologias Cultivance®, soja tolerante as sulfonilureias e Roundup Ready®, frente ao resíduo de doses crescentes da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado (Capítulo I); avaliar a permanência do resíduo do herbicida no solo em virtude do acúmulo de massa da matéria seca da parte aérea de plantas de azevém, semeadas em sucessão com a cultura da soja (Capítulo I); quantificar a atividade da enzima ALS em cultivares de soja resistentes ou suscetíveis ao herbicida imazapic (Capítulo II); avaliar as alterações nos metabólitos secundários de plantas de soja contendo as tecnologias Cultivance®, soja tolerante as sulfoniluréias e RoundUp Ready®, submetidas a mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic no sistema “plante-aplique e no “aplique-plante” (Capítulo III).

2 CAPÍTULO I – Resposta de cultivares de soja e azevém em rotação/sucessão ao arroz irrigado cultivado em Sistema Cultivance®

2.1 Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) é considerado uma das culturas mais importantes do mundo, sendo cultivado em todos os continentes (FAO, 2016). Juntamente com a soja, destaca-se entre as culturas mais importantes no Sul do Brasil, o que decorre, especialmente, da utilização de cultivares com alto potencial produtivo e da adoção de tecnologias modernas dirigidas para produtividade e industrialização (NOLDIN et al., 2004; SCHWANKE et al., 2008). Entretanto, os patamares médios atingidos na lavoura ainda estão aquém da produtividade obtida em lavouras experimentais de arroz irrigado, em função, principalmente, do controle insatisfatório das plantas daninhas (FLECK et al., 2008).

Dentre as plantas daninhas que infestam as lavouras de arroz irrigado, destaca-se o arroz-vermelho, pertencente a mesma espécie do arroz cultivado. Esta planta daninha, em grande parte dos países produtores, é a principal responsável pela redução do potencial de produtividade da espécie cultivada, com perdas estimadas em torno de US\$ 300,00 ha⁻¹ (BURGOS et al., 2008).

A rotação de culturas é alternativa prática e econômica disponível para redução do banco de sementes de arroz-vermelho, podendo ser utilizada em diferentes condições de cultivo. Entretanto, essa prática é pouco implementada, devido, principalmente, a dificuldades de drenagem dos solos e a pouca diversificação de espécies tolerantes as condições de excesso hídrico (MENEZES, MACEDO, ANGHINONI, 2004).

O cultivo de soja em áreas de terras baixas pode ser opção para redução do banco de sementes de arroz-vermelho, porém são poucos os estudos direcionados a aclimação de cultivares de soja em áreas alagadas ou que avaliem a eficácia de seu cultivo na redução do banco de sementes. Embora as condições edafoclimáticas em áreas de terras baixas não assegurem rendimentos estáveis à cultura da soja, esta se apresenta como alternativa de cultivo na região Sul do Rio Grande do Sul. O cultivo dessa fabaceae vem sendo utilizado em rotação com arroz, ocupando espaços que anteriormente vinham sendo deixados em pousio. Na região Sul, a área semeada em rotação com arroz irrigado, na safra 2014/15 foi de 284,1mil ha, chegando a produtividade de $2,1\text{t.ha}^{-1}$ (IRGA, 2016), tornando-se opção para diversificar a produção e fugir das oscilações do preço do arroz, além de ser boa alternativa, pois traz melhorias às condições de fertilidade e estrutura do solo.

Em sucessão ao arroz ou soja, os agricultores normalmente utilizam azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), o qual é uma poaceae muito utilizada no sistema de integração lavoura-pecuária no Sul do Brasil, em razão da possibilidade de ressemeadura natural, alto valor nutricional, elevado potencial de produção de forragem (BARTH-NETO et al., 2013) e, por ser adaptada às baixas temperaturas da região Sul do Brasil, desenvolvendo-se no inverno e primavera.

Considerando que as plantas daninhas representam grande impacto na produção agrícola e tornando-se ameaça para a produtividade das culturas, novas estratégias de manejo vem surgindo, entre elas culturas resistentes a herbicidas. Dentre estas, a tecnologia Cultivance® propiciou à cultura da soja tolerância a herbicidas do grupo das imidazolinonas, que não eram seletivos a essa cultura, como o imazapyr (BASF, 2014).

A mistura formulada dos herbicidas imazapyr e imazapic pertence ao grupo químico das imidazolinonas que atuam inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), essencial para a síntese de aminoácidos de cadeia ramificada valina, leucina e isoleucina (TAIZ; ZIEGER, 2009). A maioria desses herbicidas é caracterizada pela eficácia em baixas doses, pelo largo espectro de controle de plantas daninhas e pela longa persistência no solo (LOUX; REESE, 1993).

Outra tecnologia desenvolvida, com o intuito de diminuir a pressão de seleção do uso intenso do herbicida glyphosate utilizado em genótipos de soja Roundup Ready® (RR), foi a soja tolerante a sulfonilureias (STS), sendo liberado comercialmente a partir da safra 2010/11 (COODETEC, 2015). Estas cultivares

toleram o herbicida chlorimuron quando aplicado em doses entre 60 a 80g.ha⁻¹ para controle de buva resistente ao herbicida glyphosate (AGROFIT, 2015).

A aplicação de herbicidas para o manejo de plantas daninhas pode gerar estresse para as culturas, sendo estes caracterizados como qualquer efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento normal das espécies vegetais (TAIZ; ZIEGER, 2009). O efeito estressante pode levar à redução na massa das sementes, o que indicaria formação deficiente, propiciando desempenho fisiológico insuficiente do material colhido (MARCOS-FILHO, 2005).

Em vista disso, o trabalho teve por hipóteses de que o resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic utilizado na cultura do arroz não causa fitotoxicidade à cultivar de soja contendo a tecnologia Cultivance® e não afeta negativamente a qualidade fisiológica das sementes, porém causa fitotoxicidade e reduz a qualidade das sementes das cultivares de soja STS e RR. Ainda, o resíduo do herbicida não altera a massa da matéria seca do azevém semeado em sucessão as cultivares de soja.

Dessa forma, os objetivos do trabalho foram avaliar a fitotoxicidade a cultura da soja, aos componentes da produtividade e a qualidade fisiológica das sementes contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância as sulfonilureias e Roundup Ready®, frente ao resíduo de doses crescentes da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado; e, avaliar a permanência do resíduo do herbicida no solo em virtude do acúmulo de massa da matéria seca da parte aérea de plantas de azevém, semeadas em sucessão com a cultura da soja.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado em campo na área experimental da Embrapa Clima Temperado (Estação Terras Baixas – ETB), localizada no município do Capão do Leão/RS em solo classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico solódico, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2013). A partir da análise de solo foram obtidos os seguintes valores: pH_{água} de 5,4; pH_{SMP} de 6,4; 0,2cmol_c dm⁻³ de Al; 2,1cmol_c dm⁻³ de Ca; 1,0cmol_c dm⁻³ de Mg; 15% de Argila; 1,2% de Matéria orgânica; 10,1mg dm⁻³ de P; 20,0 mg dm⁻³ de K; CTC_{efetiva} de 3,4; CTC_{pH7} de 5,9. A adubação de base foi realizada a lanço, conforme análise de solo. Os

demais manejos e tratos culturais foram realizados seguindo as recomendações técnicas da cultura do arroz irrigado (SOSBAI, 2012).

Na primeira estação de crescimento, período de novembro de 2012 a abril de 2013, foi cultivado arroz irrigado, cultivar Puitá INTA CL e aplicado o herbicida imazapyr+imazapic [(525g kg⁻¹ + 175g kg⁻¹ (Kifix®)] nas doses de 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0 vezes a dose preconizada, sendo esta de 140g ha⁻¹ (AGROFIT, 2013), com objetivo de criar o resíduo para as estações seguintes. A aplicação dos tratamentos foi realizada com auxílio de pulverizador costal, pressurizado a CO₂, equipado com bico tipo leque com ponta de pulverização 110.015, calibrado para aplicar 120L ha⁻¹ de calda, sendo acrescido 0,5% v/v do adjuvante Dash® à calda de aplicação. Após a colheita do arroz, a área permaneceu em pousio até a semeadura da cultura da soja.

Na segunda estação de crescimento, período de novembro de 2013 a abril de 2014 foi cultivado soja, sendo semeada perpendicularmente às faixas da aplicação dos herbicidas na cultura do arroz. O delineamento utilizado foi em faixas, em esquema fatorial (3x5), com quatro repetições. O fator A foi composto pelas cultivares de soja [BRS382CV (CV), CD249STS (STS) e NA5909RR (RR)], contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância a sulfonilureias e Roundup Ready®, respectivamente e, o fator B, pelos resíduos das diferentes doses do herbicida imazapyr+imazapic, conforme descrito anteriormente. Cada tratamento foi alocado em parcelas de 3,06x3,6m, com linhas espaçadas a 0,5m, resultando em área de 11,02m².

As variáveis avaliadas na cultura da soja foram fitotoxicidade a cultura e, por ocasião da colheita, foram determinados produtividade, peso de mil sementes, número de legumes por planta, número de sementes por planta e qualidade fisiológica das sementes.

A fitotoxicidade pelo herbicida imazapyr+imazapic foi avaliada aos 10, 20, 30 e 67 (pós-florescimento) dias após a emergência da cultura da soja (DAE), correspondendo aos 389, 399, 409 e 445 dias após a aplicação do herbicida no manejo do arroz irrigado, utilizando-se escala percentual, onde 0 (zero) representou a ausência de danos e 100 (cem) morte das plantas (FRANS et al., 1986).

A colheita foi realizada em área útil de 2m² quando o grau de umidade das sementes estava em torno de 18%. As variáveis número de legumes por planta e número de sementes por planta foram obtidas a partir da contagem em dez plantas

aleatórias, coletadas em área útil de cada unidade experimental. A produtividade foi obtida pela pesagem das sementes colhidas na área útil de 4,5m² de cada parcela, transformado em kg ha⁻¹ e corrigido para 13% de umidade. O peso de mil sementes (PMS) foi quantificado em oito repetições de 100 sementes, sendo calculada a média das pesagens em gramas (BRASIL, 2009).

Para a avaliação da qualidade fisiológica, as sementes foram levadas ao laboratório e submetidas aos seguintes testes:

Germinação (G): foi realizado com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. A semeadura foi realizada em substrato de papel, previamente umedecido em água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e os rolos mantidos em germinador, à temperatura de 25°C. A avaliação foi efetuada aos oito dias após a semeadura, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Primeira contagem da germinação (PCG): foi avaliada aos cinco dias após a semeadura, por ocasião da realização do teste de germinação.

Comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR): foram determinadas a partir de quatro subamostras de 20 sementes por tratamento, sendo as sementes distribuídas desencontradas em duas linhas longitudinais e paralelas no terço superior do papel de germinação, tipo “germitest”, umedecido a 2,5 vezes o seu peso seco, acondicionando posteriormente os rolos de papel em germinador a 25°C. A análise foi realizada aos cinco dias após a semeadura, com auxílio de régua graduada em milímetros, medindo o comprimento total e o CPA de dez plântulas normais escolhidas aleatoriamente e, por fim, o CR foi determinado pela subtração do comprimento total pelo CPA (NAKAGAWA, 1999).

Em seguida, as plântulas utilizadas para análise do CPA e CR foram pesadas em balança analítica de precisão para determinação da massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa fresca da raiz (MFR). Posteriormente foram secas em estufa, à temperatura de 60°C, até atingirem massa constante, quando foram pesadas em balança a fim de quantificar massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR).

Envelhecimento acelerado (EA): foi realizado espalhando-se as sementes em camada única sobre uma tela metálica suspensa dentro de caixas gerbox, contendo 40mL de água destilada ao fundo. Posteriormente, as caixas foram tampadas e acomodadas em câmara BOD, a 41°C por 48h (MARCOS-FILHO, 1999). Após este

período, as sementes foram colocadas para germinar, conforme metodologia descrita para o teste de germinação e avaliados no quinto dia, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Emergência em campo (EC): foram semeadas, em canteiros contendo solo, 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. A avaliação foi realizada em contagem única das plântulas normais aos 14 dias após a semeadura, e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais (NAKAGAWA, 1999).

Índice de velocidade de emergência (IVE): foram realizadas contagens diárias, juntamente com o teste de emergência em campo, até o décimo quarto dia, sendo consideradas somente as plântulas com parte aérea bem desenvolvida. O índice foi calculado segundo MAGUIRE (1962), através da seguinte fórmula:

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots \frac{En}{Nn}$$

onde: E1, E2 e En = número de plântulas emergidas na primeira, segunda, até a última contagem; e N1, N2, Nn = número de dias desde a primeira, segunda, até a última contagem.

Em sucessão à cultura da soja foi semeado azevém, a lanço, na densidade de 35kg ha⁻¹, no período de junho a novembro de 2014, visando a avaliar a ocorrência de resíduo do herbicida imazapyr+imazapic no azevém. Foi avaliada a massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) aos 60, 90, 120, 150 e 180 dias após emergência do azevém (DAE), correspondendo aos 603, 633, 663, 693 e 723 dias após a aplicação do herbicida no manejo do arroz, coletando-se área de 0,25m² (0,5x0,5m) e, posteriormente, levadas para estufa com circulação forçada de ar, a 60°C até atingir massa constante.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente submetidos à análise de variância (p≤0,05). No caso de ser constatada significância estatística, realizou-se comparação entre médias utilizando-se teste de Tukey (p≤0,05) para o fator cultivar e, análise de regressão para o fator doses.

A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007), ajustando-se os dados à equação de regressão polinomial do tipo linear, conforme segue:

$$y = a + b.x$$

onde: y = variável resposta; x = dose do herbicida; e a e b = parâmetros da equação, sendo que a é o intercepto ou coeficiente linear e b é a inclinação da reta.

2.3 Resultados e Discussão

Para o experimento de soja rotacionada com arroz irrigado, verificou-se interação entre os fatores cultivar e doses para as variáveis fitotoxicidade aos 10, 20, 30, 67 DAE e produtividade. Para as mesmas variáveis, os dados ajustaram-se a equação polinomial linear, com coeficiente de determinação (R^2) variando de 0,78 a 0,99, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Fig. 1, 2, 3, 4 e 5; tab.1 e 2). Para as variáveis número de legumes e número de sementes por planta houve efeito simples para o fator doses, ajustando-se a equação polinomial linear com R^2 variando de 0,95 a 0,96 (Fig. 6 e 7) e efeito simples para o fator cultivar (tab.3). Já, para a variável PMS verificou-se somente efeito simples para o fator cultivar (tab.3).

Para as variáveis de qualidade fisiológica das sementes PCG, G e EA houve interação entre os fatores avaliados. As variáveis ajustaram-se a equação polinomial linear, com variação do R^2 de 0,78 a 0,93, demonstrando ajuste satisfatório dos dados (Fig. 8, 9 e 10; tab.4). As variáveis CPA e CR apresentaram efeito simples para o fator dose, sendo que os dados ajustaram-se a equação polinomial linear, com variação de R^2 de 0,75 a 0,79 (Fig. 11 e 12) e efeito simples para o fator cultivar (tab.5). Para as variáveis IVE, EC, MFPA, MFR, MSPA e MSR observou-se efeito simples para o fator cultivar (tab.5 e 6).

As equações para os dados de fitotoxicidade em resposta ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, comprovam que as cultivares de soja avaliadas respondem de modo diferente ao herbicida a partir da dose preconizada em todas as épocas de avaliação (Fig. 1, 2, 3 e 4). Aos 10 DAE, considerando o resíduo da dose preconizada do herbicida de 140g ha^{-1} , a cultivar RR apresentou 330% de fitotoxicidade e, a cultivar STS 140%, comparadas à cultivar resistente (Fig. 1; tab.1). Em relação as doses do herbicida, observou-se aumento linear da fitotoxicidade conforme elevação da dose, sendo verificado incremento de duas e três vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida, para as cultivares STS e RR, respectivamente, comparada à CV (Fig. 1).

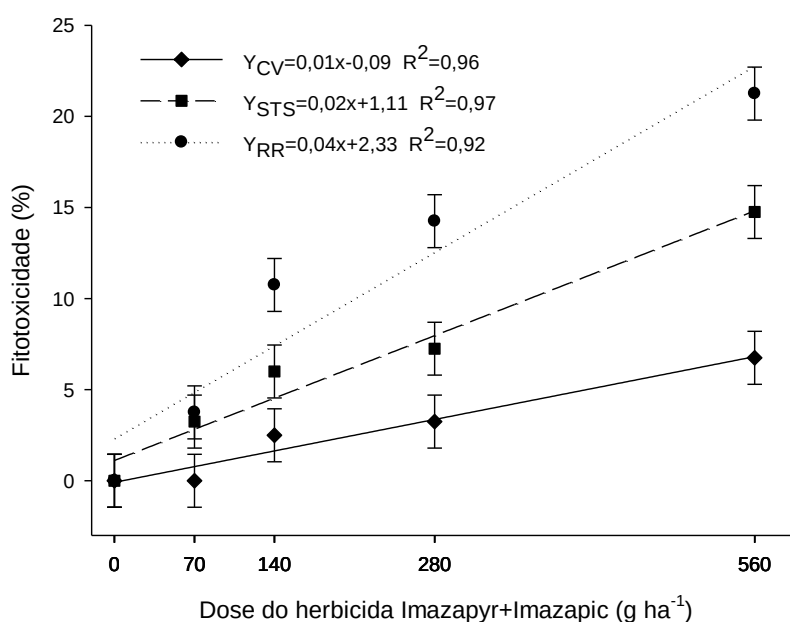


Figura 1 – Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 10 dias após a emergência (DAE) (389 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Aos 20 DAE observou-se que, na dose 140g ha⁻¹, as cultivares STS e RR mostraram fitotoxicidade de 116% e 237%, respectivamente, comparado à cultivar contendo a tecnologia Cultivance® (Fig. 2; tab.1). Para as doses do herbicida, observou-se aumento linear da variável conforme elevação da dose, sendo verificado incremento de 1,5 e 3,5 vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida, para as cultivares STS e RR, respectivamente, comparada a CV (Fig. 2).

Para fitotoxicidade aos 30 DAE, pode-se observar que na dose preconizada as cultivares suscetíveis STS e RR apresentaram fitotoxicidade de 863% e 1725%, respectivamente, comparadas à cultivar CV (Fig. 3; tab.1). Quanto as doses do herbicida, verificou-se que, a fitotoxicidade aumentou de forma linear em virtude do crescimento da dose, causando incremento de nove e dez vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida, para as cultivares RR e STS, respectivamente, comparada a CV (Fig. 3).

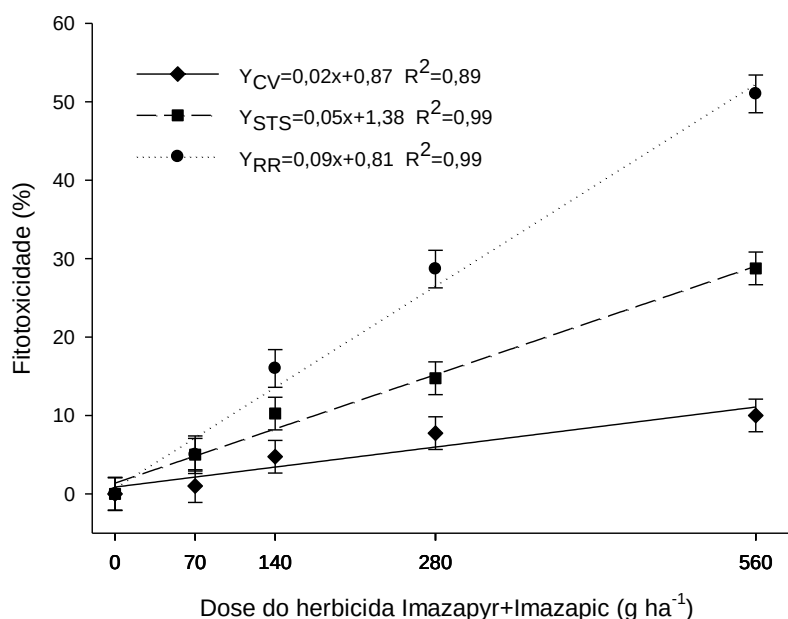


Figura 2 – Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE).(399 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

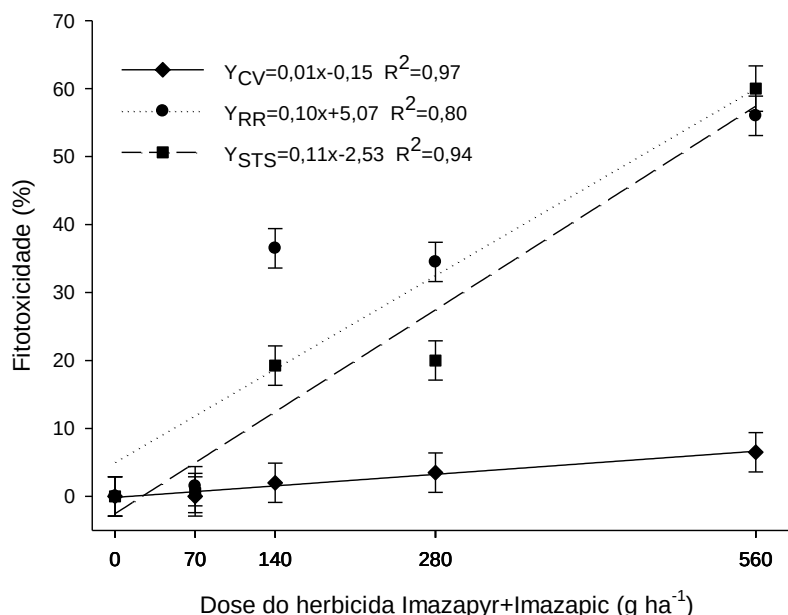


Figura 3 – Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(409 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Aos 67 DAE, durante o pós-florescimento da cultura, verificou-se comportamento semelhante da variável comparado à avaliação aos 30 DAE (Fig. 4; tab.1). No que se refere as doses do herbicida, observou-se que, a fitotoxicidade aumentou de forma linear em virtude da elevação da dose, sendo verificado acréscimo de cerca de cinco vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida, para as cultivares STS e RR, comparada à CV (Fig. 4). O comportamento da variável mostrou resultados esperados para as cultivares avaliadas em virtude do desempenho diferencial da cultivar CV ao herbicida imazapyr+imazapic.

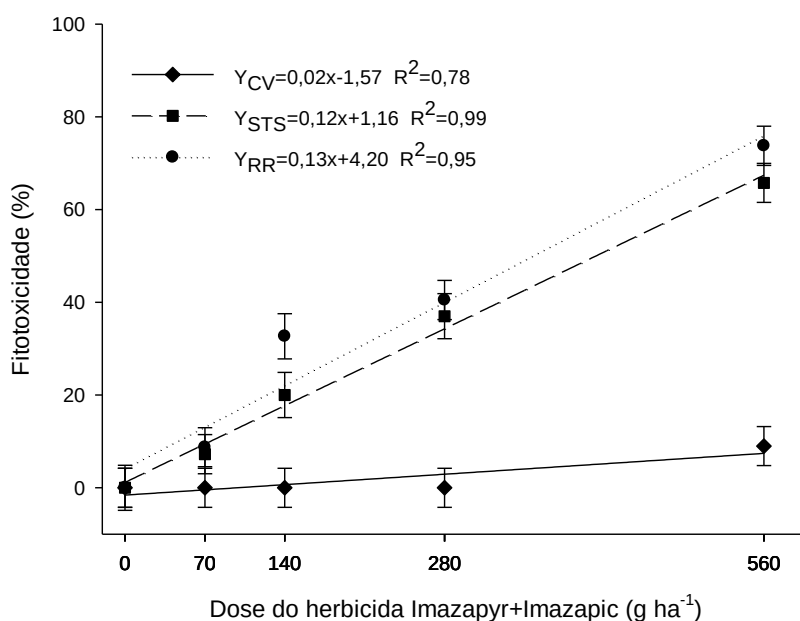


Figura 4 – Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 67 dias após a emergência (DAE).(445 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Resultado semelhante foi encontrado em trabalho para avaliar fitotoxicidade causada pelo herbicida imazapyr+imazapic, aplicado em pós-emergência das plantas de soja contendo a tecnologia Cultivance®, onde observou-se fitotoxicidade próxima a 10% nas avaliações aos 13, 20 e 27 dias após aplicação do produto (DAP) e, aos 41 DAP evidenciou-se fitotoxicidade próxima a 20% (CAVENAGHI et al., 2014). Estudos para avaliar a seletividade de milho tolerante a herbicidas do grupo das imidazolinonas mostraram que, a aplicação do herbicida imazapyr+imazapic na dose de 140g ha⁻¹ não causou fitotoxicidade a cultura nas

avaliações aos 7 e 14 dias após aplicação (GALON et al., 2014). Para as tecnologias RR e STS, o manejo da soja é normalmente realizado com os herbicidas glyphosate e chlorimuron, respectivamente. Outros herbicidas do grupo das sulfonilureias como o metsulfuron e o nicosulfuron mostraram-se altamente seletivos para cultivares de soja contendo essas tecnologias (VIANA et al., 2014; GIOVANELLI et al., 2014). Estudos com culturas não tolerantes a herbicidas do grupo das imidazolinonas, semeadas em sucessão e/ou rotação ao arroz Clearfield®, observaram que o efeito residual destes herbicidas ocasiona elevada fitotoxicidade em estádios iniciais, quando se aumenta a dose do produto (KRAEMER et al., 2009; SÜSER; BÜYÜK, 2010; PINTO et al., 2011).

Tabela 1 - Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 10, 20, 30 e 67 dias após a emergência (DAE). (389, 399, 409 e 445 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	Fitotoxicidade aos 10DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a ¹	0 b	2,5 b	3,3 c	6,8 c
CD249STS	0 a	3,3 ab	6,0 b	7,3 b	14,8 b
NA5909RR	0 a	3,8 a	10,8 a	14,3 a	21,3 a
C.V.(%)	23,09				
Cultivar	Fitotoxicidade aos 20DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a	1,0 a	4,8 c	7,8 c	10,0 c
CD249STS	0 a	5,0 a	10,3 b	14,8 b	28,8 b
NA5909RR	0 a	5,0 a	16,0 a	28,7 a	51,0 a
C.V.(%)	18,30				
Cultivar	Fitotoxicidade aos 30DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a	0 a	2,0 c	3,5 c	6,5 b
CD249STS	0 a	0,5 a	19,3 b	20,0 b	60,0 a
NA5909RR	0 a	1,5 a	36,5 a	34,5 a	56,0 a
C.V.(%)	18,80				
Cultivar	Fitotoxicidade aos 67DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a	0 a	0 c	0 b	9,0 b
CD249STS	0 a	7,3 a	20,0 b	37,0 a	65,8 a
NA5909RR	0 a	8,8 a	32,7 a	40,5 a	73,8 a
C.V.(%)	21,47				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto a variável produtividade, não se verificou diferença entre as cultivares para doses iguais ou superiores a 140 g ha^{-1} (tab.2). De modo geral, foi possível observar que na dose 140 g ha^{-1} a cultivar STS foi 59% menos produtiva que a cultivar CV. Já a cultivar RR mostrou acréscimo de 11% na produtividade, para mesma dose, comparada a cultivar CV (Fig. 5; tab.2).

Em relação as doses, observou-se decréscimo linear da variável a medida que aumentam as doses do herbicida, sendo verificada diminuição de 0,58 e 2,6 vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida, para as cultivares STS e RR, respectivamente, comparada a CV (Fig. 5).

Resultados semelhantes foram observados na aplicação do herbicida imazapyr+imazapic na cultura do milho tolerante a herbicidas do grupo das imidazolinonas, não sendo verificada diferença estatística comparado à testemunha capinada para variável produtividade (GALON et al., 2014). Entretanto, estudos para avaliar o manejo de plantas daninhas na cultura da soja contendo a tecnologia CV, mostraram aumento na produtividade da cultura, quando avaliada na dose 140 g ha^{-1} , em comparação à testemunha sem aplicação (RUCHEL et al., 2012).

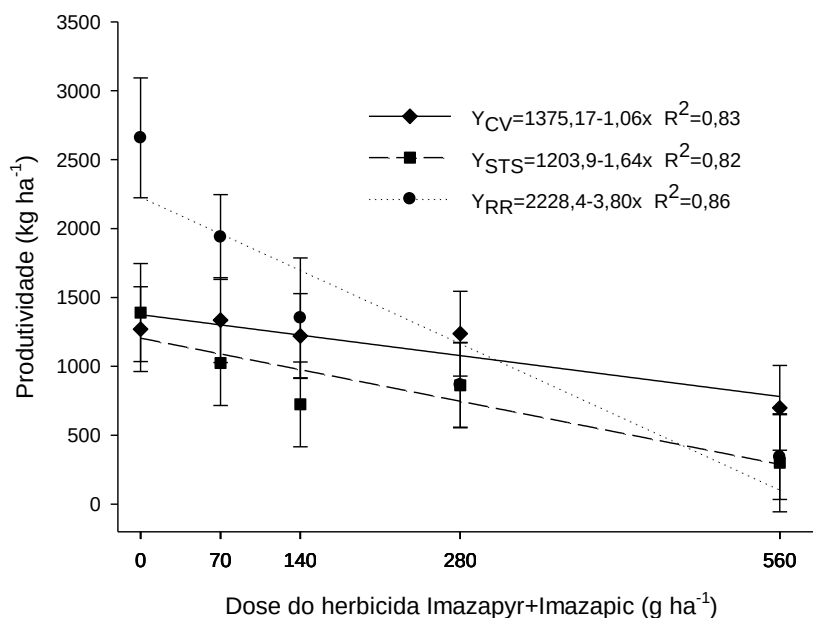


Figura 5 – Produtividade (kg ha^{-1}) das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 2 - Produtividade (kg ha⁻¹) das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Produtividade (kg ha ⁻¹)				
	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	1270,1 b ¹	1335,6 ab	1220,6 a	1237,1 a	699,1 a
CD249STS	1390,3 b	1024,5 b	724,3 a	862,5 a	300,4 a
NA5909RR	2658,3 a	1938,7 a	1351,7 a	866,0 a	342,3 a
C.V.(%)	27,76				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pesquisas demonstram que em arroz, a fitotoxicidade causada por herbicidas, em muitos casos, não afeta a produtividade, pois as plantas conseguem detoxificar/metabolizar o herbicida ao longo do seu desenvolvimento (VILLA et al., 2006). No entanto, algumas cultivares de arroz não conseguem detoxificar/metabolizar totalmente o herbicida aplicado, com isso acontecem decréscimos na produtividade da cultura (PETTER; ZUFFO; PACHECO, 2011). Exemplos de herbicidas que são extremamente seletivos por sofrerem desativação metabólica são as sulfonilureias (CAREY; HOAGLAND, 1997) e as imidazolinonas (OLIVEIRA JR., 2001), para os quais diferenças na seletividade entre espécies tolerantes e suscetíveis podem ser centenas de vezes maiores. No caso das sulfonilureias, as espécies tolerantes conseguem rapidamente transformar os herbicidas em produtos inativos, enquanto o metabolismo é muito mais lento e em menor intensidade nas espécies suscetíveis (CARVALHO et al., 2009). Para as imidazolinonas, os principais metabólitos formados nas plantas são menos tóxicos do que os compostos originais (SHANER; MALLIPUDI, 1991).

A seletividade destes herbicidas em algumas culturas, como soja (*Glycine max* (L) Merrill) e trigo (*Triticum aestivum* L.), é baseada principalmente na habilidade das plantas em metabolizar o herbicida rapidamente em formas não tóxicas (MONQUERO; CHRISTOFFOLETI; DIAS, 2000). Do mesmo modo, várias espécies de plantas daninhas como *Echinochloa crus-galli* (L) Beauv, *Solanum nigrum* (L) e *Sorghum halepense* (L) Pers são naturalmente tolerantes a certos herbicidas inibidores da ALS, pela inativação metabólica. Seletividade em culturas como aveia (*Avena sativa*) e trigo a este mecanismo de ação herbicida foram encontrados (HARTWING et al., 2008). A velocidade de metabolização do composto tóxico depende do ambiente, podendo variar com a espécie e estágio de desenvolvimento da planta (KISSMANN, 1996).

Assim, uma mesma quantidade de herbicida aplicada a uma espécie pode tornar-se fitotóxico sob determinadas condições e não produzir nenhum dano em outras.

Para as variáveis número de legumes e sementes por planta, o comportamento linear das curvas permitiu observar que, conforme duplicava-se o resíduo da dose do herbicida, a variável resposta reduzia-se a metade (Fig. 6 e 7). Estes resultados podem ser explicados em virtude do decréscimo da produtividade conforme elevação do resíduo. Verificou-se que, a cultivar tolerante CV não diferiu da cultivar STS, apresentando maior número de legumes por planta que a cultivar RR. Já, o número de sementes por planta foi diferente para as três cultivares, sendo que a CV apresentou maior acréscimo, comparado a STS e RR, respectivamente (tab.3). De modo semelhante, para o PMS observou-se diferença significativa, sendo que a CV produziu maior PMS comparado a RR e STS, respectivamente (tab.3).

Além do herbicida imazapyr+imazapic não ser recomendado às cultivares avaliadas contendo as tecnologias STS e RR, existe a possibilidade de efeito supressor da palha do arroz no estabelecimento, desenvolvimento e produtividade das culturas subsequentes. Em sistema de semeadura direta, em que os restos culturais do arroz permanecem na superfície do solo, ocorreu maior concentração de ácidos orgânicos que podem limitar a produtividade quando em níveis excessivos (JOHNSON et al., 2006). Outro fator a ser considerado prejudicial ao rendimento ocasionado pelos ácidos orgânicos, é a redução na absorção de nutrientes pelas plantas de culturas subsequentes (SCHMIDT; BORTOLON; SOUZA, 2007). A cobertura morta fornecida pelo sistema de semeadura direta pode comprometer a capacidade de herbicida em atingir o solo, devido a sua retenção, reduzindo o efeito residual. Dependendo das características físico-químicas dos herbicidas, como solubilidade, pressão de vapor e polaridade, a palha terá maior ou menor influência na sua eficácia, sendo que a quantidade e o período em que ocorrem as chuvas após a aplicação, também podem influenciar na retenção dos herbicidas (CORREIA; DURIGAN; MELO, 2007).

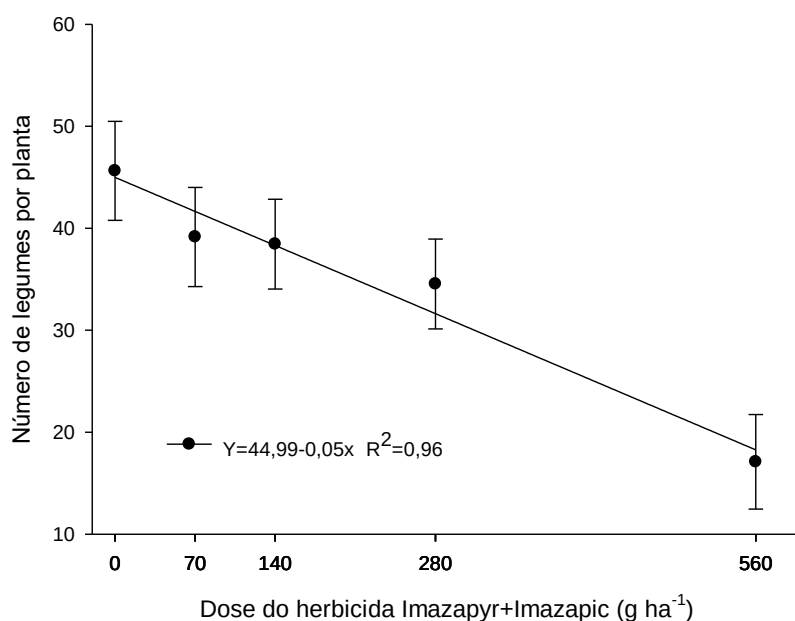


Figura 6 – Número de legumes por planta de cultivares de soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

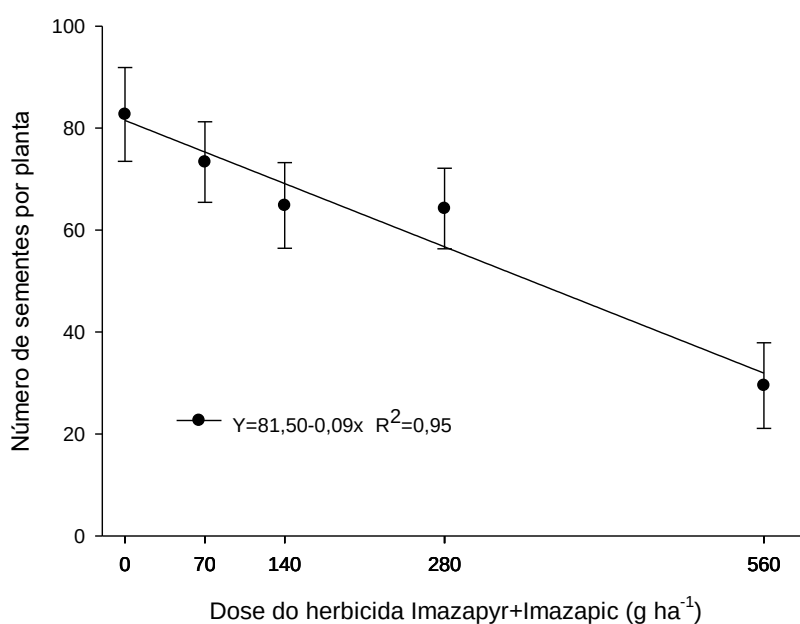


Figura 7 – Número de sementes por planta de cultivares de soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 3 - Peso de mil sementes (PMS) (g), número de legumes por planta (Leg pl⁻¹) e número de sementes por planta (Sem pl⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, 2014

Cultivar	PMS (g)	Leg pl ⁻¹	Sem pl ⁻¹
BRS382CV	195,7 a ¹	42,0 a	78,7 a
CD249STS	120,8 c	38,9 a	63,1 b
NA5909RR	169,6 b	26,3 c	47,8 c
C.V.(%)	4,83	21,47	21,67

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise conjunta dos resultados permite inferir que o resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic provocou fitotoxicidade as cultivares de soja suscetíveis STS e RR, enquanto, a cultivar contendo a tecnologia Cultivance® tolerou o resíduo do herbicida de até quatro vezes a dose preconizada. A produtividade das cultivares de soja foi afetada pelo herbicida, bem como os componentes de rendimento biológico, mesmo na cultivar resistente CV.

Para as variáveis de qualidade fisiológica das sementes PCG e G, os dados referentes às cultivares CV e STS não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Considerando o resíduo da dose preconizada de 140g ha⁻¹, não foi observada diferença entre as cultivares avaliadas, sendo que os valores médios obtidos foram acima de 80%, estando de acordo com os padrões estabelecidos (Fig. 8 e 9; tab.4). No que se refere as doses, observou-se decréscimo linear para a cultivar RR, tanto para PCG quanto para G, a medida que aumentam as doses do herbicida, sendo verificada diminuição de 2,8% de PCG e G para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 8 e 9). Isso pode ser atribuído, além do estresse causado pelo herbicida, à alta susceptibilidade do tegumento das sementes a danos causados pelas flutuações da umidade pois, mesmo as sementes colhidas manualmente, o tegumento pode apresentar-se altamente frágil, com grande parte das sementes apresentando rachaduras (MERTZ et al., 2009).

Em trabalho para avaliar a influência de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes de arroz irrigado, não foram observadas diferenças para o herbicida imazapyr+imazapic para as variáveis PCG, G e EA (LANGARO, 2015).

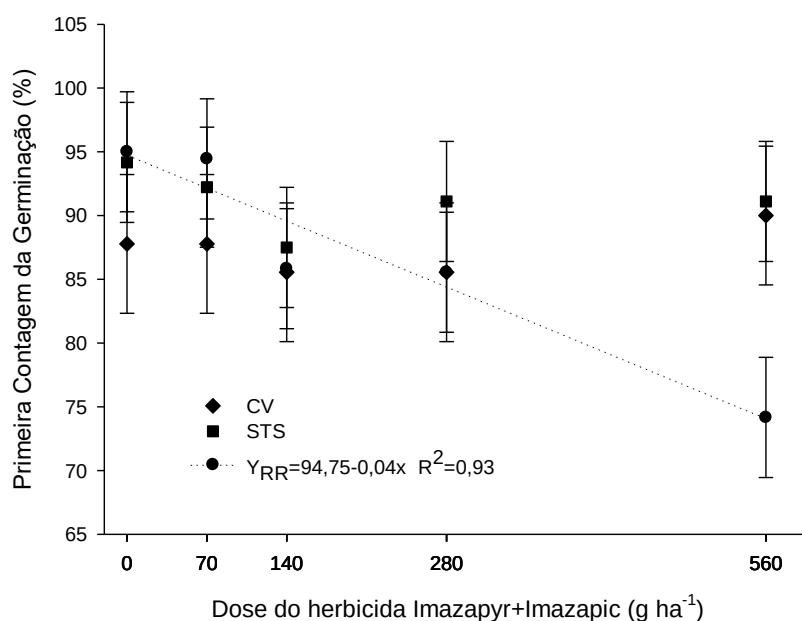


Figura 8 – Primeira contagem da germinação (PCG) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

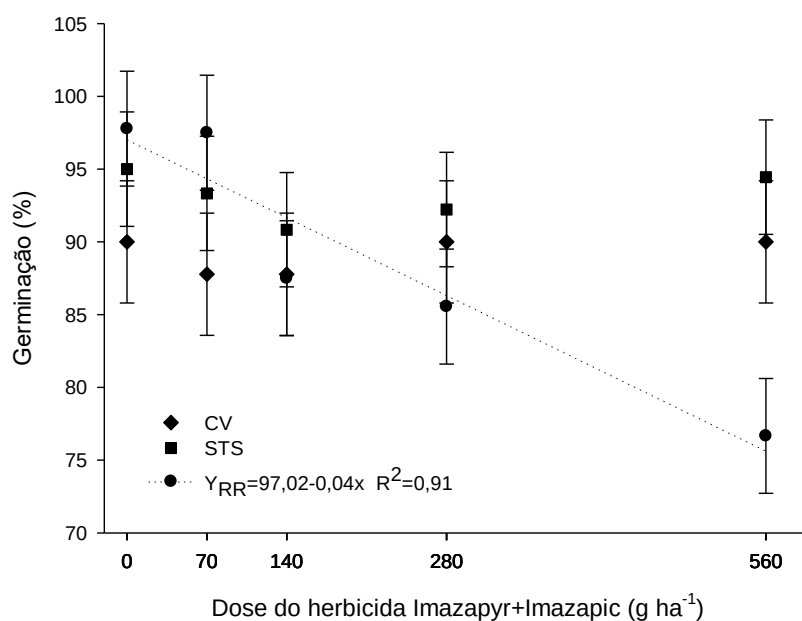


Figura 9 – Germinação (G) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Os dados da variável EA para cultivar STS não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Baseando-se no resíduo

da dose preconizada (140g ha^{-1}), não foi observada diferença entre as cultivares avaliadas, sendo que os valores médios obtidos no teste de germinação, mesmo após o estresse do envelhecimento acelerado, foram acima de 90%, o que está de acordo com os padrões estabelecidos (MAPA, 2012) (Fig. 10; tab.4).

Para as doses do herbicida, observou-se decréscimo linear da variável a medida que foram aumentadas as doses do herbicida, sendo verificada diminuição de 0,5 vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida para cultivar NA5909RR, comparada à BRS382CV (Fig. 10). Desta forma, a redução do vigor pelo teste de envelhecimento acelerado para cultivar RR, ocasionada pelo resíduo do herbicida, pode estar relacionada com a fitotoxicidade observada para cultivar, ou também pode apresentar relação com o mecanismo de ação do herbicida imazapyr+imazapic, o qual é mais prejudicial em comparação à CV, já que esta apresenta tolerância ao herbicida imazapyr+imazapic.

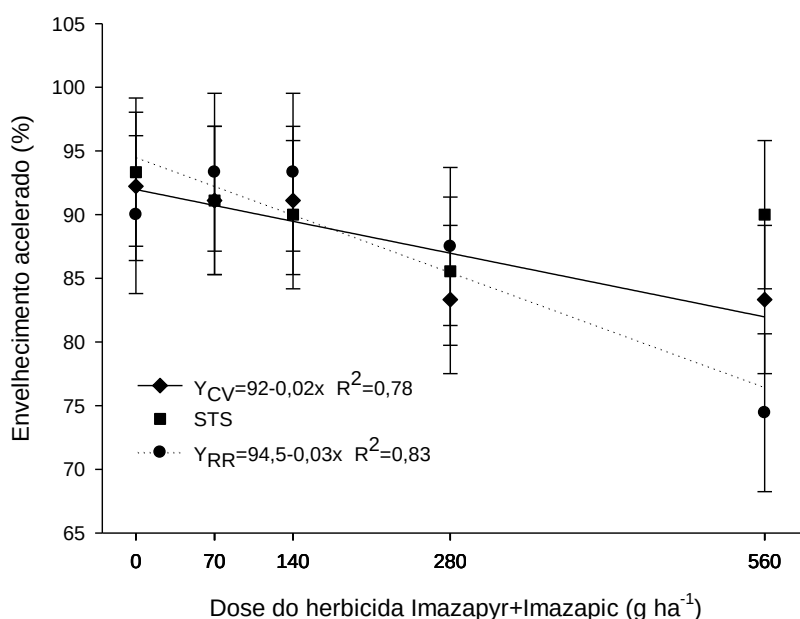


Figura 10 – Germinação de sementes após o teste de envelhecimento acelerado (EA) (%) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 4 - Primeira contagem da germinação (PCG), germinação (G) e envelhecimento acelerado (EA) de sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	PCG (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	87,7 a ¹	88,0 a	85,0 a	87,5 a	90,0 a
CD249STS	94,0 a	94,3 a	87,5 a	93,3 a	93,5 a
NA5909RR	95,0 a	96,0 a	86,0 a	87,5 a	74,0 b
C.V.(%)	5,23				
Cultivar	Germinação (G) (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	90,0 a	88,0 a	88,5 a	88,3 a	90,8 a
CD249STS	95,0 a	95,0 a	90,8 a	94,3 a	96,0 a
NA5909RR	96,8 a	97,5 a	87,5 a	87,5 a	76,5 b
C.V.(%)	4,29				
Cultivar	Envelhecimento acelerado (EA) (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	90,0 a	90,0 a	92,5 a	80,8 a	85,8 ab
CD249STS	90,8 a	93,3 a	90,0 a	89,3 a	93,5 a
NA5909RR	88,3 a	95,0 a	93,3 a	87,3 a	74,7 b
C.V.(%)	6,46				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para as variáveis CPA e CR das plântulas foi observada diferença significativa entre as cultivares testadas, sendo que o CPA das plântulas da cultivar RR foi maior, comparado as demais, enquanto o CR das plântulas da cultivar STS foi superior as demais (tab.5). Ainda, observou-se decréscimo linear das variáveis conforme aumento do resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, ou seja, conforme o resíduo duplicava, reduzia-se a metade o CPA e CR das plântulas (Fig. 11 e 12). Este comportamento pode ser devido a fitotoxicidade do herbicida, que aumentou conforme elevação do resíduo.

O IVE e EC mostraram-se semelhantes com maiores incrementos para as cultivares STS e RR, sendo estas diferentes da cultivar CV (tab.5). Essa diferença entre cultivares pode ser explicada devido ao fator ambiente, uma vez que a produção das sementes foi realizada em área de terras baixas, onde há poucas cultivares de soja adaptadas para cultivo.

Tabela 5 - Comprimento de parte aérea (CPA) (cm), comprimento de raiz (CR) (cm), índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência em campo (EC) (%) de plântulas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, 2014

Cultivar	CPA (cm)	CR (cm)	IVE	EC (%)
NA5909RR	8,62 a ¹	10,58 b	4,99 a	94,33 a
CD249STS	7,47 b	12,16 a	4,73 a	94,25 a
BRS382CV	6,37 b	11,08 b	4,44 b	90,30 b
C.V. (%)	8,49	7,29	7,05	5,27

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

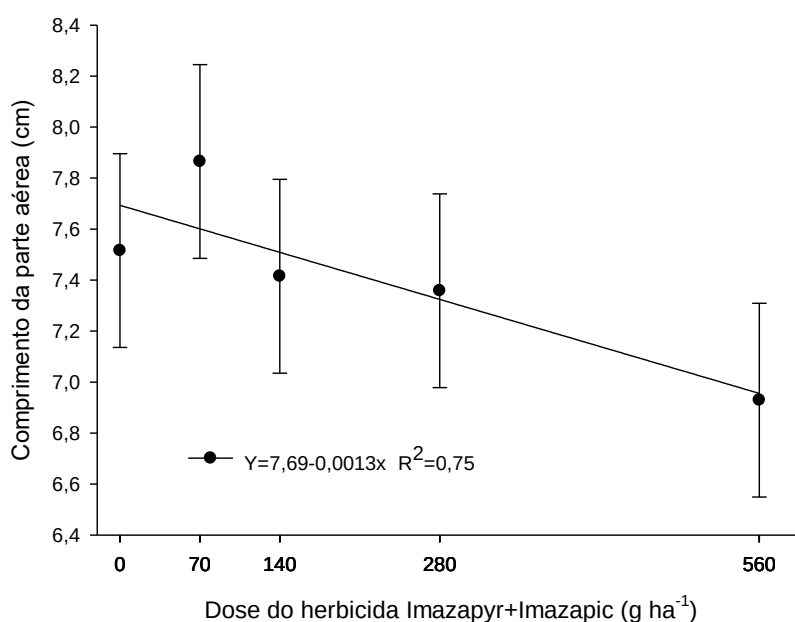


Figura 11 – Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de cultivares de soja, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Cultivares de soja semeadas em diferentes ambientes expressam suas potencialidades em relação às condições ocorridas, que mudam no espaço e no tempo. Como os genótipos podem responder diferencialmente ao ambiente, as indicações da melhor época para cada cultivar devem ser precedidas de ensaios regionalizados, conduzidos em diferentes ambientes (PELUZIO et al., 2010). Os programas de melhoramento genético para cultura da soja são essenciais para atender à crescente demanda por maiores produções, possibilitando aumento de variabilidade e consequente ampliação da base genética e a seleção dos melhores genótipos de uma população capazes de superar os patamares de produtividade.

Com a oportunidade de implementação da cultura da soja em áreas de terras baixas, cabe aos programas de melhoramento buscar cultivares adaptadas a este ambiente, considerando características como tipo de solo, temperaturas e topografia, indicando a melhor época de semeadura para cada local.

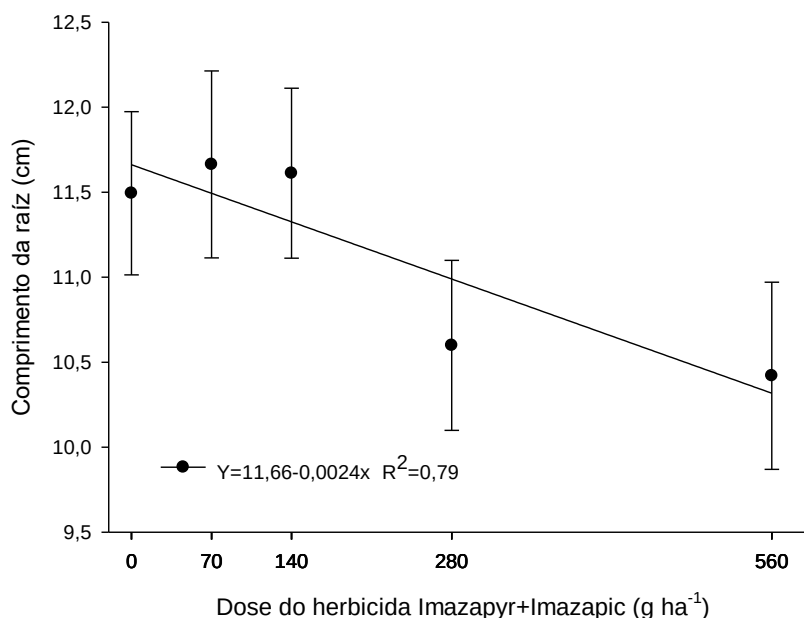


Figura 12 – Comprimento da raiz (cm) de plântulas de cultivares de soja, em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

A variável MFPA apresentou diferença entre as três cultivares avaliadas, observando-se maiores incrementos para a cultivar RR, comparado à CV e STS (tab.6), resultado que pode estar relacionado ao comportamento da variável CPA. Para MFR, MSPA e MSR também houve diferença entre as cultivares, sendo que a cultivar CV apresentou maior acréscimo, comparado à RR e STS (tab.6). A diferença obtida entre as cultivares pode ser explicada em virtude de seus respectivos PMS (tab.3).

É reconhecido que a máxima qualidade das sementes de soja é alcançada por ocasião da maturidade fisiológica, coincidindo com o máximo acúmulo de matéria seca, vigor e germinação (POPINIGIS, 1985). Por outro lado, o processo de deterioração inicia-se na maturidade fisiológica, com maior agravamento se a umidade das sementes decresce a níveis inferiores a 25% (MONDRAGON; POTTS, 1974). No ponto de maturidade fisiológica, o elevado grau de umidade das sementes

impede a colheita mecanizada da soja e dessa forma, as sementes permanecem “armazenadas no campo” até atingir o grau de umidade adequado para a colheita mecânica. Nesse período, raramente as condições climáticas são favoráveis à manutenção da qualidade das sementes. Baixas temperaturas favorecem a qualidade das sementes, por outro lado, condições quentes e úmidas, com excesso de precipitação pluvial, podem comprometer a germinação e o vigor das sementes de soja (VIEIRA et al., 1982). Vale ressaltar que existem diferenças quanto à tolerância das sementes de soja às condições ambientais desfavoráveis, dependendo da cultivar.

Tabela 6 - Massa fresca da parte aérea (MFPA) (g) e da raiz (MFR) (g), massa seca da parte aérea (MSPA) (g) e da raiz (MSR) (g) de plântulas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic. ETB/FAEM/UFPel, 2014

Cultivar	MFPA (g)	MFR (g)	MSPA (g)	MSR (g)
BRS382CV	6,46 b ¹	1,91 a	1,41 a	0,13 a
NA5909RR	6,79 a	1,52 b	1,32 b	0,11 b
CD249STS	4,73 c	1,24 c	0,85 c	0,09 c
C.V. (%)	4,39	7,94	6,95	10,61

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em resumo, o resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, em geral, não afeta a viabilidade pelo teste de germinação e, o vigor, pelo teste de primeira contagem da germinação e envelhecimento acelerado das sementes das cultivares CD249STS e BRS382CV, contudo, a cultivar NA5909RR tem sua viabilidade e vigor comprometidos devido a presença do herbicida. O aumento do resíduo do herbicida afeta o crescimento das plântulas das cultivares de soja pela medição de seus comprimentos de parte aérea e raiz. Ainda, o desempenho das plântulas das cultivares NA5909RR e CD249STS apresentou maior vigor pelos testes de emergência em campo e índice de velocidade de emergência, em comparação à cultivar BRS382CV.

Para o experimento de azevém em sucessão a soja não houve interação entre os fatores estudados para nenhuma das épocas de coletas das plantas. Ocorreu efeito simples do fator cultivar para coleta de MMSPA aos 60, 120 e 150 DAE (tab.7). Ainda, verificou-se efeito simples do fator doses para a variável MMSPA aos 60, 90 e 120 DAE, ajustando-se a equação polinomial linear, com R² variando de 0,74 a 0,88, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Fig.: 13, 14 e

15). Para avaliação aos 180 DAE não houve diferença significativa entre os fatores avaliados (dados não apresentados).

A coleta aos 60 DAE apresentou diferença entre as cultivares, sendo que onde foi cultivado a CV verificou-se maior acúmulo de MMSPA comparado às demais. Aos 120 DAE houve maior incremento da MMSPA onde foi semeada a cultivar RR, comparado a CV. Na coleta seguinte, aos 150 DAE, o comportamento foi semelhante, sendo verificado maior acúmulo de MMSPA na área anteriormente semeada com a cultivar RR, em detrimento das demais cultivares avaliadas (tab.7).

O comportamento diferencial da primeira época em relação às demais pode ter relação com a tecnologia Cultivance®, pois esta pode apresentar alguma vantagem adaptativa, reduzindo a concentração desses herbicidas no solo o suficiente para controlar as plantas daninhas e não causar danos às espécies forrageiras em sucessão. Resultados semelhantes podem ser observados onde o resíduo do herbicida imazapyr+imazapic em área anteriormente semeada com arroz irrigado, cultivar Puitá INTA CL, tolerante ao herbicida, apresentou aumento de MMSPA da pastagem de azevém, em comparação com área semeada com cultivar suscetível (MARTINS, 2014).

Tabela 7 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de plantas de azevém semeadas em sucessão às cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 60, 120 e 150 dias após a emergência (DAE).(603, 663 e 693 dias após a aplicação). ETB/UFPel, 2014

Cultivar	MMSPA		
	60DAE (g)	120DAE (g)	150DAE (g)
BRS382CV	8,32 a ¹	65,3 b	65,3 b
CD249STS	6,31 b	84,8 ab	67,0 b
NA5909RR	6,16 b	96,7 a	81,5 a
C.V. (%)	28,54	32,5	20,32

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A persistência no solo dos compostos do grupo químico das imidazolinonas com atividade herbicida é variável com o produto, a dose e as condições ambientais (SILVA et al., 1999) com destaque para umidade do solo (CURRAN et al., 1992) e teor de matéria orgânica (STOUGAARD; SHEA; MARTIN, 1990). Assim sendo, o comportamento dessas moléculas torna-se importante para o sistema de cultivo, pois a disponibilidade de herbicidas na solução do solo tem alta correlação com a

fitotoxicidade em plantas (LEE et al., 2004). Nessas condições, os herbicidas imazapyr e imazapic têm probabilidade de permanecer adsorvidos ao solo, aumentando sua persistência e os efeitos sobre culturas em sucessão.

Considerando as épocas de coleta de MMSPA do azevém aos 60, 90 e 120 DAE foi possível observar decréscimo linear da variável, conforme aumento do resíduo do herbicida (Fig. 13, 14 e 15). Observou-se, através das equações lineares das curvas, que conforme dobrou a dose do herbicida, reduziu-se a metade a MMSPA para as três épocas de avaliação. Resultados semelhantes foram observados no caso em que para cada 50g ha⁻¹ de acréscimo, a dose de 100g ha⁻¹ de herbicidas do grupo das imidazolinonas reduziu-se até 909kg ha⁻¹ o acúmulo de massa de matéria seca do azevém, em diferentes ambientes (PINTO et al., 2011).

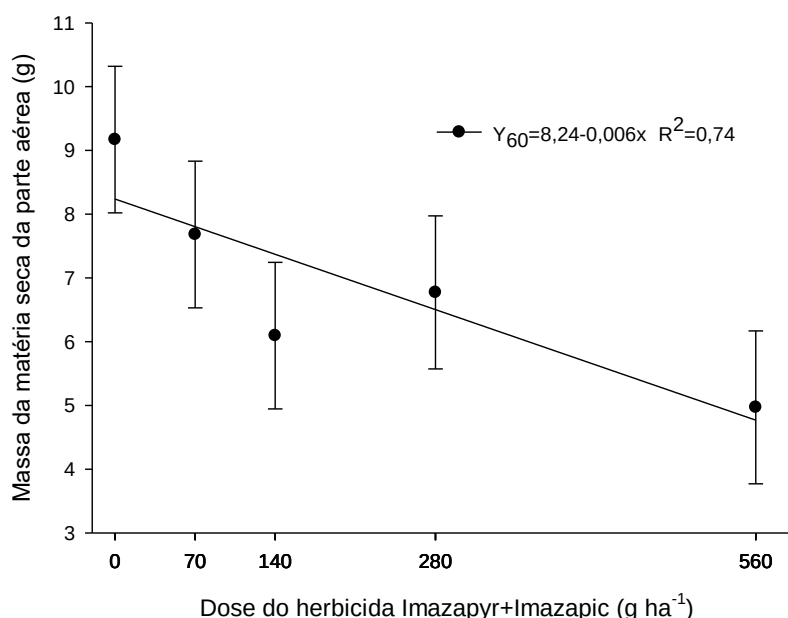


Figura 13 – Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 60 dias após emergência. (603 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

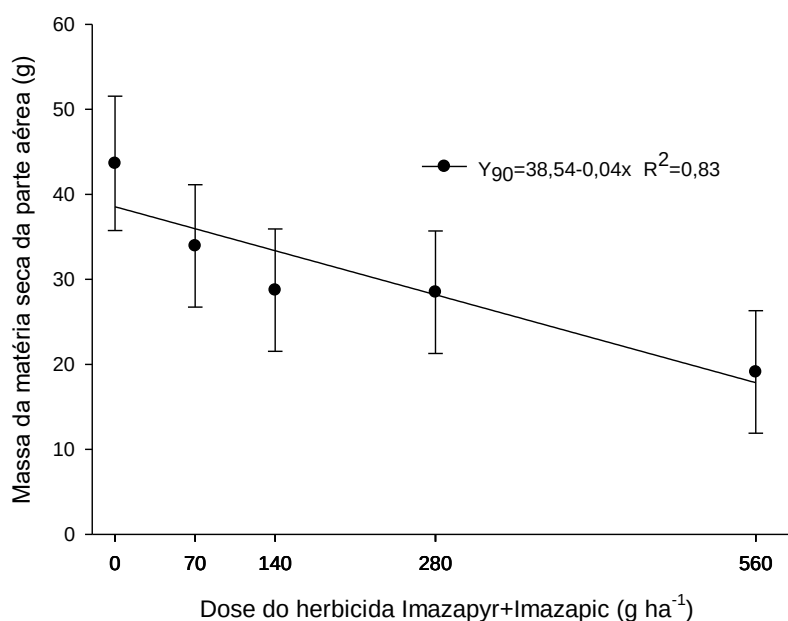


Figura 14 – Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 90 dias após emergência.(633 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Em trabalho para avaliar a persistência dos herbicidas imazapyr+imazapic e imazethapyr+imazapic na MMSPA do azevém semeado em sucessão ao arroz, não foi verificada diferença aos 60 dias após a emergência (DAE), porém, aos 90 DAE observou-se diferença entre os herbicidas (MARTINS, 2014). Para o herbicida imazapyr+imazapic não houve diferença para a variável, quando avaliada no resíduo correspondente a dose 140g ha⁻¹ para o azevém (MARTINS, 2014). Por outro lado o resíduo do herbicida imazapyr+imazapic 280g ha⁻¹ produziu menos massa da matéria seca da parte aérea das culturas trevo branco, cornichão e azevém semeadas consorciadas, comparada a testemunha e o resíduo 140g ha⁻¹ (MARTINS, 2014). Ainda, resultados semelhantes foram observados no caso em que o aumento da dose de herbicidas do grupo das imidazolinonas promoveu maior redução da massa de matéria seca da parte aérea de plantas de azevém sob diferentes graus de umidade (ÁVILA et al., 2010a).

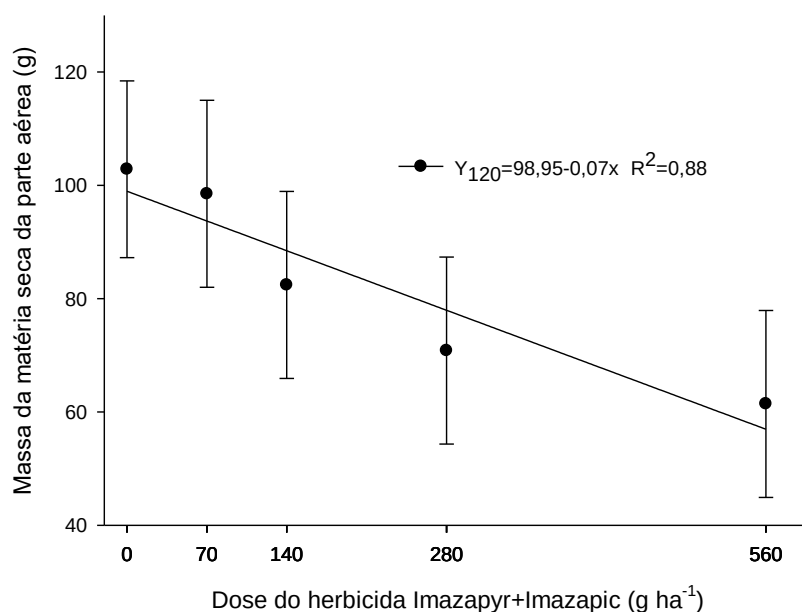


Figura 15 – Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) de azevém semeado em sucessão a soja em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 120 dias após emergência. (663 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Diante do exposto, há necessidade de mais pesquisas referentes à influência da atividade residual do herbicida imazapyr+imazapic no desempenho de culturas semeadas em rotação/sucessão ao Sistema Cultivance®. O conhecimento do manejo de herbicidas residuais é ferramenta fundamental para o produtor no controle de plantas daninhas e consequente produção de sementes de qualidade.

2.4 Conclusões

A cultivar de soja BRS382CV é resistente ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado conduzido sob sistema Cultivance® porém, as cultivares CD249STS e NA5909RR são suscetíveis.

A produtividade das cultivares de soja é afetada pelo resíduo do herbicida, assim como seus componentes de rendimento biológico.

O resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic afeta positivamente a qualidade fisiológica das sementes das cultivares de soja.

O azevém semeado em sucessão à soja tem sua produção de massa da matéria seca da parte aérea reduzida pelo aumento do resíduo da dose do herbicida imazapyr+imazapic.

3 CAPÍTULO II - Alterações morfológicas, metabólicas e atividade da enzima acetolactato sintase em plantas de soja submetidas a aplicação de herbicidas do grupo das imidazolinonas

3.1 Introdução

Herbicidas do grupo das imidazolinonas são eficientes no controle de amplo espectro de plantas daninhas, sendo utilizados em misturas comerciais como imazapyr+imazapic para controle de arroz-vermelho em arroz cultivado no sistema Clearfield®. Entretanto, em virtude de seu baixo coeficiente de adsorção e limitada degradação sob condições anaeróbicas, esses herbicidas podem permanecer no ambiente e causar contaminação (BUNDT et al., 2015). A presença desses herbicidas no solo pode causar problemas à culturas não tolerantes cultivadas em sucessão ou rotação (VILLA et al., 2006).

A rotação arroz/soja proporciona diversas vantagens que, além de facilitar o controle de arroz-vermelho, permite melhor utilização dos recursos do solo, otimiza o uso de máquinas e mão-de-obra, diversificando a fonte de renda do agricultor (BAMBERG et al., 2009). Contudo, há certa resistência à utilização deste sistema pelas características físicas desfavoráveis ao cultivo da soja, com pouca profundidade efetiva, camada impermeável próxima a superfície, pouca aeração e elevada densidade, tornando o solo deficiente em drenagem (VERNETTI; VERNETTI 2013).

O surgimento de novas tecnologias como a soja Cultivance® é alternativa viável para manejo do arroz-vermelho em áreas contendo resíduo de herbicidas do grupo das imidazolinonas. Estes herbicidas atuam inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS) que atua na primeira etapa de síntese dos aminoácidos de cadeia

ramificada valina, leucina e isoleucina. A incapacidade das células produzirem esses aminoácidos causa morte celular, uma vez que são fundamentais à síntese de proteínas e derivados, além de serem essenciais a outras rotas metabólicas (TAN et al., 2005; RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

A aplicação de herbicidas, mesmo que determinado ingrediente ativo seja seletivo para cultura, pode causar alterações na morfologia da planta como fitotoxicidade e consequente diminuição da estatura, área foliar e massa da matéria seca da parte aérea (SONG et al., 2007). Alguns produtos podem reduzir a produtividade sem apresentar efeitos visualmente detectáveis, outros, porém, causam maiores danos mas a cultura obtém recuperação plena (FERREIRA et al., 2005).

Em plantas, as espécies reativas de oxigênio (EROs) podem ser produzidas em reações ocorridas nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (FOYER; NOCTOR, 2005). Essas moléculas, tais como radical hidroxila (*OH), radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são extremamente reativas e fitotóxicas, causando peroxidação lipídica e desnaturação proteica (BOWLER; VAN MONTAGU; INZÉ, 1992), podendo levar a morte celular (GILL; TUTEJA, 2010).

Para sobreviver a ação das EROs, as plantas possuem mecanismos os quais permitem perceber e traduzir sinais externos, a fim de desencadear respostas adaptativas (MILLER et al., 2011). Com isso, as plantas desenvolveram dois mecanismos de proteção, um sistema antioxidante enzimático, onde atuam enzimas como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) e outro não enzimático, onde estão incluídos as clorofilas e os carotenoides (JIANG; YANG, 2009; MITTLER, 2002). A partição entre estes dois sistemas sob condições de estresse pode ser regulada pela concentração de O_2 no sistema (BLOKHINA; VIROLAINEN; FAGERSTEDT, 2003).

A soja Cultivance[®] é derivada de único evento de transformação obtido pela introdução por biobalística do gene *csr1-2* de *Arabidopsis thaliana*. O gene *csr1-2* codifica a subunidade maior da enzima ALS que confere tolerância a herbicidas do grupo das imidazolinonas. A tolerância a esses herbicidas ocorre devido a mutação pontual que resulta na substituição do aminoácido serina, na posição 653, por asparagina (TAN et al., 2005). A subunidade catalítica da enzima ALS possui propriedade de ligação com os herbicidas, mas conserva a função normal biossintética na planta (PANG; DUGGLEBY; GUDDAT, 2002).

A enzima ALS catalisa a descarboxilação de uma molécula de piruvato e sua condensação com outra molécula de piruvato ou α -cetobutirato. A primeira reação produz acetolactato, precursor da valina e leucina e, a segunda reação produz acetohidroxibutirato, precursor da isoleucina. A atividade da enzima ALS é regulada pela concentração final destes aminoácidos, sendo suscetível a inibição pelos herbicidas inibidores da enzima ALS, como exemplo, os grupos das sulfonilureias e imidazolinonas (CHIPMAN; BARAK; SCHLOSS, 1998). Porém, a sensibilidade da enzima na regulação da retroalimentação pode ser influenciada pelas mutações que ocorrem em plantas resistentes ao inibidor (DUGGLEBY; PANG, 2000). A insensibilidade pela inibição por retroalimentação de alguns ou dos três aminoácidos pode ser afetada pelo tipo de substituição que confere a resistência (EBERLEIN et al., 1997).

A identificação do mecanismo de resistência aos herbicidas inibidores da ALS em plantas pode ser determinada pela atividade da enzima ALS, através do acúmulo de acetoína na presença e ausência da molécula herbicida inibidora da enzima, em que apenas plantas resistentes acumulam acetoína (GERWICK; MIRELES; EILERS, 1993). Entretanto, a maior parte dos estudos demonstra não haver mudanças drásticas na afinidade da enzima pelo substrato em plantas resistentes, mas que elas mudam a sensibilidade da enzima ALS à inibição por retroalimentação dos aminoácidos de cadeia ramificada, resultando em acúmulo desses aminoácidos (EBERLEIN et al., 1997; PRESTON et al., 2006; ASHIGH; TARDIF, 2007).

Diante disso, o trabalho teve por hipóteses que o resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic causa fitotoxicidade, reduz a estatura, área foliar e massa da matéria seca da parte aérea de cultivares de soja suscetíveis, comparadas à cultivar resistente, contendo a tecnologia Cultivance®; a alteração no metabolismo secundário das cultivares de soja suscetíveis ao herbicida é superior, comparativamente à cultivar resistente; e, a atividade da enzima ALS é maior na cultivar resistente, em comparação às cultivares suscetíveis.

Os objetivos deste estudo foram avaliar as alterações morfológicas e metabólicas de cultivares de soja contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância as sulfonilureias e Roundup Ready®, frente ao resíduo de doses crescentes da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado; e, quantificar a atividade da enzima ALS em cultivares de soja resistentes ou não ao herbicida imazapic.

3.2 Material e Métodos

Neste estudo foram realizados dois experimentos: o primeiro foi conduzido em casa-de-vegetação do Centro de Herbologia (CEHERB) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no município de Capão do Leão – RS para avaliação das variáveis morfológicas e, posteriormente, coletou-se material vegetal para análises metabólicas no laboratório de metabolismo secundário do CEHERB/FAEM/UFPel. O segundo experimento foi conduzido no laboratório de plantas daninhas da Embrapa Trigo, no município de Passo Fundo – RS, para quantificação da atividade da enzima ALS.

3.2.1 Morfologia e Metabolismo Secundário

O experimento foi conduzido em delineamento experimental completamente casualizado, em esquema fatorial (3x5), com sete repetições. O fator A foi composto pelas cultivares de soja (BRS382CV (CV), CD249STS (STS) e NA5909RR (RR), contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância a sulfonilureias e Roundup Ready®, respectivamente); e, o fator B, pelos resíduos das diferentes doses da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, conforme descrito no Capítulo I. Coletou-se solo na área descrita no Capítulo I que continha resíduo e, alocado em vasos plásticos com capacidade volumétrica de 3L. Foram semeadas 16 sementes por vaso e, posteriormente, efetuado desbaste para estabelecer oito plantas por unidade experimental.

As variáveis avaliadas foram fitotoxicidade a cultura, estatura, área foliar (AF), massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) e metabólitos secundários. A fitotoxicidade foi avaliada aos 20 e 30 dias após a emergência da cultura da soja (DAE), correspondendo aos 375 e 385 dias após a aplicação do herbicida no manejo do arroz, em escala percentual, onde 0 (zero) representou a ausência de danos e 100 (cem) a morte das plantas (FRANS et al., 1986). A estatura foi avaliada aos 20 e 30 DAE com auxílio de régua milimetrada, medindo-se a distância da superfície do solo até o ponto de inserção da última folha. Para a avaliação da AF as plantas de soja foram seccionadas no nível do solo, separando-se as folhas que foram, posteriormente, levadas ao medidor de área foliar modelo LI 3100C. Depois de

quantificada essa variável, o material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, por 72 horas e pesado para quantificação da MMSPA.

Aos 30 DAE amostras foliares foram coletadas, em três repetições, e armazenadas a -83°C até as avaliações de metabolismo secundário. Os metabólitos secundários analisados foram aqueles que possuem envolvimento nos processos de estresse oxidativo, bem como os que possuem influência na manutenção da planta em condição de estresse. As variáveis analisadas foram: teor de clorofilas e carotenoides, teor de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e extravasamento de eletrólitos.

Os teores de clorofilas e carotenoides totais foram determinados com amostras de 0,1g maceradas em almofariz, em presença de 5mL de acetona a 80% (v/v). O material foi centrifugado a 12.000rpm por 10 minutos, completando-se o volume para 20mL com acetona a 80% (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) e de carotenoides totais foram calculados pelo uso das fórmulas de Lichtenthaler (1987) a partir da absorbância da solução, obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470nm, sendo os resultados expressos em mg g⁻¹ de massa fresca (MF).

Os danos celulares nos tecidos foram determinados em termos de teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), conforme descrito por Sergier, Alexieva e Karanov (1997) e das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por Heath e Packer (1968). Para a realização dessas duas análises, 0,2g de folhas foram macerados com nitrogênio líquido, homogeneizados em 2mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 14000rpm por 20 minutos. Para a quantificação de H₂O₂, alíquotas de 0,2mL do sobrenadante foram adicionadas em 0,8mL de tampão fosfato 10mM (pH 7,0) e 1mL de iodeto de potássio 1M, seguido de agitação em vortex. A solução foi mantida em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente e após a absorbância foi lida a 390nm. A concentração de H₂O₂ foi determinada através de curva padrão com concentrações conhecidas de H₂O₂ e expressa em mM g⁻¹ de MF. Para a determinação de TBARS, alíquotas de 0,5mL do sobrenadante descrito anteriormente foram adicionadas a 1,5mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) e ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos e, em seguida, foi determinada a absorbância a 532nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600nm. A

concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155mM cm^{-1} e os resultados expressos em nM MDA g^{-1} de MF.

Os danos celulares foram avaliados pela permeabilidade relativa das membranas, determinada por meio do extravasamento de eletrólitos conforme descrito por Tarhanen et al. (1999). Para isso, 0,2g de amostra foram seccionados com tesoura e colocadas em 25mL de água ultrapura e deixadas por quatro horas em banho-maria (25°C). Decorrido esse tempo, a condutância inicial (C_i) foi verificada utilizando-se condutímetro (Lutron, CD-4301). Posteriormente a essa leitura, as mesmas amostras foram colocadas em banho maria a 90°C por duas horas e feita a leitura da condutividade final (C_f). A permeabilidade relativa foi calculada pela relação $C_i/(C_i+C_f) \times 100$ e o resultado expresso em porcentagem.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). No caso de ser constatada significância estatística, realizou-se a comparação entre médias utilizando-se teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o fator cultivar e, análise de regressão para o fator dose.

A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007), ajustando-se os dados às equações de regressão polinomial do tipo linear ou quadrática, dependendo da variável, conforme seguem:

$$y = a + b \cdot x$$

onde: y = variável resposta; x = dose do herbicida; e a e b = parâmetros da equação, sendo que a é o intercepto ou coeficiente linear e b é a inclinação da reta.

$$y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$$

onde: y = variável resposta; x = dose do herbicida; e a , b e c = parâmetros da equação, sendo que a é o ponto de interceptação (valor da resposta para $x=0$); b indica taxa de variação na origem e c mede a declividade da curvatura e orientação da concavidade da parábola.

3.2.2 Atividade da enzima ALS

As sementes das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR foram semeadas em vasos plásticos com capacidade para 6L, preenchidos com substrato e solo. As plantas desenvolveram-se em casa de vegetação pertencente a Embrapa

Trigo por período de 40 dias e, após foram levadas até o laboratório de Plantas Daninhas, onde procedeu-se a extração e ensaio enzimático.

O método de extração enzimática seguiu a metodologia descrita por Singh, Stidham e Shaner (1988), com modificações. Utilizou-se 7g de material vegetal (folhas completamente expandidas), que foi congelado em nitrogênio líquido (N₂) e macerado em almofariz até formar pó fino. Após, ao material macerado foi acrescido 70mL (1:10 p/v) do tampão de extração fosfato 100mM, pH 7,5, a 4°C, contendo 0,5mM de cloreto de magnésio (MgCl₂); 10mM de piruvato de sódio; 0,5mM de tiamina pirofosfato (TPP); 10μM de flavina adenina dinucleotídeo (FAD); 10% v/v de glicerol; 1mM de ditioneitol e 5% (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Posteriormente, o material foi homogeneizado lentamente e mantido sob agitação por 20 minutos, a 4°C em banho de gelo, sendo posteriormente a mistura filtrada com gaze em quatro camadas para remoção e descarte dos resíduos sólidos. A fração líquida foi centrifugada a 12000rpm por 20 minutos, a 4°C em centrífuga refrigerada. Após a centrifugação, o sobrenadante foi reservado para uso posterior e o resíduo sólido foi descartado.

O experimento foi realizado em delineamento experimental completamente casualizado, com três repetições. O bioensaio *in vitro* foi realizado seguindo a metodologia proposta por Gerwick, Mireles e Eilers (1993) com algumas modificações. O bioensaio foi realizado em tubos de ensaio, sendo os tratamentos arranjados em esquema fatorial, onde o fator A foi composto pela solução enzimática das diferentes cultivares (BRS382CV (CV) - resistente; CD249STS (STS) e NA5909RR (RR) – suscetíveis), onde cada tubo recebeu 600μL desta solução (enzima) e, o fator B, foi composto por diferentes concentrações do herbicida imazapic (0; 0,001; 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 10; 50; 100 e 500μM), sendo acrescidos de 100μL da solução herbicida por tubo de ensaio. Cada tubo recebeu ainda 300μL do tampão de reação fosfato 80μM, pH 7,0, contendo 20mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 200mM de piruvato, 2mM de tiamina pirofosfato (TPP) e 20 μM de flavina adenina dinucleotídeo (FAD), totalizando 1000μL (volume final da reação). O bioensaio conteve dois tratamentos padrão sem herbicida: o primeiro denominado 0 (zero) e o segundo com 100% (cem) de atividade, sendo que o primeiro recebeu 50μL de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 3M no início do bioensaio para impedir a atividade da enzima e, o segundo, considerado o tratamento padrão, correspondendo à testemunha sem inibidor, foi adicionado 100μL de água milli-Q.

Os valores de absorvância desse tratamento foram descontados dos valores das leituras dos demais tratamentos com herbicida ou inibidor enzimático.

Após o preparo da reação nos tubos de ensaio, foi iniciado o primeiro período de incubação por 60 minutos a 30°C. A reação foi interrompida com adição de 50µL de solução de H₂SO₄ 3M em cada tubo de ensaio, exceto no controle zero em que a reação já havia sido interrompida inicialmente. A segunda incubação, por 15 minutos a 60°C, foi realizada para a formação da acetoína, a partir da reação do ácido sulfúrico com o acetolactato, formado durante a primeira reação. Para a formação do complexo colorido, foram adicionados 1000µL de solução de creatina a 0,5% p/v e 1000µL de 1-naphtol a 5% p/v, preparado em hidróxido de sódio (NaOH) 2,5M no momento do uso. A reação foi novamente incubada por 15 minutos a 60°C, para o desenvolvimento da cor. Os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e a absorvância lida em espectrofotômetro a 530nm.

Os valores referentes à atividade da enzima ALS foram apresentados por quantidade de acetoína produzida ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$), determinado pela curva padrão. A determinação da curva padrão de acetoína foi realizada em tubos de ensaio, com três repetições. Em cada tubo foi adicionado 1000µL de solução de acetoína nas concentrações de 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 200 e 400µM. Para a formação do complexo colorido foi adicionado em cada tubo 1000µL de solução de creatina 0,5% p/v e 1000µL de 1-naphtol 5% p/v, preparado em hidróxido de sódio (NaOH) 2,5M no momento do uso. Após o preparo da reação, a mistura foi incubada por 15 minutos a 60°C, para o desenvolvimento da cor. Os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e a absorvância lida em espectrofotômetro a 530nm.

Adicionalmente, foram calculados os parâmetros cinéticos K_M e $V_{\text{máx}}$ que informam a afinidade da enzima com o substrato. Para a obtenção do K_M e $V_{\text{máx}}$ foi realizado ensaio com dez diferentes concentrações do substrato (0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 100mM) em todas as cultivares (CV, STS e RR). Essas concentrações do substrato foram obtidas através da mistura do tampão de reação fosfato 80µM, pH 7,0, com a solução original de piruvato a 100mM. O primeiro foi composto por 20mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 2mM de tiamina pirofosfato (TPP) e 20µM de flavina adenina dinucleotídeo (FAD) e, a solução padrão foi composta por 100mL do tampão de reação com 100mM de piruvato.

Os valores de K_M e $V_{m\acute{a}x}$ foram determinados a partir da equação de Michaelis Menten ($p \leq 0,05$) (NELSON; COX, 2006) conforme segue, utilizando o software SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007).

$$y = V_{m\acute{a}x} * X / K_M + X$$

onde: y = atividade da enzima ALS ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mL}^{-1}$); $V_{m\acute{a}x}$ = velocidade máxima de reação; x = concentração do substrato (piruvato); e, K_M = concentração de substrato (piruvato) que fornece velocidade inicial igual à metade da velocidade máxima de reação.

Os valores de absorbância foram corrigidos subtraindo-se o valor do controle zero. A partir deles, foi calculado o I_{50} , que representa a quantidade do inibidor necessária para inibir 50% da atividade da enzima, utilizando o modelo logístico de regressão não linear (SEEFELDT; JENSEN; FUERST, 1995), conforme descrito abaixo, utilizando o software SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007).

$$y = a / [1 + (x / x_{I50})]^b$$

onde: y = atividade da enzima ALS (%); a é a diferença entre os pontos máximo e mínimo da curva; x é a dose do herbicida imazapic (μM); x_{I50} é a dose do herbicida imazapic (μM) correspondente a 50% da inibição da enzima ALS; e, b a declividade da curva. A partir dos valores de I_{50} , foi determinado o fator de resistência (FR), calculado pela divisão do I_{50} da cultivar resistente pelo valor correspondente das cultivares suscetíveis. O FR expressa o número de vezes em que a dose necessária para inibir 50% da atividade da enzima da cultivar resistente supera a dose que inibe 50% das cultivares suscetíveis (HALL; STROMME; HORSMAN, 1998).

Nas cultivares, ainda analisaram-se os teores de proteínas totais através da metodologia proposta por Bradford (1976). Após o preparo das amostras, foi realizada a leitura em espectrômetro a 595nm, sendo o teor de proteína de cada cultivar interpolado com a curva padrão de proteína.

3.3 Resultados e Discussão

A apresentação dos resultados e discussão de cada experimento estão descritos a seguir, adotando-se a sequência dos materiais e métodos.

3.3.1 Morfologia e Metabolismo Secundário

No primeiro experimento verificou-se interação entre os fatores cultivar e doses para as variáveis fitotoxicidade aos 20 e 30 dias após a emergência (DAE),

AF e MMSPA (Fig. 16, 17, 20 e 21; tab.8 e 10). Para a variável estatura aos 20 e 30 DAE observou-se efeito simples dos fatores cultivar (tab.9) e doses (Fig. 18 e 19).

Para fitotoxicidade aos 20 DAE, considerando o resíduo da dose preconizada do herbicida (140g ha^{-1}), a cultivar STS apresentou aumento de 933% de fitotoxicidade e, a cultivar RR 2300%, comparadas a cultivar CV (Fig. 16; tab.8). Em relação as doses do herbicida, os dados referentes a cultivar RR não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Já para as cultivares STS e CV ajustaram-se a equação polinomial linear, com coeficiente de determinação (R^2) variando de 0,91 a 0,93, demonstrando ajuste satisfatório. Observou-se aumento linear da fitotoxicidade conforme elevação da dose, sendo verificado incremento de duas vezes a variável para cada unidade acrescida do herbicida para a cultivar STS, comparada a CV (Fig. 16).

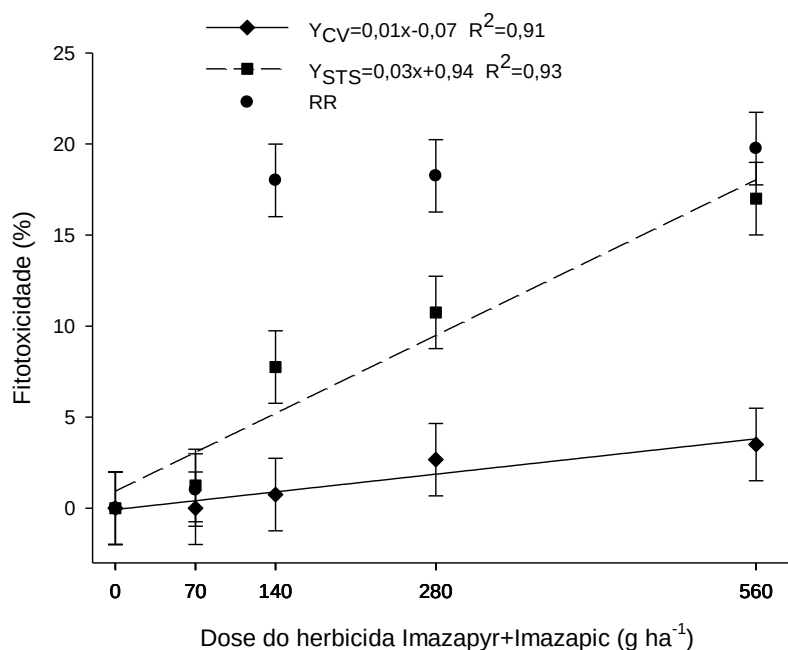


Figura 16 - Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE).(375 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Aos 30 DAE, observou-se que no resíduo da dose preconizada do herbicida não houve diferença entre as cultivares STS e CV, contudo a cultivar RR apresentou 205% de fitotoxicidade comparada a CV (Fig. 17; tab.8). No que se refere às doses do herbicida, os dados referentes a cultivar CV não se ajustaram aos modelos

testados. Para as demais cultivares os dados ajustaram-se a equação polinomial linear, com R^2 variando de 0,93 a 0,95, demonstrando ajuste. Verificou-se aumento linear da fitotoxicidade conforme elevação da dose, observando-se que a medida que duplica o resíduo, a fitotoxicidade das cultivares RR e STS dobra (Fig. 17).

Resultados semelhantes foram encontrados na cultura do arroz irrigado contendo a tecnologia Clearfield®, onde foi observada fitotoxicidade inicial após utilização de herbicidas do grupo das imidazolinonas com posterior recuperação das plantas (VILLA et al., 2006). A aplicação de herbicidas deste grupo em girassol tolerante causou fitotoxicidade as culturas da canola e da beterraba semeadas em rotação (SÜZER; BÜYÜK, 2010). Ainda, a utilização desses herbicidas na cultura da soja provocou fitotoxicidade em plantas de milho semeadas em sucessão (DAN et al., 2012). As plantas submetidas a condições de estresse, como soja em ambiente de terras baixas, têm maior dificuldade em metabolizar herbicidas inibidores da enzima ALS, mantendo o produto por maior tempo na planta, resultando maior fitotoxicidade (ROMAN et al., 2007).

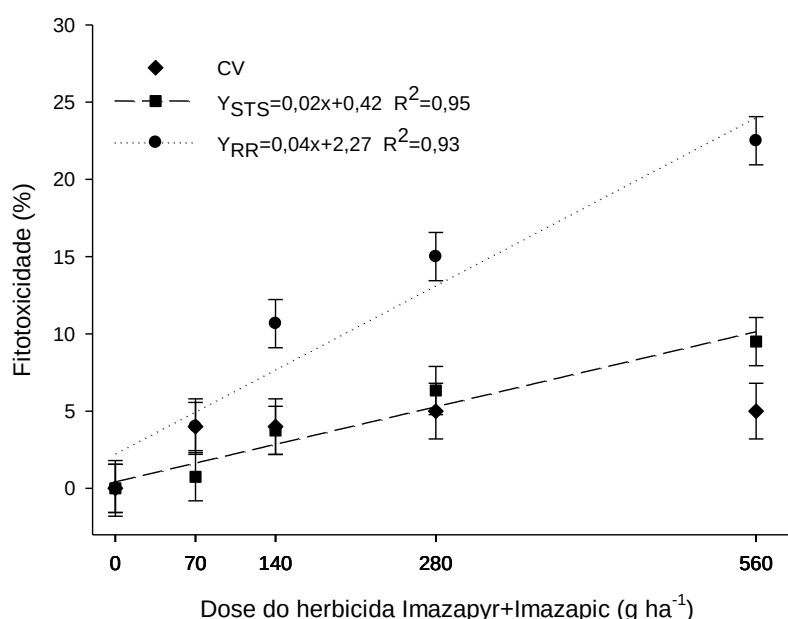


Figura 17 - Fitotoxicidade (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 8 - Fitotoxicidade das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic aos 20 e 30 dias após a emergência (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	Fitotoxicidade aos 20 DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a ¹	0 a	0,8 c	3,5 c	3,7 b
CD249STS	0 a	1,3 a	7,8 b	10,8 b	17,0 a
NA5909RR	0 a	2,5 a	18,0 a	18,3 a	19,7 a
C.V. (%)	28,26				
Cultivar	Fitotoxicidade aos 30 DAE (%)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0 a	4,7 a	3,5 b	5,0 b	4,5 c
CD249STS	0 a	0,8 a	3,8 b	6,3 b	9,5 b
NA5909RR	0 a	4,0 a	10,7 a	15,0 a	22,5 a
C.V. (%)	26,62				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As cultivares de soja CV e STS apresentaram maior estatura aos 20 DAE, comparadas à cultivar RR (tab.9). Com relação às doses, os dados referentes à estatura ajustaram-se a equação polinomial linear, com R² de 0,81, considerado satisfatório. Verificou-se decréscimo linear da variável em virtude do aumento da dose do herbicida, sendo observado que, conforme duplicava o resíduo, a variável reduzia-se a metade (Fig. 18). Aos 30 DAE maior incremento na estatura foi observado na cultivar CV, comparada as demais (tab.9). Quanto às doses, os dados ajustaram-se a equação polinomial linear, com R² de 0,81, com comportamento semelhante a estatura aos 20 DAE (Fig. 19).

Tabela 9 - Estatura (cm) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo do herbicida imazapic+imazapyr, avaliada aos 20 e 30 dias após emergência (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014

Cultivar	Estatura (cm)	
	20 DAE	30 DAE
BRS382CV	20,52 a ¹	23,88 a
CD249STS	17,79 b	20,79 b
NA5909RR	19,77 a	22,07 b
C.V. (%)	10,61	7,65

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em plantas de milho submetidas ao resíduo de herbicidas do grupo das imidazolinonas, aplicados no manejo da cultura da soja, observou-se redução na estatura das plantas (DAN et al., 2012). Já, em plantas de arroz não tolerante a esses herbicidas verificou-se menor estatura em função do resíduo (AVILA et al., 2010b). Ainda, acréscimo no resíduo de imazapyr+imazapic causaram diminuição na estatura das plantas de azevém, trevo branco e cornichão semeados em sucessão ao arroz irrigado (MARTINS, 2014).

A redução na estatura de plantas após a aplicação de herbicidas do grupo das imidazolinonas já foi observado em outras culturas, como o arroz irrigado (MARCHESAN et al., 2010), azevém, milho e sorgo (PINTO et al., 2011). Os herbicidas inibidores da enzima ALS caracterizam-se por apresentar, dentre outros sintomas, inibição dos pontos de crescimento e redução ou paralisação do desenvolvimento da planta (ROMAN et al., 2007).

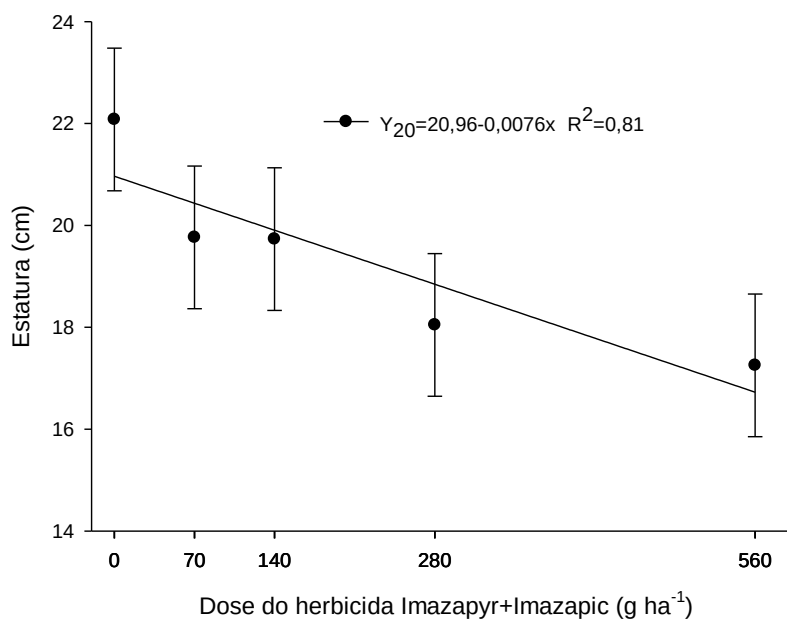


Figura 18 – Estatura (cm) de plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

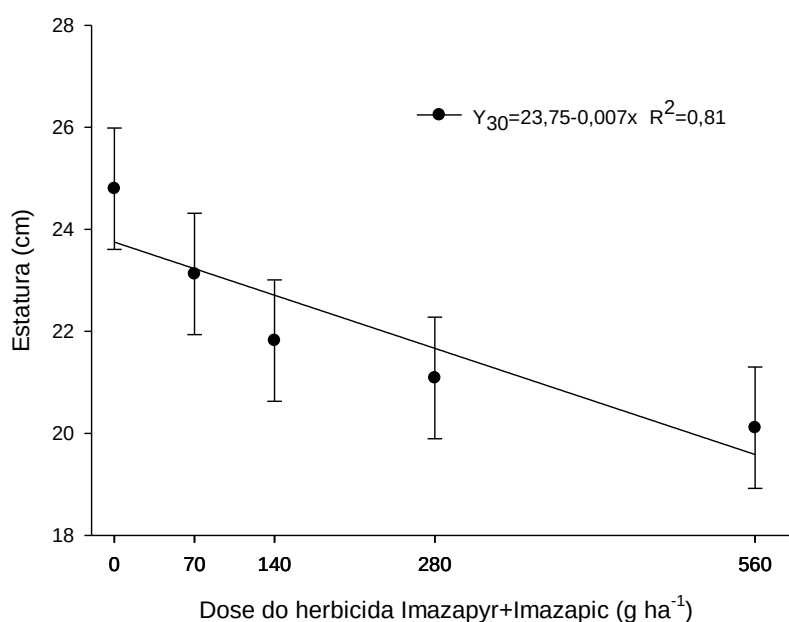


Figura 19 – Estatura (cm) de plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação) FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para variável AF, considerando o resíduo na dose 140g ha⁻¹, não se observou diferença entre as cultivares STS e CV. A cultivar RR apresentou AF 37,5% menor comparada à cultivar CV (Fig. 20; tab.10). Em relação às doses do herbicida, os dados referentes à cultivar CV não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Já as cultivares STS e RR ajustaram-se a equação polinomial linear, com R^2 variando de 0,66 a 0,91, demonstrando ajuste satisfatório. Verificou-se decréscimo linear da AF conforme elevação da dose, sendo que, a medida que duplica o resíduo a variável reduz-se a metade para as cultivares NA5909RR e CD249STS (Fig. 20). A diminuição da AF das cultivares de soja pode ser explicada em virtude do aumento da fitotoxicidade, conforme elevação da dose do resíduo do herbicida imazapyr+imazapic (Fig. 17). Este resultado era esperado em função da cultivar BRS382CV apresentar resistência a herbicidas do grupo das imidazolinonas.

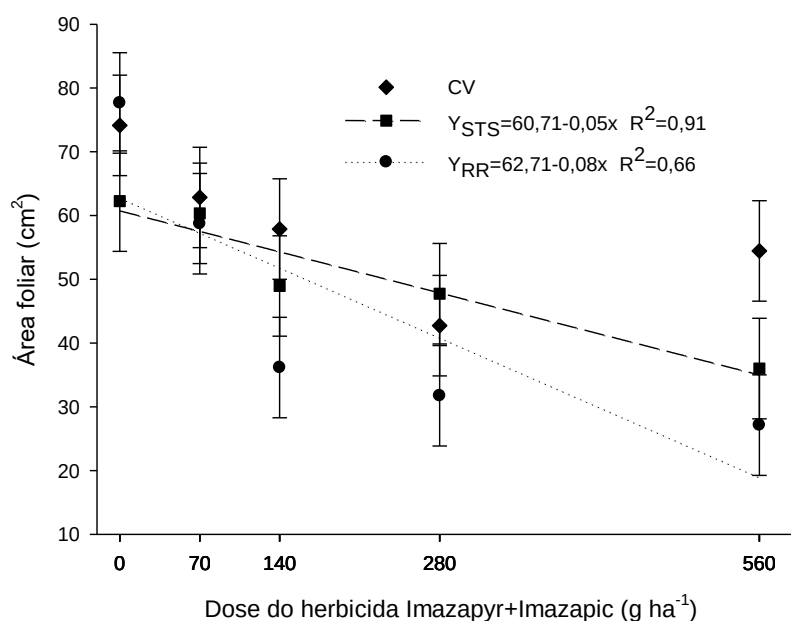


Figura 20 - Área foliar (cm²) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, quantificada aos 30 dias após a emergência (DAE).(385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para MMSPA, não foi observada diferença entre as cultivares avaliadas, considerando o resíduo da dose preconizada de 140g ha⁻¹ (Fig. 21; tab.10). No que se refere às doses, os dados referentes a cultivar CV não se ajustaram a nenhum modelo testado. As demais cultivares ajustaram-se a equação polinomial linear, com R² variando de 0,73 a 0,94, demonstrando ajuste. Observou-se decréscimo linear da variável conforme elevação da dose, sendo observado que, a medida que duplica o resíduo, a variável reduz-se a metade para as cultivares NA5909RR e CD249STS (Fig. 21). Em trabalho para avaliar a atividade residual de imazapyr+imazapic na cultura da soja, não foi verificado diferença na MMSPA para o resíduo da dose preconizada de 140g ha⁻¹. Porém, o aumento do resíduo destes herbicidas reduziu a MMSPA de trevo branco e azevém semeadas em sucessão ao arroz irrigado (MARTINS, 2014).

Os resultados das variáveis morfológicas permitem inferir que a elevação do resíduo da dose de imazapyr+imazapic aumentou a fitotoxicidade a cultura, diminui a estatura, área foliar e massa da matéria seca da parte aérea das plantas das

cultivares de soja avaliadas. A cultivar de soja NA5909RR apresentou maior suscetibilidade ao resíduo do herbicida comparada a CD249STS e BRS382CV.

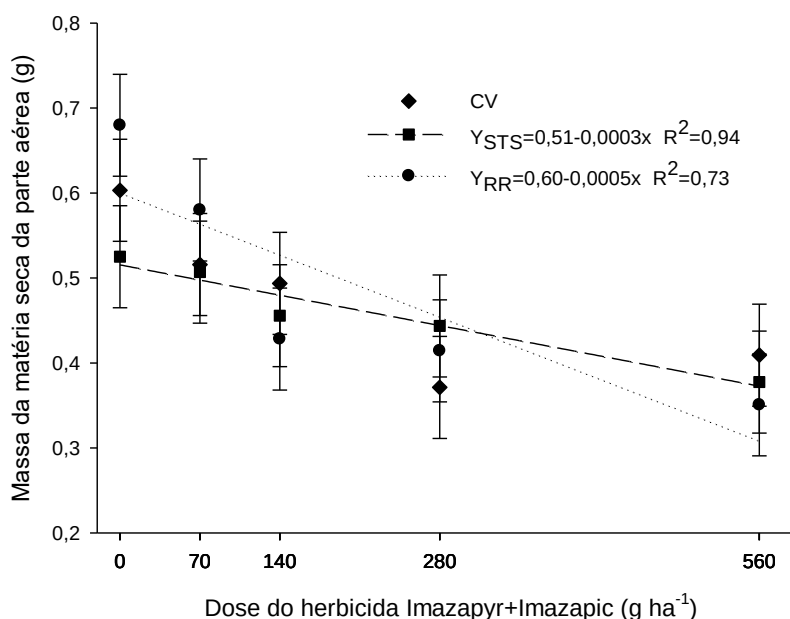


Figura 21 - Massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, quantificada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). ETB/FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 10 - Área foliar (cm²) e massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) (g) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência das plantas (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	Área foliar (cm²)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	74,1 a ¹	62,8 a	57,9 a	40,8 a	56,9 a
CD249STS	62,3 a	60,3 a	49,0 ab	47,7 a	36,0 b
NA5909RR	77,7 a	58,7 a	36,2 b	31,7 a	27,1 b
C.V.(%)	14,93				
Cultivar	MMSPA (g)				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	0,6 ab	0,5 a	0,5 a	0,4 a	0,4 a
CD249STS	0,5 b	0,5 a	0,5 a	0,4 a	0,4 a
NA5909RR	0,7 a	0,6 a	0,4 a	0,4 a	0,4 a
C.V.(%)	13,44				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para as variáveis clorofila *a*, *b* e totais, aos 20 DAE, não houve interação entre os fatores cultivar e doses. Verificou-se efeito simples de cultivar para as variáveis teor de clorofila *b* e totais (tab.11). Não foi evidenciada significância para o teor de carotenoides, teor de clorofila *a* e relação *a/b* (dados não apresentados). Aos 30 DAE não se verificou significância para nenhuma das variáveis relacionadas à clorofila (dados não apresentados).

Os teores de clorofila *b* e totais apresentaram comportamento similar, sendo observado maior incremento das variáveis para cultivar RR comparado a CV e STS (tab.11). O teor de clorofila nas folhas também indica o nível de dano que determinado estresse, como a utilização de herbicidas, pode estar causando à planta, já que a clorose é, normalmente, um dos primeiros sintomas expressos (CATUNDA et al., 2005).

Tabela 11 - Teor de clorofila *b* (mg g⁻¹) e clorofilas totais (mg g⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, avaliadas aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹)	Clorofilas totais (mg g ⁻¹)
BRS382CV	1,57 b ¹	1,77 b
CD249STS	1,43 b	1,61 b
NA5909RR	1,90 a	2,14 a
C.V. (%)	22,86	23,32

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para variável teor de peróxido de hidrogênio o comportamento foi similar nas duas épocas de coleta do material vegetal. Não foi verificada interação entre os fatores estudados para variável aos 20 e 30 DAE, sendo observado, em ambas as avaliações, efeito simples para o fator cultivar. Ainda, verificou-se que, tanto aos 20 quanto aos 30 DAE, o teor de peróxido de hidrogênio foi maior nas cultivares RR e CV, comparadas a STS (tab.12).

Para variável peroxidação lipídica aos 20 DAE não foi verificada interação entre os fatores estudados, somente observou-se efeito simples para o fator doses. Os dados ajustaram-se de forma satisfatória a equação polinomial linear, com R² de 0,91, sendo observado aumento linear da variável conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic, verificando que, conforme duplica o resíduo, dobra o valor da variável avaliada (Fig. 22).

Tabela 12 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (mM g^{-1} MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapic+imazapyr, avaliado aos 20 e 30 dias após a emergência das plantas (DAE). (375 e 385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014

Cultivar	Teor de H_2O_2 (mM g^{-1} MF)	
	20 DAE	30 DAE
BRS382CV	2,95 a ¹	4,58 a
CD249STS	2,32 b	3,32 b
NA5909RR	3,18 a	4,21 a
C.V. (%)	20,08	22,80

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

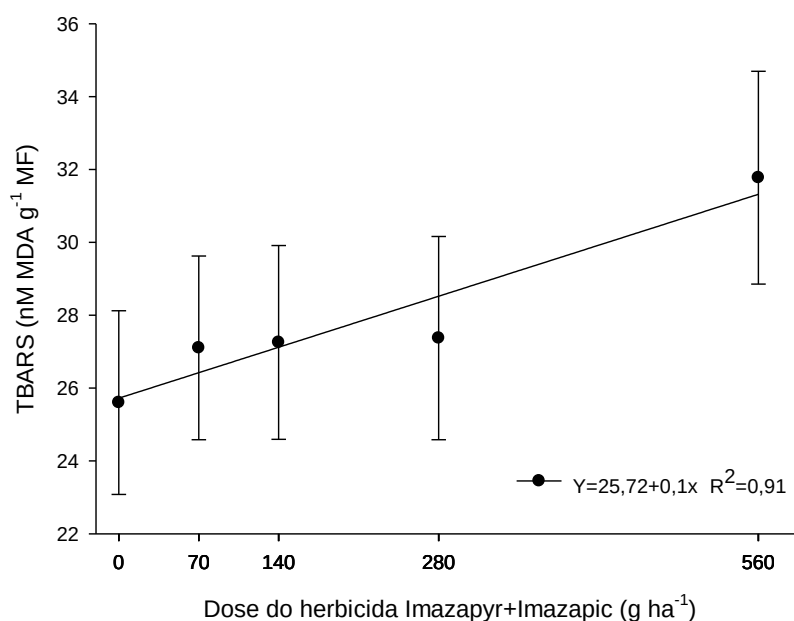


Figura 22 – Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g^{-1} MF) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic, avaliada aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação) FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para peroxidação lipídica aos 30 DAE foi verificada interação entre os fatores estudados (Fig. 23; tab.13). Considerando o resíduo da dose preconizada de 140g ha^{-1} não foi observada diferença entre as cultivares. No que se refere às doses, os dados referentes as cultivares CV e STS não se ajustaram aos modelos testados, já a cultivar RR ajustou-se a equação polinomial linear, com R^2 de 0,89, demonstrando ajuste satisfatório. Observou-se aumento linear da variável conforme elevação da dose, sendo observado que, a medida que duplica o resíduo, a peroxidação lipídica dobra para cultivar RR (Fig. 23).

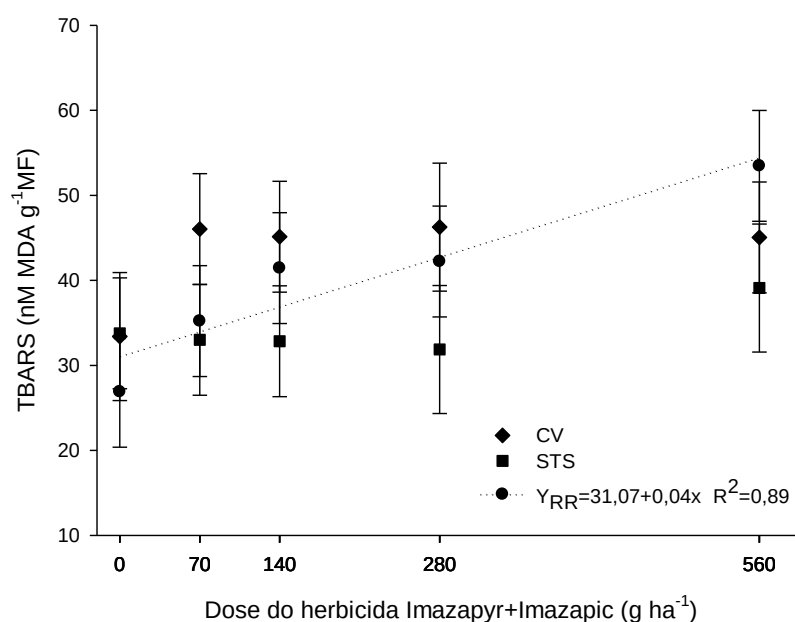


Figura 23 – Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g⁻¹ MF) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 13 - Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliada aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	TBARS (nM MDA g ⁻¹ MF) 30 DAE				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	33,39 a	48,16 a	45,13 a	41,30 a	43,62 a
CD249STS	33,78 a	31,62 b	29,78 a	31,86 a	39,09 a
NA5909RR	26,90 a	31,89 ab	41,44 a	42,22 a	53,47 a
C.V.(%)	16,82				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Maior aumento na peroxidação lipídica em plantas de cana de açúcar foi provocado em virtude da aplicação de doses crescentes do herbicida paraquat (CHAGAS, 2007). As EROs, que provocam elevados teor de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, em condições normais, devem estar em equilíbrio com o sistema antioxidante das plantas. Quanto maior for o estresse causado, neste caso

pelo aumento da dose do herbicida, maior será a formação de EROs. O processo de estresse oxidativo é ocasionado quando ocorre desequilíbrio entre as EROs e o sistema antioxidante (GILL; TUTEJA, 2010).

A peroxidação de lipídios representa a ação física propriamente dita dos herbicidas que atuam no processo fotossintético. Consequentemente, a funcionalidade e integridade celular podem ser afetadas, causando danos a célula. Isso ocorre como resultado do aumento da permeabilidade da membrana plasmática, que provoca o extravasamento de íons K^+ e outros solutos (CHAOUI et al., 1997), enquanto que, os danos às membranas intracelulares podem afetar a atividade respiratória nas mitocôndrias e a fotossíntese nos cloroplastos (SCANDALIOS, 2005).

Para variável extravasamento de eletrólitos aos 20 DAE foi verificada interação entre os fatores estudados (Fig. 24; tab.14). Considerando o resíduo da dose preconizada do herbicida não houve diferença entre as cultivares CV e RR, já a cultivar STS apresentou 7% menos extravasamento comparada a cultivar resistente. Em relação às doses do herbicida, os dados referentes às cultivares STS e RR não se ajustaram a nenhum modelo testado, já a cultivar CV ajustou-se a equação polinomial quadrática, com R^2 de 0,99, demonstrando ajuste satisfatório. Observou-se comportamento quadrático da curva, sendo que, para cultivar CV o ponto de máxima foi de $270,3g\ ha^{-1}$, o que correspondeu a 41,04% (Fig. 24).

Tabela 14 - Extravasamento de eletrólitos (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função do resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic ($g\ ha^{-1}$)				
	Extravasamento de eletrólitos (%) aos 20 DAE				
	0	70	140	280	560
BRS382CV	38,16 b ¹	39,53 b	40,03 a	39,96 a	36,17 b
CD249STS	42,12 a	41,95 a	37,16 b	36,63 b	36,21 b
NA5909RR	40,39 ab	39,18 b	40,17 a	39,50 a	40,81 a
C.V. (%)	2,21				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

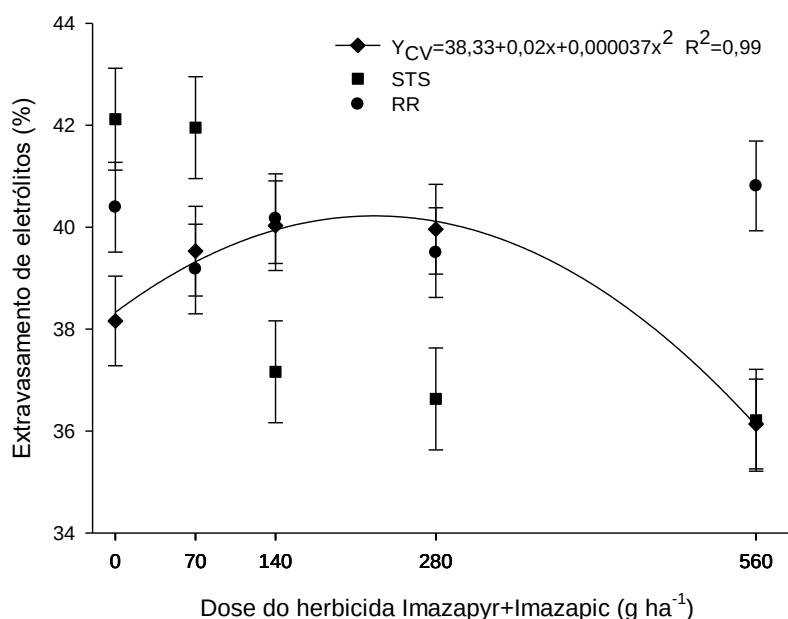


Figura 24 – Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 20 dias após a emergência (DAE). (375 dias após a aplicação). FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Aos 30 DAE não foi observada interação entre cultivar e doses para extravasamento de eletrólitos, verificando-se efeito simples para ambos os fatores estudados (tab.15). Observou-se maior extravasamento de eletrólitos em plantas da cultivar RR comparada às demais. Em relação às doses, os dados ajustaram-se de forma satisfatória a equação polinomial linear, com R^2 de 0,87. Verificou-se aumento linear da variável conforme elevação da dose do herbicida, sendo constatado que, conforme dobra o valor da dose duplica o valor da variável (Fig. 25).

O resultado obtido pode ser consequência do dano às membranas celulares devido à peroxidação lipídica, resultando em extravasamento do conteúdo celular para o meio que estiver envolvendo os tecidos danificados. Com isso, a determinação do extravasamento de eletrólitos em solução de incubação de tecidos vegetais tratados com os herbicidas, através da condutividade elétrica da solução, constitui-se em mais uma variável para avaliação do efeito dos herbicidas a nível celular (DAYAN et al., 1997; LI et al., 2000).

Tabela 15 - Extravasamento de eletrólitos (%) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao resíduo do herbicida imazapyr+imazapic, avaliado aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, 2014

Cultivar	Extravasamento de eletrólitos (%) aos 30 DAE
BRS382CV	33,19 b ¹
CD249STS	34,98 b
NA5909RR	38,04 a
C.V. (%)	6,84

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

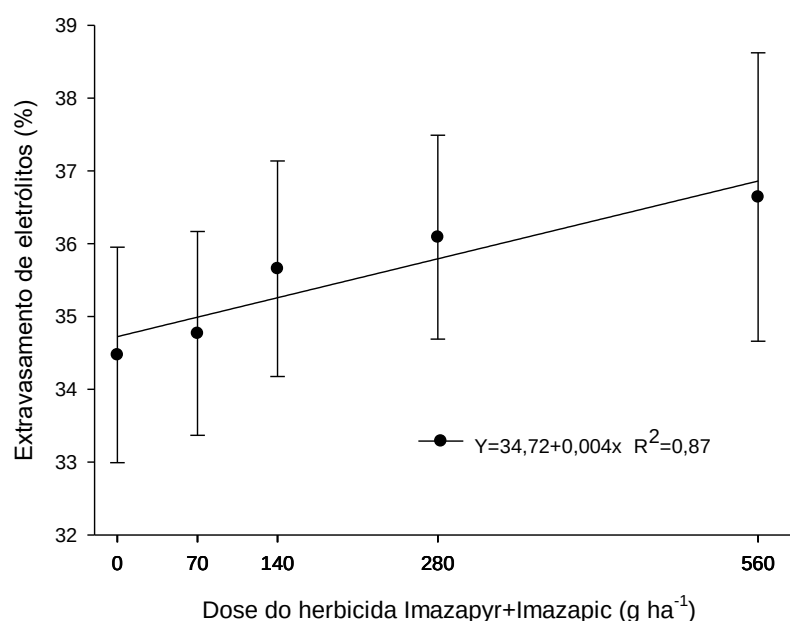


Figura 25 – Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas de cultivares de soja submetidas ao resíduo de doses crescentes de imazapyr+imazapic, avaliado aos 30 dias após a emergência (DAE). (385 dias após a aplicação). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Os resultados indicam que a elevação do resíduo de doses de imazapyr+imazapic aumenta a produção de EROs nas cultivares de soja avaliadas. A cultivar NA5909RR produz maior quantidade de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica e, por consequência, apresenta maior estímulo de seu sistema de defesa representada pelo maior teor de clorofila comparada a CD249STS e BRS382CV.

3.3.2 Atividade da enzima ALS

Para o segundo experimento, a atividade da enzima ALS em cultivares de soja suscetíveis (STS e RR) e resistente (CV) ao herbicida imazapic foi obtida através da

quantidade de acetoína produzida e, em função do teor de proteína. Os valores para cada cultivar foram obtidos através das curvas padrão de acetoína (Fig. 26) e de proteína (Fig. 27).

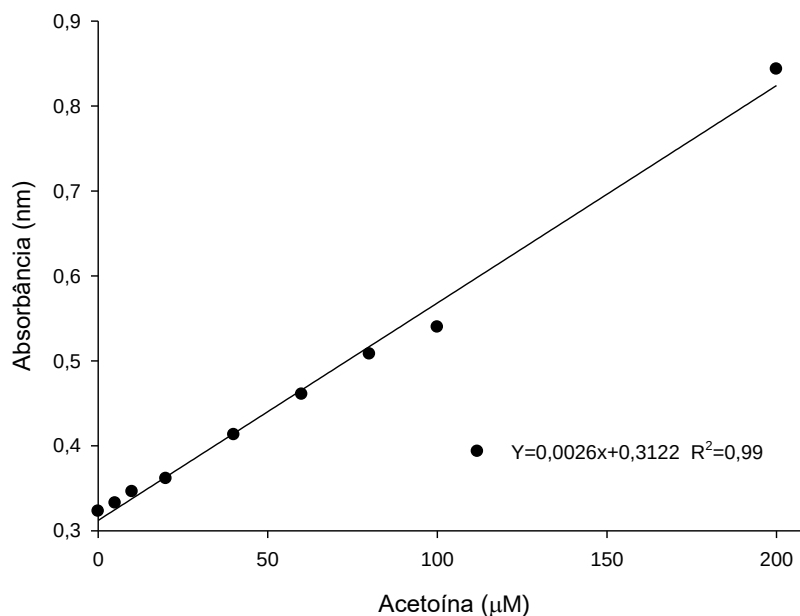


Figura 26 – Curva padrão de acetoína utilizada para a determinação da atividade da enzima ALS. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios de três repetições.

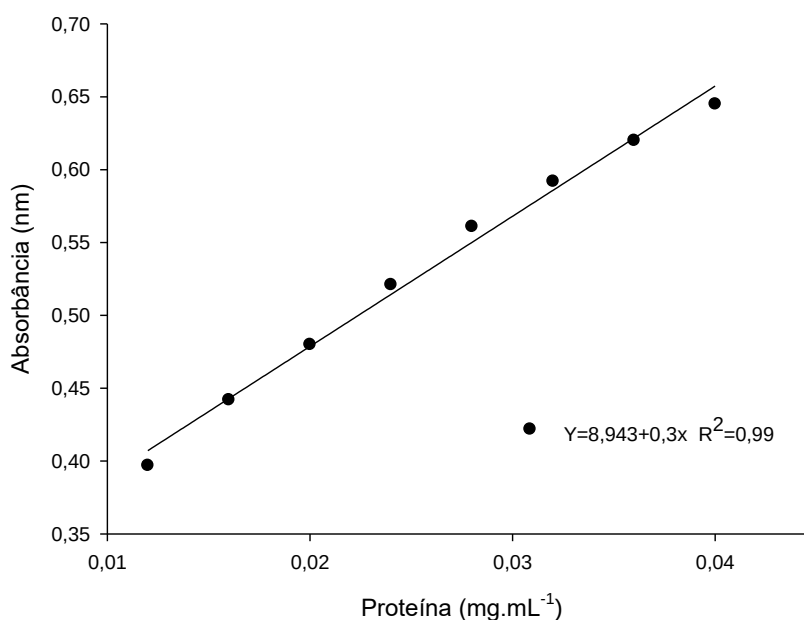


Figura 27 – Curva padrão de proteína utilizada para a determinação da atividade da enzima ALS. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios de três repetições.

Os valores de K_M (piruvato), considerando os intervalos de confiança, não diferiram entre as cultivares, no entanto, para cultivar resistente foi 7,3% superior a

cultivar STS e 18,3% a RR. Para o parâmetro $V_{m\acute{a}x}$ da enzima, os valores para as cultivares STS e RR foram 143,5 e 62,9% superiores, respectivamente, a cultivar CV (Fig. 28; tab.16). Quando a resistência está associada à alteração no local de ação do herbicida este pode ou não representar mudança na funcionalidade da enzima, resultando em inalterado, insuficiente ou excessivo produto da biossíntese (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009). A magnitude da alteração depende do tipo de mutação na enzima, ou seja, certos aminoácidos alterados podem causar impactos adversos na ligação do substrato e assim, alterar a funcionalidade da enzima ALS (YU; HAN; VILA-AIUB, 2010). Tanto as sulfonilureias quanto as imidazolinonas obstruem o canal que leva ao sítio ativo da enzima e, qualquer alteração nesse canal impede a ligação dos herbicidas, mantendo a conformidade da enzima e sua funcionalidade (MCCOURT et al., 2006). Em trabalhos com biótipos de plantas daninhas resistentes a inibidores da enzima ALS que possuem o local de ação inalterado foi verificado que os parâmetros cinéticos (K_M e $V_{m\acute{a}x}$) da enzima ALS dos biótipos resistentes e suscetíveis não foram alterados, o que resulta em insensibilidade da enzima (YU; HAN; VILA-AIUB, 2010; SANTOS et al., 2014). Todavia, os resultados deste trabalho evidenciam que houve aumento do parâmetro $V_{m\acute{a}x}$ nas cultivares suscetíveis comparada a cultivar resistente. A eficiência na conversão de piruvato pode ser aumentada desde que o $V_{m\acute{a}x}$ seja maior, uma vez que se trata de ligação não competitiva com o substrato, o acoplamento pode ocorrer no mesmo local ou em diferentes locais da enzima (DEWAELE et al., 1997). Biótipos de *Euphorbia heterophylla* L. suscetíveis a herbicidas inibidores da ALS apresentaram $V_{m\acute{a}x}$ superior aos biótipos resistentes (XAVIER et al., 2013), sugerindo que a mutação no gene que codifica a ALS não causou mudança significativa na afinidade da enzima com o substrato (VARGAS, 2000).

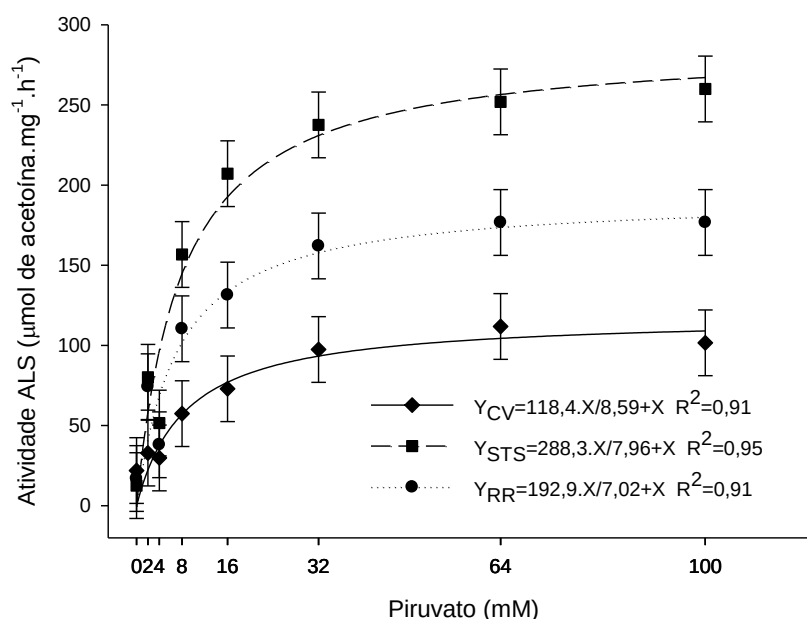


Figura 28 - Atividade da enzima acetolactato sintase (ALS) ($\mu\text{mol acetoina.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) das plantas das cultivares de soja suscetíveis (CD249STS e NA5909RR) e resistente (BRS382CV) ao herbicida imazapic, expressa em produção de acetoina, em função de diferentes concentrações de substrato (piruvato). Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 16 - Concentração de piruvato (K_M) (mM) e velocidade máxima da reação ($V_{\text{máx}}$) ($\mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapic. EMBRAPA Trigo, Passo Fundo, RS, 2014

Cultivar	K_M (mM)	$V_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$)
BRS382CV	8,59 (6,8 – 10,4) ¹	118,4 (111,1 – 125,6)
CD249STS	7,96 (6,7 – 9,2)	288,3 (274,4 – 302,2)
NA5909RR	7,02 (5,5 – 8,5)	192,9 (181,4 – 204,4)

¹ Valores entre parêntese representam o intervalo de confiança (95%).

Para atividade da enzima ALS na presença do herbicida imazapic houve interação entre os fatores estudados. Os dados referentes às cultivares suscetíveis (STS e RR) e resistente (CV) ajustaram-se a equação sigmoideal logística, com coeficiente de determinação variando de 0,80 a 0,92, respectivamente, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Fig. 29).

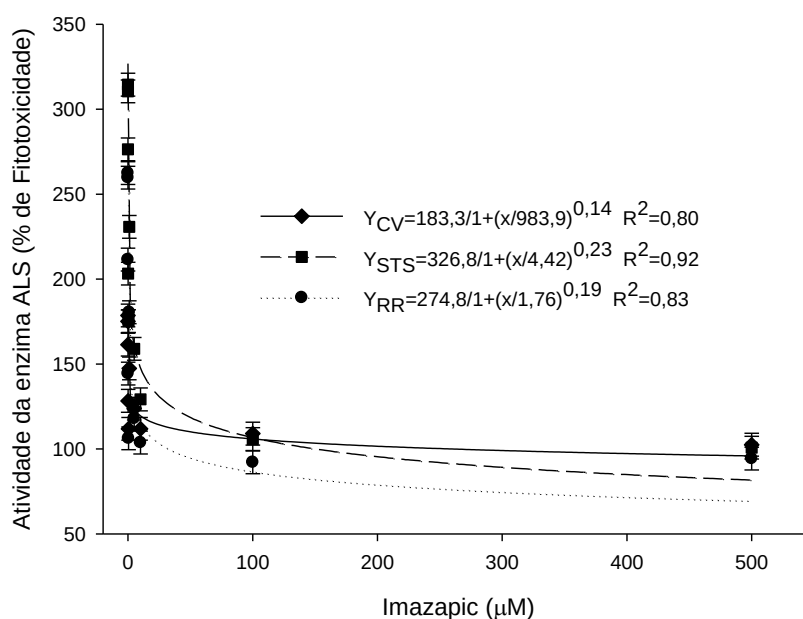


Figura 29 - Inibição *in vitro* da atividade da enzima ALS (% de Fitotoxidade) das plantas das cultivares de soja suscetíveis (CD249STS e NA5909RR) e resistente (BRS382CV), submetidas a doses do herbicida imazapic. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

A atividade da enzima ALS, extraída das plantas das cultivares de soja suscetíveis foi inibida pelo herbicida imazapic e, a dose necessária para inibir 50% da atividade da enzima (I_{50}) correspondeu a 0,008 e 0,005M, para STS e RR, respectivamente. Entretanto, para cultivar resistente foi necessária maior dose do herbicida para ocorrer inibição, apresentando I_{50} de 1,001M (tab.17). Dessa forma, a dose de imazapic necessária para inibir 50% da atividade da enzima ALS das plantas da cultivar resistente foi 125,1 e 200,2 vezes maior que a dose necessária para as cultivares suscetíveis STS e RR, respectivamente (tab.17).

Tabela 17 - Valores do I_{50} , com intervalo de confiança (IC) e fator de resistência (FR) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidos à aplicação de diferentes doses do herbicida imazapic. EMBRAPA Trigo, Passo Fundo, RS, 2014

Cultivar	I_{50}^1		Fator de resistência ² (FR)
	M	95 IC	
BRS382CV	1,001	0,9998 – 1,0022	---
CD249STS	0,008	0,0079 – 0,00802	125,1
NA5909RR	0,005	0,0049 – 0,00501	200,2

¹ I_{50} = dose necessária para obter inibição de 50% da atividade da enzima ALS.

²FR obtido pela divisão do I_{50} da cultivar resistente pelo I_{50} das cultivares suscetíveis.

Espécies resistentes a herbicidas inibidores da ALS devido a alteração no local de ação podem apresentar maior fator de resistência (HAN et al., 2012). Mutações alteram o ponto de acoplamento da enzima ALS, reduzindo a afinidade com os inibidores (TRANIEL; WRIGHT, 2002). A substituição do aminoácido prolina na posição 197 resultou em alto nível de resistência a herbicidas do grupo das sulfonilureias em diversas espécies (DEVINE; SHUKLA, 2000). Entretanto, é comum a utilização de doses elevadas de herbicidas inibidores da enzima ALS para controle de plantas resistentes, podendo inviabilizar a sua utilização (LAMEGO et al., 2009; BECKIE et al., 2012).

Os resultados apresentados permitem inferir que houve alteração na sensibilidade da enzima ALS na cultivar de soja resistente BRS382CV, que pode ter ocorrido devido a mutações nos genes que codificam a enzima ou, ainda, por diferenças entre a energia livre de ativação, verificada em diferentes valores de $V_{m\acute{a}x}$, comparada às cultivares suscetíveis CD249STS e NA5909RR.

3.4 Conclusões

As cultivares de soja NA5909RR e CD249STS são suscetíveis ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado, enquanto que a cultivar BRS382CV é resistente.

A elevação da dose do resíduo de imazapyr+imazapic aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas de soja. A cultivar NA5909RR, em geral, apresenta maior produção de EROs comparada a CD249STS e BRS382CV.

O K_M (concentração de piruvato) da enzima ALS das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR são semelhantes, contudo o $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima da reação) da cultivar resistente é menor, comparado às demais.

A resistência da cultivar de soja BRS382CV pode ser decorrente da insensibilidade da enzima ALS ao herbicida imazapic.

4 CAPÍTULO III – Alterações no metabolismo secundário de plantas de soja submetidas à aplicação de herbicidas em diferentes sistemas de manejo de plantas daninhas

4.1 Introdução

A cultura da soja ocupa posição de destaque no cenário agrícola nacional, tendo apresentado expansão nas últimas décadas, não só em termos de área semeada nas regiões tradicionais de cultivo, como também avanço para novas regiões. Considerando que as plantas daninhas causam impacto na produção agrícola e representam ameaça para a produtividade das culturas, novas estratégias de manejo vem surgindo, entre elas culturas resistentes a herbicidas.

A tecnologia Cultivance® foi desenvolvida para prevenir a infestação de plantas daninhas desde a semeadura da soja, proporcionando flexibilidade na condução da lavoura. Neste sistema, a aplicação do herbicida é realizada após a semeadura, em sistema denominado “plante-aplique”, até no máximo, o estágio V₁ da cultura. Este sistema permite controle de plantas daninhas de forma preventiva, eliminando a competição inicial e permitindo maiores produtividades (BASF, 2014).

Outro sistema utilizado no manejo de plantas daninhas é o “aplique-plante”, que utiliza herbicidas pré-emergentes no manejo e é baseado no histórico da área. Esse sistema de manejo é adotado por muitos agricultores, com a finalidade de ganhar tempo e maximizar a utilização do maquinário da propriedade (OLIVEIRA JR. et al., 2006).

Estas novas tecnologias envolvendo a utilização de herbicidas para o manejo de plantas daninhas pode gerar estresse para as culturas. Qualquer estresse acarreta efeito negativo sobre o crescimento e desenvolvimento normal das

espécies vegetais (TAIZ; ZIEGER, 2009). A formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) tem sido descrita como consequência de vários estresses abióticos, dentre eles a aplicação de herbicidas (SONG et al., 2007). Embora as EROs sejam produtos inevitáveis do metabolismo vegetal, em condições normais, sua produção e remoção está em equilíbrio (MITTLER, 2002). Entretanto, em condições de estresse, a produção de EROs pode superar os mecanismos de remoção, desencadeando o estresse oxidativo (ESFANDIARI; SHOKRPOUR; ALAVI-KIA, 2010). A produção excessiva de EROs nas células vegetais é prejudicial para os ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos (GILL; TUTEJA, 2010).

Os níveis das EROs, de forma geral, são controlados por sistema enzimático onde atuam enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (SOD), responsável pela conversão do radical superóxido em peróxido de hidrogênio; ascorbato peroxidase (APX), que converte o peróxido de hidrogênio em ascorbato; e, catalase (CAT), que transforma peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). Essas enzimas são importantes para os mecanismos de recuperação e proteção das plantas, submetidas ao estresse oxidativo (GILL; TUTEJA, 2010).

No sistema antioxidante não enzimático estão presentes, entre outros compostos, as clorofilas e os carotenoides. Estes são responsáveis pela fotoproteção das membranas fotossintéticas, atuando como pigmentos acessórios. Atuam também na dissipação do estado excitado da clorofila e neutralização de EROs, uma vez que são antioxidantes de baixo peso molecular (KRESLAVSKI et al., 2013; SHARMA et al., 2012).

Em vista disso, o trabalho teve por hipótese que a produção de metabólitos secundários e os danos celulares das cultivares de soja suscetíveis a mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic são maiores, comparado à cultivar resistente, tanto no sistema “plante-aplique” quanto no “aplique-plante”. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar as alterações nos metabólitos secundários de plantas de soja contendo as tecnologias Cultivance®, tolerância as sulfonilureias e RoundUp Ready®, submetidas a aplicação da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic nos sistemas “plante-aplique e “aplique-plante”.

4.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos em campo no Centro Agropecuário da Palma (CAP), no município do Capão do Leão/RS, em solo classificado como Argissolo Vermelho Amarelo, de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2013). A partir da análise de solo foram obtidos os seguintes valores: $\text{pH}_{\text{água}}$ de 6,3; pH_{SMP} de 6,9; $0,0\text{cmol}_c\text{ dm}^{-3}$ de Al; $4,2\text{cmol}_c\text{ dm}^{-3}$ de Ca; $1,8\text{cmol}_c\text{ dm}^{-3}$ de Mg; 16% de Argila; 1,8% de Matéria orgânica; $16,0\text{mg dm}^{-3}$ de P; $57,0\text{ mg dm}^{-3}$ de K; $\text{CTC}_{\text{efetiva}}$ de 6,1; CTC_{pH7} de 7,7. Realizou-se dessecação da cobertura vegetal com herbicida glyphosate ($1080\text{g e.a. ha}^{-1}$), a fim de eliminar as plantas daninhas presentes (AGROFIT, 2014).

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com quatro repetições. Os experimentos foram realizados em esquema fatorial 3×5 , sendo o fator A correspondente as cultivares de soja BRS382CV (CV), CD249STS (STS) e NA5909RR (RR); e, o fator B, às doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic (0; 25; 50; 75 e 100%), até a dose preconizada de 140g ha^{-1} (AGROFIT, 2014). O primeiro experimento foi realizado em sistema “plante-aplique”, onde as cultivares foram semeadas e no outro dia realizada aplicação dos tratamentos. Para o segundo experimento, realizado em sistema “aplique-plante”, foram aplicadas doses do herbicida e no dia seguinte semeada a soja.

A aplicação dos tratamentos em ambos experimentos ocorreu com pulverizador costal, pressurizado a CO_2 , equipado com bico tipo leque com ponta de pulverização 110.015, calibrado para aplicar 120L ha^{-1} de calda, sendo acrescido 0,5% v/v do adjuvante Dash® à calda de aplicação. A semeadura das cultivares de soja foi realizada de forma manual, em espaçamento 0,5m, utilizando-se 20 sementes por metro, sendo cada unidade experimental composta por 3m^2 . Foi realizada coleta das plantas em 1m de comprimento, deixando-se 0,5m de bordadura.

Amostras foliares foram coletadas e armazenadas a -83°C até o momento das análises. As coletas foram realizadas aos 10 dias após emergência da cultura, e as variáveis analisadas foram: teor de clorofilas *a*, *b*, *a/b* e totais, carotenoides totais, teor de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, teor de proteínas totais, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

O teor de clorofilas e de carotenoides totais foram determinados com amostras de 0,1g, maceradas em almofariz, em presença de 5mL de acetona a 80% (v/v). O material foi centrifugado a 12.000rpm por 10 minutos, completando-se o volume para 20mL com acetona a 80% (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*), relação *a/b* e de carotenoides totais foram calculados pelas fórmulas de Lichtenthaler (1987), a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470nm, sendo os resultados expressos em mg g⁻¹ de massa fresca (MF).

Os danos celulares nos tecidos foram determinados em termos de teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), conforme descrito por Sergier, Alexieva e Karanov (1997) e das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por Heath e Packer (1968). Para a realização dessas duas análises, 0,2g de folhas foram macerados com nitrogênio líquido, homogeneizados em 2mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 14000rpm por 20 minutos. Para a quantificação de H₂O₂, alíquotas de 0,2mL do sobrenadante foram adicionadas em 0,8mL de tampão fosfato 10mM (pH 7,0) e 1mL de iodeto de potássio 1M seguido de agitação em vortex. A solução foi mantida em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente e após a absorbância foi lida a 390nm. A concentração de H₂O₂ foi determinada através de curva padrão com concentrações conhecidas de H₂O₂ e expressa em mM g⁻¹ de MF.

Para a determinação de TBARS, alíquotas de 0,5mL do sobrenadante descrito anteriormente foram adicionadas a 1,5mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) e ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos. Em seguida foi determinada a absorbância a 532nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600nm. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155mM cm⁻¹ e os resultados expressos em nM MDA g⁻¹ de MF.

Para a determinação da atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX primeiramente foi realizada a extração, em que 0,2g de amostra foram maceradas em almofariz de porcelana, na presença de nitrogênio líquido. Em seguida foram adicionados 900μL de tampão fosfato 200mM (pH 7,8), 18μL de EDTA 10mM, 180μL de ácido ascórbico 200mM e 702μL de água ultrapura e centrifugado a 14000rpm, a 4°C por 20 minutos. A partir deste extrato foi quantificada a proteína das amostras pelo método de Bradford (1976), onde 60μL do

extrato foram adicionados a 2mL de solução de Bradford, e realizada leitura da absorbância no comprimento de onda de 595nm. Os resultados foram calculados em função da curva padrão de caseína e expressos em miligramas de proteína por mL ($\text{mg caseína mL}^{-1}$).

A atividade da SOD foi determinada segundo metodologia adaptada de Peixoto (1999), a partir Del Longo (1993) e Giannopolitis e Ries (1977). Por esse método, foi determinada a inibição da redução do NBT (p-nitro blue tetrazolium) pelo extrato enzimático, evitando-se assim, a formação do cromóforo. Neste ensaio, uma unidade de atividade enzimática (UA) de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária para obter 50% de inibição da redução do NBT pela SOD contida no extrato enzimático. Para a reação foi adicionado o extrato enzimático em tubo de ensaio contendo 1mL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,8), 400 μL de metionina 70mM, 20 μL de EDTA 10 μM , 390 μL de água ultrapura, 150 μL de NBT 1mM e 20 μL de riboflavina 0,2mM. Em seguida os tubos foram incubados em lâmpada fluorescente de 15 Watts durante 10 minutos e em seguida realizada a leitura da absorbância a 560nm. Para efeito de cálculo, o branco da reação foi considerado como sendo os tubos que não continham extrato, exposto e não exposto à luz. A atividade foi determinada pelo cálculo da quantidade de extrato que inibe 50% da reação de NBT e expressa em UA mg^{-1} proteína minuto^{-1} .

A atividade da CAT foi determinada segundo metodologia descrita por Azevedo et al. (1998), pelo consumo de H_2O_2 (coeficiente de extinção 39,4 mM cm^{-1}). O extrato foi adicionado a 1mL de tampão fosfato de potássio 200mM (pH 7,0), 850 μL de água ultrapura, 100 μL de peróxido de hidrogênio 250mM. A leitura da absorbância em espectrofotômetro (Ultrospec 6300 Pro UV/Visível – Amersham Bioscience) no comprimento de onda de 240nm foi realizada durante 90 segundos, com leituras no intervalo de 7 segundos.

A atividade da APX foi determinada segundo metodologia descrita por Azevedo et al. (1998), pelo consumo de H_2O_2 (coeficiente de extinção 2,9 mM cm^{-1}). O extrato foi adicionado a 1mL de tampão fosfato de potássio 200mM (pH 7,0), 750 μL de água ultrapura, 100 μL de ácido ascórbico 10mM, 100 μL de peróxido de hidrogênio. A leitura da absorbância no comprimento de onda de 290nm foi realizada durante 90 segundos com leituras em intervalos de 7 segundos. Tanto para a atividade da CAT quanto para da APX, para efeito de cálculo, foi considerado que o decréscimo de uma unidade de absorbância é equivalente a uma unidade ativa

(UA). As atividades do extrato total foram determinadas pelo cálculo da quantidade de extrato que reduziu a leitura de absorbância em uma UA e expressos em UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). No caso de ser constatada significância estatística, foi realizada comparação entre médias utilizando-se teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para o fator cultivar e, análise de regressão para o fator doses.

A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007), ajustando-se os dados à equação de regressão polinomial do tipo linear, conforme segue:

$$y = a + b.x$$

onde: y = variável resposta; x = dose do herbicida; e a e b = parâmetros da equação, sendo que a é o intercepto ou coeficiente linear e b é a inclinação da reta

4.3 Resultados e Discussão

Para o experimento realizado em sistema “plante/aplique” (PA) verificou-se interação entre os fatores cultivar e dose do herbicida para as variáveis teor de clorofila b e relação a/b (Fig. 30 e 31; tab.18). Para variável teor de clorofila a foi observado efeito simples para o fator cultivar (tab.19). O teor de clorofilas totais apresentou efeito simples para o fator dose (Fig. 32). A variável teor de carotenoides não evidenciou significância estatística (dados não amostrados). Para o teor de peróxido de hidrogênio observou-se interação entre os fatores estudados (Fig. 33; tab.20). Para peroxidação lipídica verificou-se efeito simples para o fator cultivar (tab.21) e dose (Fig. 34). Para a análise referente à atividade enzimática, verificou-se efeito simples do fator dose para variável atividade da enzima APX (Fig. 35). As variáveis teor de proteínas, atividade da SOD e atividade da CAT não evidenciaram significância estatística (dados não apresentados).

Quanto ao teor de clorofila b , não foi verificada diferença significativa entre as cultivares avaliadas. Observou-se diminuição no teor de clorofila b nas doses 105g ha⁻¹ e 140g ha⁻¹ somente na cultivar RR (Fig. 30; tab.18). Para as doses do herbicida, os dados referentes ajustaram-se a equação polinomial linear, sendo que os R^2 variaram de 0,84 a 0,95, demonstrando ajuste satisfatório dos dados.

Observou-se decréscimo linear da variável conforme aumento da dose de imazapyr+imazapic, sendo verificado diminuição de $0,04\text{mg g}^{-1}$, $0,09\text{mg g}^{-1}$ e $0,24\text{mg g}^{-1}$ para cada unidade acrescida do herbicida para as cultivares STS, CV e RR, respectivamente (Fig. 30).

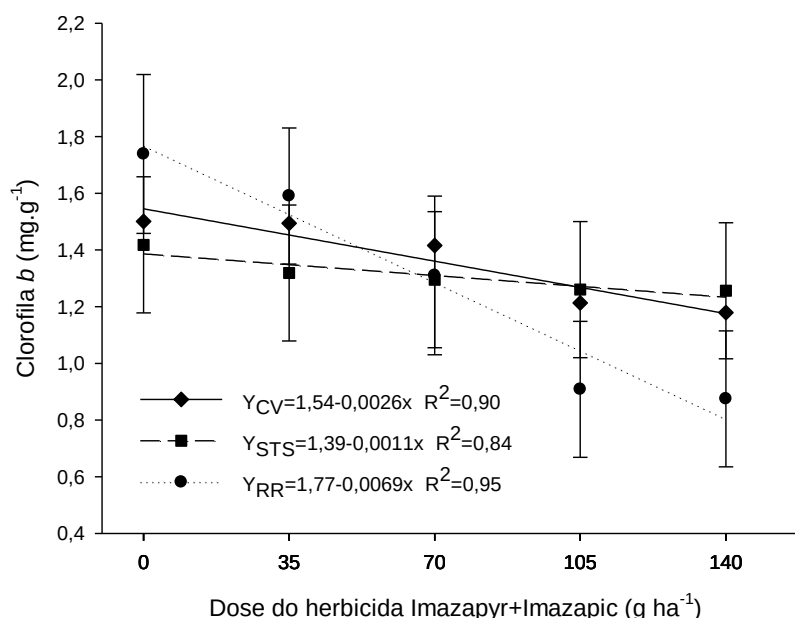


Figura 30 – Teor de clorofila *b* (mg g^{-1}) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para relação clorofila *a/b* foi verificado diferença entre as cultivares CV e RR para a dose 140g ha^{-1} de imazapyr+imazapic (Fig. 31; tab.18). No que se refere as doses, os dados referentes as cultivares CV e STS não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Todavia, a cultivar RR ajustou-se a equação polinomial linear, com R^2 de 0,95. Observou-se aumento linear da variável conforme elevação da dose do herbicida somente para cultivar RR, sendo verificado acréscimo de $0,0021\text{mg g}^{-1}$ para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 31). Este resultado pode ser remetido ao maior teor de clorofila *b*, em consequência da elevação da dose de imazapyr+imazapic (Fig. 30).

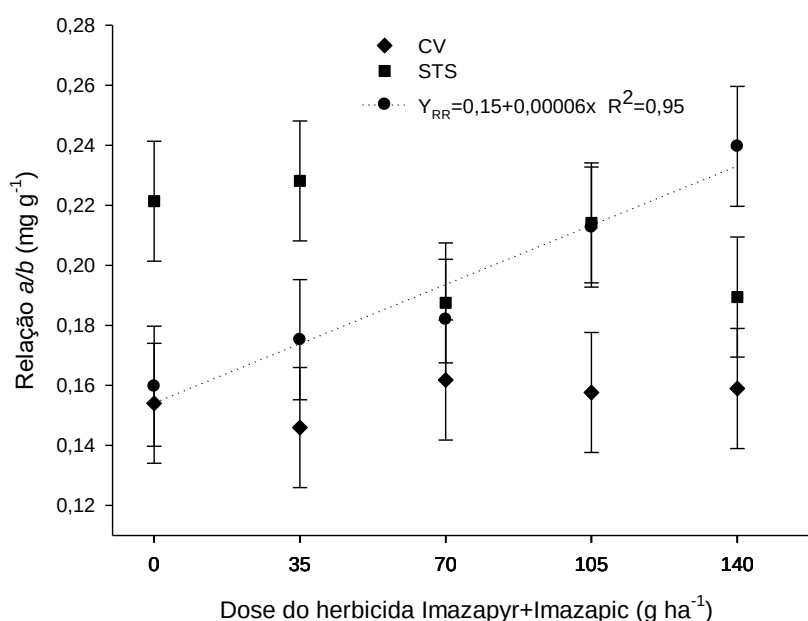


Figura 31 – Relação entre os teores de clorofilas *a/b* (mg g⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 18 - Teor de clorofila *b* (mg g⁻¹) e relação *a/b* (mg g⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	0	35	70	105	140
Teor de clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹)					
BRS382CV	1,42 a ¹	1,55 a	1,41 a	1,14 a	1,24 a
CD249STS	1,30 a	1,32 a	1,22 a	1,30 a	1,36 a
NA5909RR	1,74 a	1,59 a	1,31 a	0,91 a	0,96 a
C.V.(%)	18,42				
Cultivar	Relação <i>a/b</i> (mg g ⁻¹)				
	0	35	70	105	140
BRS382CV	0,15 b	0,15 b	0,16 a	0,16 a	0,16 b
CD249STS	0,22 a	0,23 a	0,19 a	0,21 a	0,19 ab
NA5909RR	0,16 b	0,19 ab	0,17 a	0,21 a	0,24 a
C.V. (%)	12,59				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados referentes ao teor de clorofilas totais ajustaram-se a equação polinomial linear, sendo o R² de 0,73. Verificou-se decréscimo linear da variável, conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic, sendo observado diminuição de 0,01mg g⁻¹ para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 32). Para o teor de clorofila *a*, observou-se maior acréscimo para cultivar STS, comparado a CV. Já a

cultivar RR não foi diferente significativamente das demais (tab.19). Reduções no teor de pigmentos devido à ação de herbicidas são consequência do estresse oxidativo, levando a redução da fotossíntese e indicando que o teor de clorofilas pode ser um biomarcador para o crescimento das plantas (WEI; DENG, 1996). Essa consequência pode ser atribuída ao fato de que danos no sistema fotossintético refletem na redução dos níveis de clorofilas (SANTOS et al., 2011).

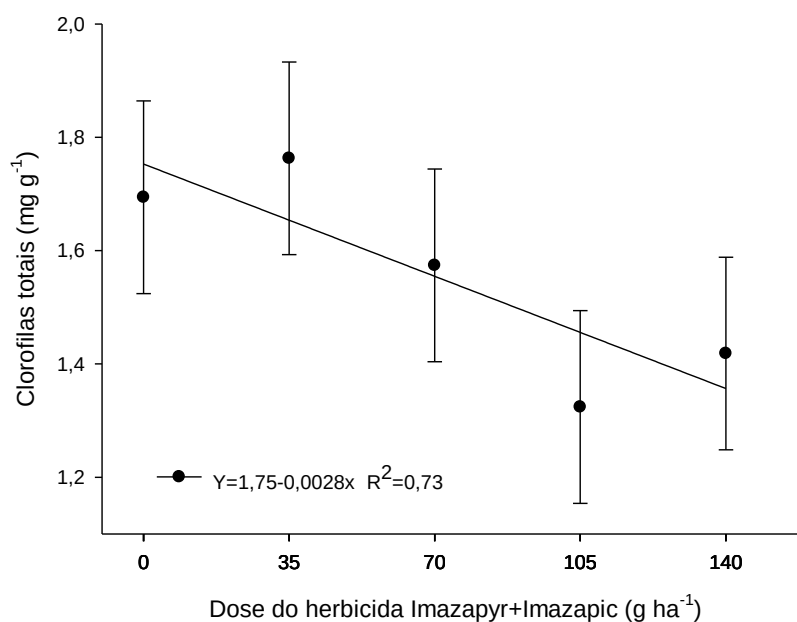


Figura 32 – Teor de clorofilas totais (mg g⁻¹) de plantas de cultivares de soja em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 19 – Teor de clorofila a (mg g⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPeI, 2014

Cultivar	Teor de clorofila a
BRS382CV	0,21 b ¹
CD249STS	0,28 a
NA5909RR	0,24 ab
C.V.(%)	22,11

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para variável teor de peróxido de hidrogênio foi verificado diferença entre as cultivares CV e RR nas doses 105g ha⁻¹ e 140g ha⁻¹, causando aumento no teor de peróxido de hidrogênio somente na cultivar RR (Fig. 33; tab.20). Em relação as doses do herbicida, os dados referentes as cultivares STS e CV não se ajustaram a

nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento, já a cultivar RR ajustou-se a equação polinomial linear, com R^2 de 0,78, demonstrando ajuste satisfatório. De modo geral, a cultivar RR mostrou comportamento linear crescente da variável conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic, sendo verificado aumento de $1,05\text{mM g}^{-1}\text{ MF}$ da variável para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 33).

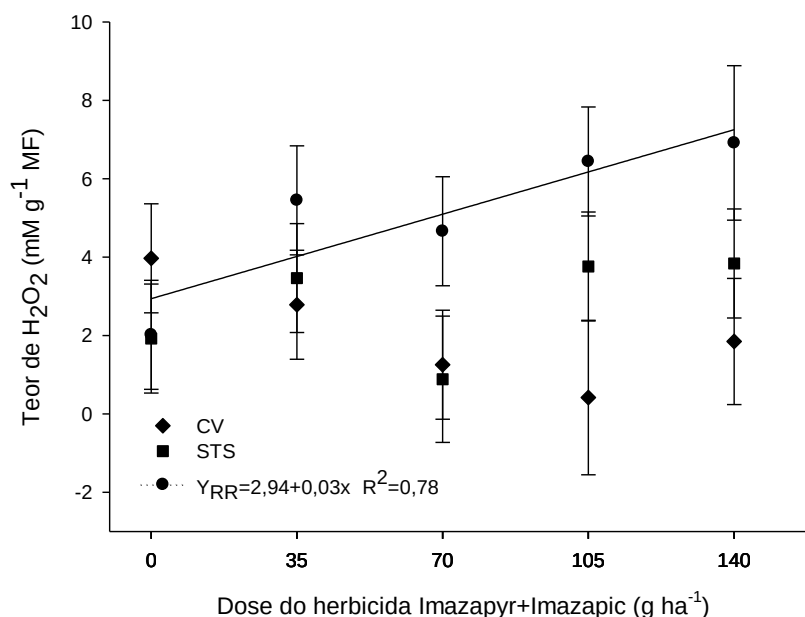


Figura 33 – Teor de peróxido de hidrogênio ($\text{mM g}^{-1}\text{ MF}$) de plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 20 - Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ($\text{mM g}^{-1}\text{ MF}$) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha^{-1})				
	0	35	70	105	140
	H_2O_2 ($\text{mM g}^{-1}\text{ MF}$)				
BRS382CV	3,97 a ¹	2,78 a	1,25 a	1,05 b	1,84 b
CD249STS	1,92 a	3,46 a	0,88 a	3,76 ab	3,83 ab
NA5909RR	2,01 a	5,45 a	4,66 a	6,44 a	6,91 a
C.V.(%)	40,91				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O peróxido de hidrogênio normalmente é oriundo da atividade da SOD, a qual converte o $\text{O}_2^{\cdot-}$ em H_2O_2 . Contudo, se esse ânion superóxido não foi convertido pela

SOD, o mesmo pode formar radical hidroxila através da reação de Haber-Weiss, sendo este o radical mais prejudicial à célula. O aumento da atividade da SOD pode ser uma das razões para maior peroxidação lipídica, pois a medida que aumenta a atividade da SOD ocorre também o aumento dos teores de peróxido de hidrogênio (GILL; TUTEJA, 2010). No entanto, no presente estudo é provável que esses resultados tenham sido causadas em função de outras EROs, já que não observou-se diferença significativa para atividade da SOD.

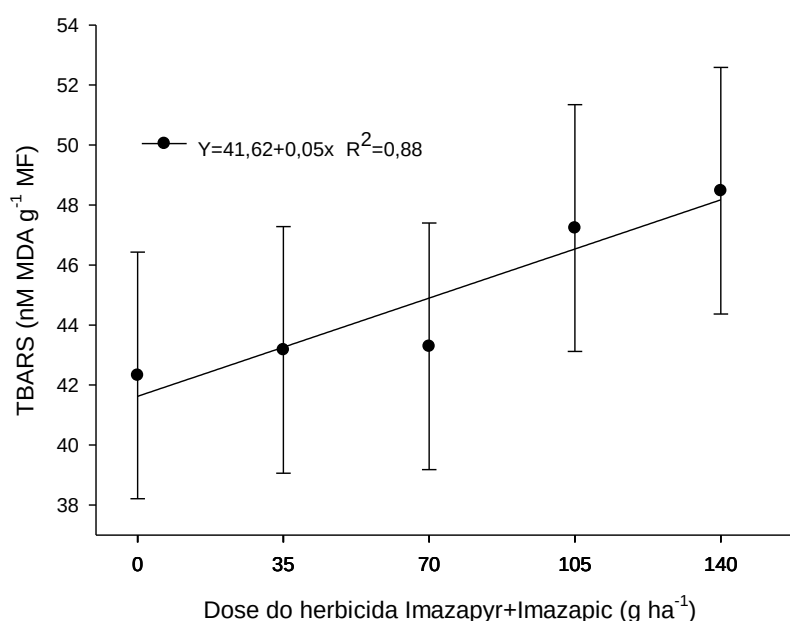


Figura 34 – Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g⁻¹ MF) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 21 – Peroxidação lipídica em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, 2014

Cultivar	TBARS (nM MDA g ⁻¹ MF)
BRS382CV	43,29 b ¹
CD249STS	47,02 b
NA5909RR	55,87 a
C.V.(%)	13,81

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a atividade da enzima APX, os dados não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Em geral, é possível

observar que ocorre aumento da variável conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic (Fig. 35). Este comportamento pode ser explicado pela elevação no teor de peróxido de hidrogênio conforme aumento das doses do herbicida, uma vez que a enzima APX apresenta alta afinidade com o peróxido de hidrogênio. Por outro lado, não houve diferença para atividade das enzimas SOD e CAT, indicando que o acúmulo de H_2O_2 não foi suficiente para ativar o sistema de defesa da planta.

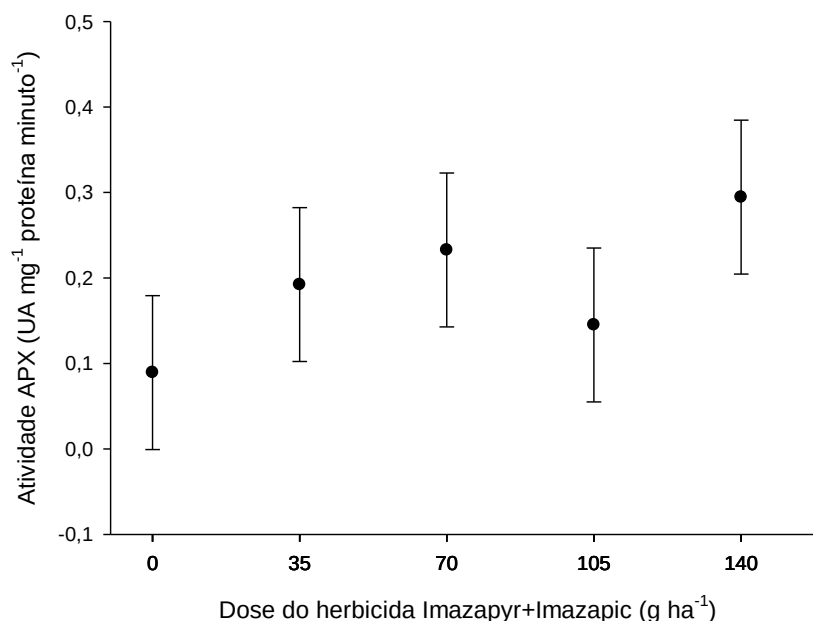


Figura 35 – Atividade da enzima APX (UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema plante/aplique. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para o experimento realizado em sistema AP verificou-se interação entre os fatores cultivar e doses para as variáveis teor de clorofila *a*, *b* e totais (Fig. 36, 37 e 38; tab.22). A relação de clorofila *a/b* apresentou efeito simples para os fatores doses (Fig. 39) e cultivar (tab.23). Não foi evidenciada significância para variável teor de carotenoides (dados não apresentados). Para as variáveis teor de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica foi observado efeito simples para o fator cultivar (tab.24). Para as análises referentes à atividade enzimática, verificou-se efeito simples do fator dose para a atividade da SOD (Fig. 41). Observou-se interação entre os fatores estudados para as variáveis teor de proteínas, atividade da CAT e da APX (Fig. 40, 42 e 43; tab.25).

Para a variável teor de clorofila *a*, os dados não se ajustaram ao modelo testado (Fig. 36). Resultado semelhante ocorreu com o herbicida imazapyr+imazapic que, em geral, não causou efeito no teor de clorofila *a* em plantas de arroz irrigado (LANGARO, 2015). Por outro lado, os herbicidas bentazon, cyhalofop e penoxsulam causaram efeito em pigmentos fotossintéticos de arroz (NOHATTO, 2014). As moléculas de clorofila *a* são os principais pigmentos responsáveis pela captura de luz para as reações fotoquímicas na fotossíntese, presentes nos centros de reação dos fotossistemas. Assim, o declínio desses compostos pode comprometer a atividade fotossintética, prejudicando o desenvolvimento das plantas (RAMESH et al., 2002).

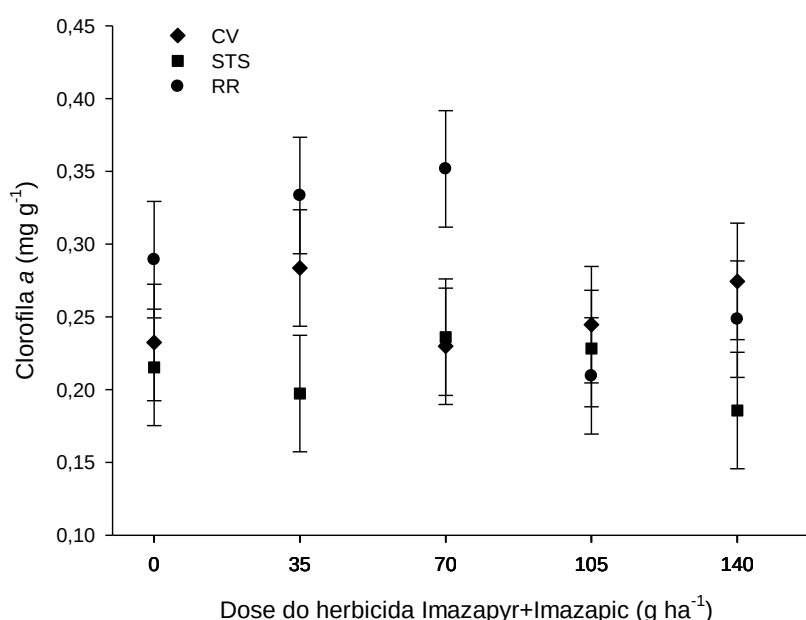


Figura 36 – Teor de clorofila *a* (mg g⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para variável teor de clorofila *b* houve diferença entre as cultivares STS e CV para dose 140g ha⁻¹ do herbicida. Menores teores de clorofila *b* foram observados nas doses 105g ha⁻¹ e 140g ha⁻¹ de imazapyr+imazapic somente para cultivar RR (Fig. 37; tab.22). Em relação às doses do herbicida os dados referentes a cultivar CV não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento, já as cultivares STS e RR ajustaram-se a equação polinomial linear, sendo que o coeficiente de determinação (R^2) variou de 0,72 a 0,90, demonstrando

ajuste satisfatório. É possível observar decréscimo linear da variável conforme aumento da dose de imazapyr+imazapic, sendo verificado diminuição de 0,11mg g⁻¹ e 0,19mg g⁻¹ para cada unidade acrescida do herbicida para as cultivares STS e RR, respectivamente (Fig. 37).

O teor de clorofilas totais mostrou comportamento similar ao teor de clorofila *b*. Verificou-se diferença na máxima dose utilizada no experimento para as cultivares STS e CV. Nas doses 105g ha⁻¹ e 140g ha⁻¹ do herbicida foram verificados, na cultivar RR, menores teores de clorofilas totais (Fig. 38; tab.22). No que se refere as doses, não houve ajuste para os dados referentes a cultivar CV, as demais ajustaram-se a equação polinomial linear, com R² variando de 0,67 a 0,92. Observou-se decréscimo linear da variável conforme aumento da dose do herbicida, verificando-se diminuição de 0,12mg g⁻¹ e 0,22mg g⁻¹ para cada unidade acrescida do herbicida para as cultivares STS e RR, respectivamente (Fig. 38). Analisando alterações no metabolismo fotossintético de plantas de cana-de-açúcar em função da aplicação do herbicida paraquat, foi observado redução nos teores de clorofila *a*, *b* e total das plantas, a partir do aumento da dose do herbicida (CHAGAS, 2007). De modo similar observou-se que a aplicação de doses do herbicida imazaquin em diferentes cultivares de soja ocasionou redução dos teores de clorofila em virtude do aumento da dose (CAYON et al., 1990).

A diminuição dos teores de clorofila nas plantas está relacionado à menor quantidade de membranas nos tilacoides e menor empilhamento nos centros de reação (SANDMANN; SCHEER, 1998). O conteúdo de clorofila nas folhas pode servir como parâmetro para estimar o potencial fotossintético das plantas, devido sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa. Plantas que apresentam alta concentração de clorofila possuem capacidade de atingir taxas fotossintéticas mais altas, pelo seu valor potencial de captação de “quanta” na unidade de tempo (RÊGO; POSSAMAI, 2004).

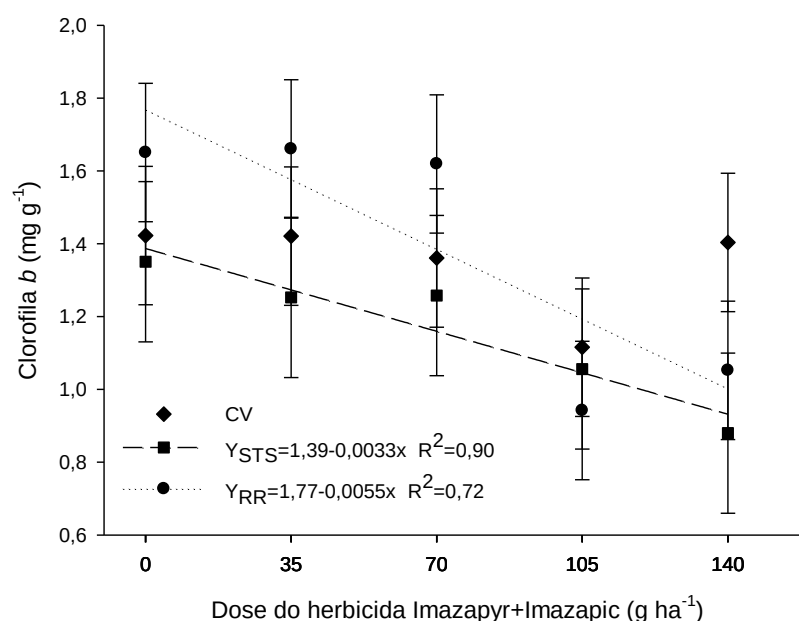


Figura 37 – Teor de clorofila *b* (mg g⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

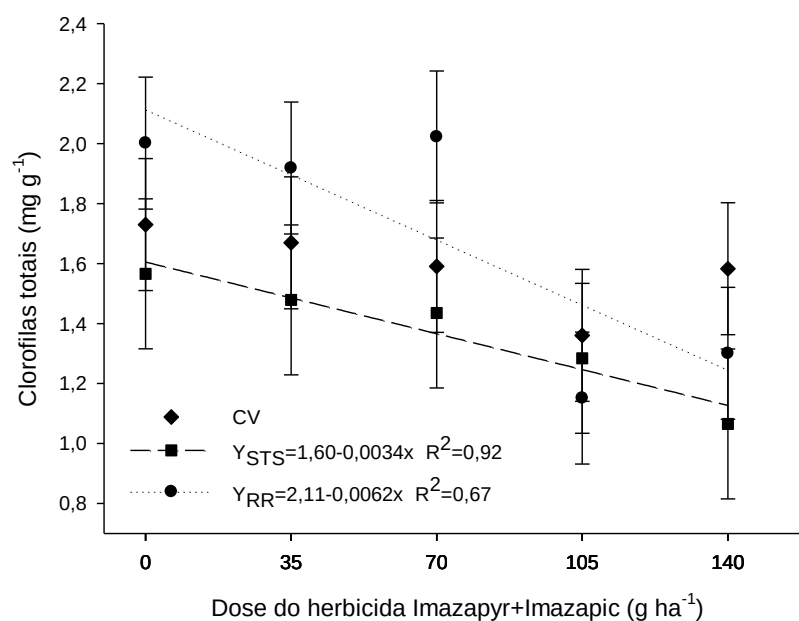


Figura 38 – Teor de clorofilas totais (mg g⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplicação/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Tabela 22 - Teor de clorofila *a* (mg g^{-1}), teor de clorofila *b* (mg g^{-1}) e teor de clorofilas totais (mg g^{-1}) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR em função de doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPEl, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	0	35	70	105	140
Teor de clorofila a (mg g ⁻¹)					
BRS382CV	0,23 a ¹	0,28 ab	0,23 b	0,24 a	0,27 a
CD249STS	0,21 a	0,20 b	0,24 ab	0,23 a	0,18 a
NA5909RR	0,29 a	0,33 a	0,35 a	0,21 a	0,25 a
C.V. (%)	16,23				
Teor de clorofila b (mg g ⁻¹)					
BRS382CV	1,42 a	1,42 a	1,36 a	1,11 a	1,40 a
CD249STS	1,35 a	1,25 a	1,25 a	1,06 a	0,88 b
NA5909RR	1,65 a	1,58 a	1,67 a	0,94 a	1,05 ab
C.V. (%)	14,37				
Teor de clorofilas totais (mg g ⁻¹)					
BRS382CV	1,65 a	1,70 a	1,59 a	1,36 a	1,68 a
CD249STS	1,56 a	1,48 a	1,43 a	1,28 a	1,06 b
NA5909RR	2,00 a	1,92 a	2,02 a	1,15 a	1,30 ab
C.V. (%)	13,83				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para relação *a/b*, considerando as cultivares de soja, observou-se maior incremento para as cultivares STS e RR comparadas à cultivar CV (tab.23). Com relação às doses, os dados referentes a esta variável ajustaram-se à equação polinomial linear com R^2 de 0,87. Verificou-se aumento linear em virtude da elevação da dose do herbicida, sendo observado acréscimo de $0,0014\text{mg g}^{-1}$ para cada unidade acrescida de imazapyr+imazapic (Fig. 39). Este resultado pode ser explicado em função da ocorrência de maiores incrementos de clorofila *b* (Fig. 37) em comparação a clorofila *a* (Fig. 36).

Tabela 23 – Relação entre os teores de clorofilas *a/b* (mg g^{-1}) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/UFPEl, 2014

Cultivar	Relação <i>a/b</i>
BRS382CV	0,18 b ¹
CD249STS	0,19 ab
NA5909RR	0,21 a
C.V. (%)	13,28

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

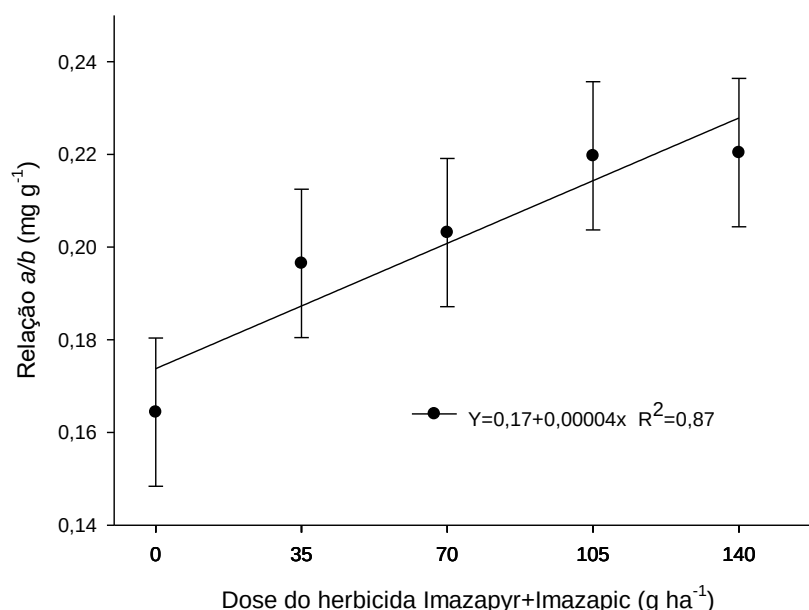


Figura 39 – Relação entre os teores de clorofilas *a/b* (mg g⁻¹) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

O teor de peróxido de hidrogênio foi maior nas cultivares RR e CV, comparadas à STS. Já, para a peroxidação lipídica observou-se aumento da variável para cultivar RR, comparadas às demais (tab.24). Em baixas concentrações, o peróxido de hidrogênio pode atuar como molécula sinalizadora para atividade do sistema de defesa antioxidante frente ao estresse por herbicida (WU et al., 2010). A peroxidação lipídica gera compostos responsáveis pela decomposição de ácidos graxos das biomembranas e o acúmulo destes pode atestar o estresse oxidativo (FAHEED, 2012).

Tabela 24 – Peroxidação líquida em termos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (nM MDA g⁻¹ MF) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas ao herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPel, 2014

Cultivar	H ₂ O ₂ (mM g ⁻¹ MF)	TBARS (nM MDA g ⁻¹ MF)
BRS382CV	4,03 a ¹	42,71 b
CD249STS	3,31 b	40,46 b
NA5909RR	4,54 a	55,30 a
C.V.(%)	17,87	22,92

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a variável teor de proteína, foi verificada diferença entre a cultivar CV e as demais na testemunha sem aplicação, onde foi observado maior teor de proteína para cultivar CV. Observou-se diferença entre a testemunha e as demais doses somente para cultivar CV (Fig. 40; tab.25). Em relação às doses do herbicida os dados referentes às cultivares CV e RR não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Para cultivar STS, os dados ajustaram-se à equação polinomial linear, com R^2 de 0,77. De modo geral, a cultivar STS apresentou comportamento linear decrescente da variável, conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic, sendo verificada diminuição de 1,75mg caseína g^{-1} MF para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 40). As proteínas são encontradas em todas as partes das células, uma vez que são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celulares. Alterações nos teores de proteínas podem representar danos para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Trabalhos demonstram que a aplicação de herbicidas pode resultar em menor síntese de proteína (WANG; ZHOU, 2006; SOOD et al., 2012).

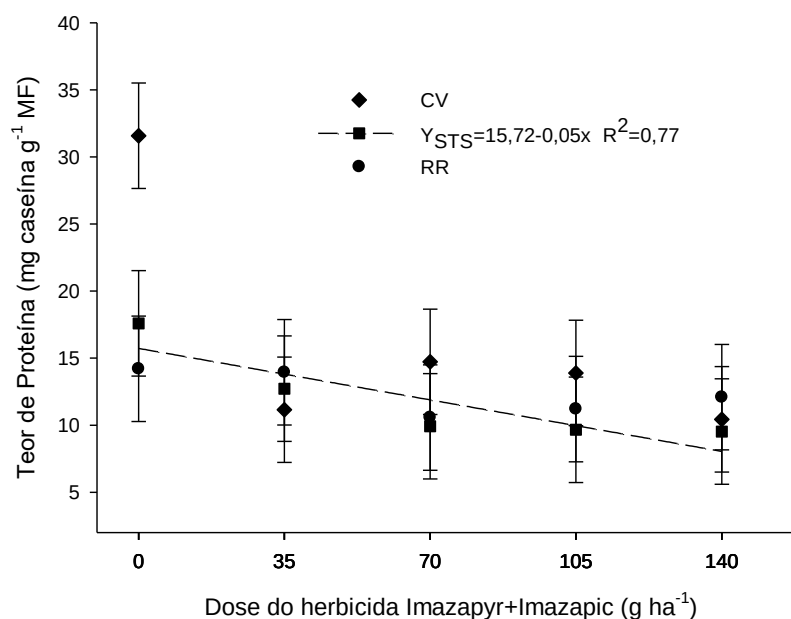


Figura 40 – Teor de proteína (mg caseína g^{-1} MF) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Os dados referentes a atividade da SOD ajustaram-se a equação polinomial linear com R^2 de 0,71, considerado satisfatório. Observou-se aumento linear da

variável conforme elevação da dose de imazapyr+imazapic, sendo verificado acréscimo de $0,35\text{UA mg}^{-1}\text{ proteína minuto}^{-1}$ para cada unidade acrescida do herbicida (Fig. 41). Em estudo semelhante, observou-se aumento na atividade da SOD em função do herbicida lactofen, comparado ao tratamento controle para cultura da soja (FERREIRA et al., 2010). Ainda, foi observado que através do aumento da dose do herbicida oxyfluorfen houve maior atividade da SOD em plantas de soja (CATANEO et al., 2010).

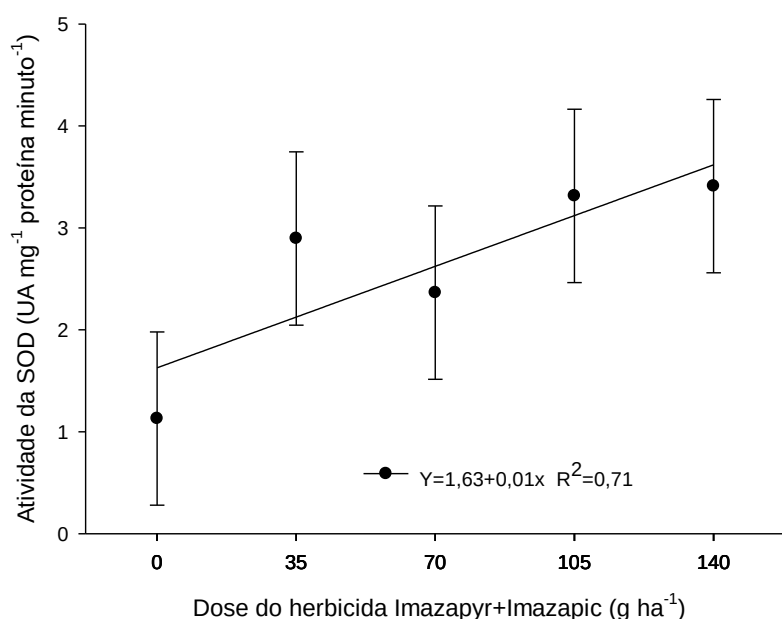


Figura 41 – Atividade da enzima SOD ($\text{UA mg}^{-1}\text{ proteína minuto}^{-1}$) em plantas de cultivares de soja submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema apply/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

A elevação da atividade da SOD em resposta ao estresse imposto por determinados herbicidas decorre da acumulação de EROs, particularmente sob condições que podem levar a morte da célula (LANGARO, 2015). A SOD, considerada a primeira linha de defesa contra os danos causados pelas EROs, catalisa a conversão do ânion superóxido a H_2O_2 e O_2 nos cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos (WANG et al., 2012) interferindo na concentração das EROs envolvidas na reação de Haber-Weiss para a produção do radical hidroxila. Dessa forma, desempenha papel fundamental do mecanismo central de defesa dos organismos (LEÓN et al., 2002).

Os dados referentes a atividade da CAT não ajustaram-se aos modelos testados (Fig. 42). Resultados semelhantes podem ser observados quando a aplicação do herbicida imazapyr+imazapic em plantas de arroz irrigado resultou menor atividade da enzima CAT, comparado a testemunha (LANGARO, 2015).

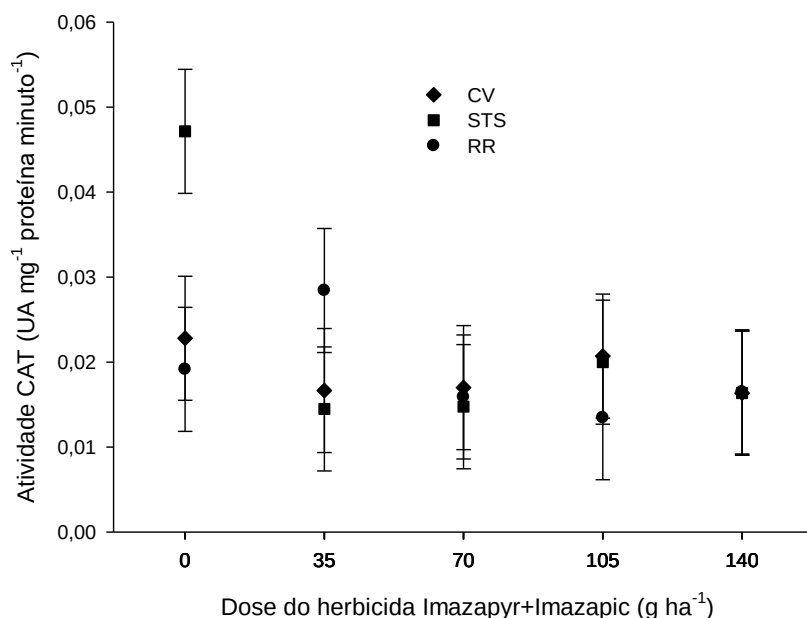


Figura 42 – Atividade da CAT (UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

Para a atividade da enzima APX foi verificada diferença entre as cultivares CV e RR para dose 140g ha⁻¹ do herbicida (Fig. 43; tab.25). No que tange às doses, os dados referentes às cultivares CV e STS não se ajustaram a nenhum modelo que explicasse biologicamente seu comportamento. Porém para cultivar RR, os dados ajustaram-se a equação polinomial linear, com R² de 0,82. Observou-se comportamento linear decrescente da variável conforme elevação da dose do herbicida, sendo verificada diminuição de 0,14mg caseína g⁻¹ MF para cada unidade acrescida de imazapyr+imazapic (Fig. 43).

A CAT, juntamente com a APX, atua na remoção do peróxido de hidrogênio resultante da atividade da SOD, convertendo-o a água. No entanto, há afinidade diferenciada dessas duas enzimas pelo seu substrato, de modo que a APX, com sua alta afinidade, atua quando o H₂O₂ está presente em baixas concentrações e a CAT, por outro lado, tem comportamento inverso (GILL; TUTEJA, 2010). A APX é

conhecida por desempenhar o papel mais importante na eliminação de EROs, protegendo as células de plantas superiores, algas, e outros organismos. Esta enzima está envolvida na eliminação do H_2O_2 e utiliza como o doador de elétrons o ascorbato (GILL; TUTEJA, 2010). A aplicação em pré-emergência dos herbicidas oxadiazon e pendimethalin provocaram maior atividade da enzima APX em plantas de arroz irrigado (LANGARO, 2015). Em estudo semelhante, verificou-se que a atividade da APX aumentou tanto em folhas, como raízes de trigo submetidas à aplicação de chlorotoluron (SONG et al., 2007).

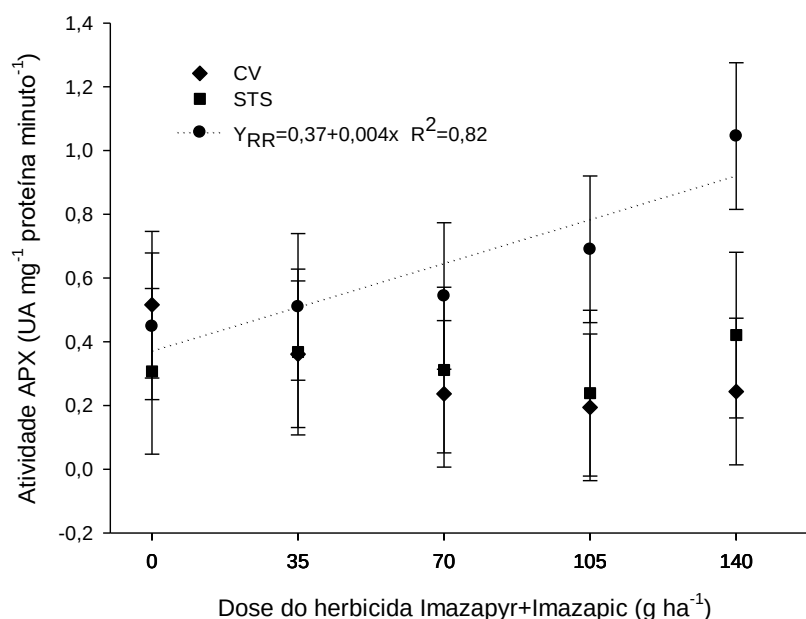


Figura 43 – Atividade da APX ($UA\ mg^{-1}\ proteína\ minuto^{-1}$) em plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014. Os pontos representam os valores médios das repetições entre cultivares e as barras, os respectivos intervalos de confiança da média.

A fim de manter as EROs sob controle, as plantas exibem equilíbrio entre EROs e sistema antioxidante. Geralmente, com aumento da atividade da SOD ocorre também, aumento nos teores de peróxido de hidrogênio. As enzimas do sistema antioxidante não eliminam o *OH diretamente, de modo que a regulação de seus precursores $O_2^*^-$ e H_2O_2 é o passo fundamental na prevenção dos riscos do *OH , reunindo a ação das enzimas SOD, APX e CAT (BHATTACHARJEE, 2010). Dessa forma, a combinação eficiente da SOD, CAT e APX minimizaria os efeitos do estresse oxidativo, apresentando papel importante na regulação das EROs (DAMANIK et al., 2012). A peroxidação lipídica é uma das consequências mais

investigadas das ações das EROs nas estruturas das membranas, sendo uma das primeiras respostas aos danos induzidos pelo estresse nos tecidos das plantas (AMRI; SHAHSAVAR, 2010).

Tabela 25 - Teor de proteínas (mg caseína g⁻¹ MF), atividade da enzima CAT (UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹) e APX (UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹) das plantas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR submetidas a doses crescentes do herbicida imazapyr+imazapic, em sistema aplique/plante. CAP/FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2014

Cultivar	Doses de imazapyr+imazapic (g ha ⁻¹)				
	0	35	70	105	140
Teor de proteínas (mg caseína g ⁻¹ MF)					
BRS382CV	31,58 a ¹	10,33 a	16,57 a	13,89 a	10,45 a
CD249STS	17,59 b	12,72 a	9,92 a	9,66 a	11,02 a
NA5909RR	14,20 b	15,54 a	10,57 a	11,20 a	12,09 a
C.V.(%)	28,57				
Cultivar	Atividade CAT				
	0	35	70	105	140
BRS382CV	0,022 b	0,024 a	0,017 a	0,022 a	0,016 a
CD249STS	0,047 a	0,014 a	0,015 a	0,020 a	0,016 a
NA5909RR	0,016 b	0,028 a	0,016 a	0,013 a	0,016 a
C.V.(%)	37,09				
Cultivar	Atividade APX				
	0	35	70	105	140
BRS382CV	0,52 a	0,56 a	0,24 a	0,16 a	0,19 b
CD249STS	0,31 a	0,46 a	0,31 a	0,24 a	0,42 ab
NA5909RR	0,45 a	0,33 a	0,54 a	0,69 a	1,04 a
C.V.(%)	55,57				

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As plantas, ao longo do tempo, desenvolveram estratégias para suportar o efeito adverso de herbicidas e aliviar sua fitotoxicidade via sistema de desintoxicação múltipla (KAWAHIGASHI, 2009). Estudos têm mostrado que EROs (como H₂O₂) pode servir como moléculas sinalizadoras envolvidas na resposta das plantas aos estresses bióticos e abióticos (GILL; TUTEJA, 2010), podendo ativar enzimas do sistema antioxidante (JIANG; YANG, 2009).

Com base no exposto, verifica-se a necessidade da realização de mais estudos que auxiliem a compreender as alterações no metabolismo secundário de plantas de soja submetidas ao estresse por herbicidas, uma vez que esta é a ferramenta mais utilizada no controle de plantas daninhas.

4.4 Conclusões

As cultivares CD249STS e NA5909RR apresentam, em geral, maiores teores de clorofila comparadas à cultivar BRS382CV. O aumento da dose de imazapyr+imazapic diminui o teor de clorofila das cultivares. A cultivar NA5909RR sofre maior estresse por meio de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, em comparação às cultivares CD249STS e BRS382CV.

O aumento do estresse pela dose do herbicida ocasiona maior atuação das EROs. Em geral, a elevação da dose de imazapyr+imazapic aumenta a ação do sistema antioxidante enzimático através das enzimas SOD, CAT e APX.

O sistema de manejo não influencia nas alterações metabólicas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR.

5. CONCLUSÕES

A cultivar de soja BRS382CV é resistente ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic, aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado conduzido sob sistema Cultivance® porém, as cultivares CD249STS e NA5909RR são suscetíveis.

A produtividade das cultivares de soja é afetada pelo resíduo do herbicida, assim como seus componentes de rendimento biológico.

O resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic afeta positivamente a qualidade fisiológica das sementes das cultivares de soja.

O azevém semeado em sucessão à soja tem sua produção de massa da matéria seca da parte aérea reduzida pelo aumento do resíduo da dose do herbicida imazapyr+imazapic.

As cultivares de soja NA5909RR e CD249STS são suscetíveis ao resíduo da mistura dos herbicidas imazapyr e imazapic aplicado no manejo da cultura do arroz irrigado, enquanto que a cultivar BRS382CV é resistente.

A elevação da dose do resíduo de imazapyr+imazapic aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas de soja. A cultivar NA5909RR, em geral, apresenta maior produção de EROs comparada a CD249STS e BRS382CV.

O K_M (concentração de piruvato) da enzima ALS das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR são semelhantes, contudo o $V_{m\acute{a}x}$ (velocidade máxima da reação) da cultivar resistente é menor, comparado às demais.

A resistência da cultivar de soja BRS382CV pode ser decorrente da insensibilidade da enzima ALS ao herbicida imazapic.

As cultivares CD249STS e NA5909RR apresentam, em geral, maiores teores de clorofila comparadas à cultivar BRS382CV. O aumento da dose de imazapyr+imazapic diminui o teor de clorofila das cultivares. A cultivar NA5909RR sofre maior estresse por meio de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, em comparação às cultivares CD249STS e BRS382CV.

O aumento do estresse pela dose do herbicida ocasiona maior atuação das EROs. Em geral, a elevação da dose de imazapyr+imazapic aumenta a ação do sistema antioxidante enzimático através das enzimas SOD, CAT e APX.

O sistema de manejo não influencia nas alterações metabólicas das cultivares de soja BRS382CV, CD249STS e NA5909RR.

6. REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; FLECK, N. G.; RIZZARDI, M. A.; MEROTTO JR, A.; VIDAL, R. A. Arroz vermelho: ecofisiologia e estratégias de controle. *Ciência Rural*, v.31, p.341-349, 2001.

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acessos em: 03 abr. 2013; 10 out. 2014 e 30 nov. 2015.

AHMAD-HAMDANI, M. S.; YU, Q.; HAN, H.; CAWTHRAY, G. R.; WANG, S. F.; POWLES, S. B. Herbicide resistance endowed by enhanced rates of herbicide metabolism in wild oat (*Avena* spp.). **Weed Science**, v.61, p.55-62, 2013.

AMR, I. E.; SHAHSAVAR, A. Response of lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.4, p.4483-4489, 2010.

ANDRES, A.; MACHADO, S. L. O. Plantas daninhas em arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES Jr., A. M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p.457-546.

ASHIGH, J.; TARDIF, F. An Ala₂₀₅Val substitution in acetohydroxyacid synthase of Eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*) reduces sensitivity to herbicides and feedback inhibition. **Weed Science**, v.55, p.558-565, 2007.

AVILA, L. A.; MARCHEZAN, M.; FRANNÇOIS, T.; CEZIMBRA, D. M.; SOUTO, K. M.; REFATTI, J. P. Toxicidade da mistura formulada de imazethapyr e imazapic sobre o azevém em função do teor de umidade do solo. **Planta Daninha**, v.28, p.1097-1106, 2010a.

AVILA, L. A.; MARCHEZAN, E.; MACHADO, S. L. O.; SILVA, R. P. Evolução do banco de sementes de arroz-vermelho em diferentes sistemas de utilização do solo de várzea. **Planta Daninha**, v.18, p.217-230, 2000.

AVILA, L. A.; TELÓ, G. M.; FERREIRA, R. B.; MARCHESAN, E.; MACHADO, S. L. O.; ROSSATO, T. L.; CEZIMBRA, D. M.; RIGÃO JR., G. Retorno da produção de arroz irrigado com cultivares convencionais após o uso do sistema Clearfield®. **Planta Daninha**, v.28, p.123-129, 2010b.

- AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998.
- BAMBERG, A. L.; PAULETTO, E. A.; GOMES, A. S.; TIMM, L. C.; PINTO, L. F. S.; LIMA, A. C. R.; SILVA, T. R. Densidade de um planossolo sob sistemas de cultivo avaliada por meio da tomografia computadorizada de raios gama. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.1079-1086, 2009.
- BARTH-NETO, A.; CARVALHO, P. C. F.; LEMAIRE, G.; SBRISSIA, A. F.; CANTO, M. W.; SAVIAN, J. V.; AMARAL, G. A.; BREMM, C. Perfilhamento em pastagens de azevém em sucessão a soja ou milho, sob diferentes métodos e intensidades de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.329-338, 2013.
- BASF BRASILEIRA. **Sistema Clearfield® de Produção**. 2004. Disponível em: <http://agro.basf.com.br/hotsites/clearfield/clearfield_arroz/cleararroz.asp?area=3>. Acesso em: 17 jan. 2016.
- BASF BRASILEIRA. **Sistema Cultivance®**, 2014. Disponível em: <http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/content/APBrazil/solutions/cultivance/index> Acesso em: 19 jan. 2016.
- BECKIE, H. J.; WARWICK, S. I.; SAUDER, C. A.; KELLN, G. M.; LOZINSKI, C. Acetolactate synthase inhibitor-resistant false cleavers (*Galium spurium*) in Western Canada. **Weed Technology**, v.26, p.151-155, 2012.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.1-30.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v.91, p.179-194, 2003.
- BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, v.164, p.77-84, 2003.
- BORTOLOTTI, R. P.; MONEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; MATTIONI, N. M. Teor de proteína e qualidade fisiológica de sementes de arroz. **Bragantia**, v.67, p.513-520, 2008.
- BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.43, p.83-116, 1992.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

BRAZ, A. J. B. P.; PROCÓPIO, S. O.; CARGNELUTTI FILHO, A.; SILVEIRA, P. M.; KLIEMANN, H. J.; COBUCCI, T.; BRAZ, G. B. P. Emergência de plantas daninhas em lavouras de feijão e de trigo após o cultivo de espécies de cobertura do solo. **Planta Daninha**, v.24, p.621-628, 2006.

BURGOS, N. R.; NORSWORTHY, J. K.; SCOTT, R. C.; SMITH, K. L. Red rice (*Oryza sativa*) status after 5 years of imidazolinone-resistant rice technology in Arkansas. **Weed Technology**, v.22, p.200-208, 2008.

BUNDT, A. C.; AVILA, L. A.; PIVETTA, A.; AGOSTINETTO, D.; DICK, D. P.; BURAUUEL, P. Imidazolinone degradation in soil in response to application history. **Planta Daninha**, v.33, p.341-349, 2015

BURGOS, N. R.; TRANEL, P. J.; STREIBIG, J. C.; DAVIS, V. M.; SHANER, D.; NORSWORTHY, J. K.; RITZ, J. Review: confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. **Weed Science**, v.61, p.4-20, 2013.

CAREY, V. F.; HOAGLAND, R. E. Resistance mechanism of propanil-resistant barnyardgrass. **Pesticide Science**, v.49, p.333-338, 1997.

CARLSON, D. R.; LOUZANO, L.; LUZZI, B.; ULBRICH.; CONTRI, D.; ISMAEL, M.; MARISCAL, F.; SANDHU, R.; SCOTT, M.; STEVENSON-PAULIK, J.; RECH, E.; ARAGÃO, F. J. Cultivance soybean production system - a new tool for soybean weed control in South America. In: Annual Meeting of the Weed Science Society of America, 52, 2012, Hawaii. **Abstracts...** Hawaii: WSSA, 2012. p.252.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M.; FERREIRA, R. R.; FIGUEIRA, A. V. O.; CRISTOFOLETI, P. J. Herbicide selectivity by differential metabolism: Considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, v.66, p.136-142, 2009.

CARVALHO, P. C. F.; MORAES, A. **Integration of Grasslands within Crop Systems in South America**. Grasslands Productivity and Ecosystems Services. Eds. Lemaire, G.; Hodgson, J. Chabbi, A. 2011. p. 219-226.

CATANEO, A. C.; CHAMMA, K. L.; FERREIRA, L. C.; DÉSTRO, G. F. G.; SOUSA, D. C. F. Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.4, p.23-31, 2010.

- CATUNDA, M. G.; FREITAS, S. P.; OLIVEIRA, J. G.; SILVA, C. M. M. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, v.23, p.115-121, 2005.
- CAVENAGHI, A. L.; GUIMARÃES, S. C.; ANTUNES JÚNIOR, M. Z.; OLIVEIRA, A. C.; AVELAR, J. P. F. S.; SANTOS, J. Eficácia do controle de plantas daninhas utilizando a tecnologia Cultivance®. In: **Anais do XXIX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Gramado, RS, 2014.
- CAYON, D. G.; LOPES, N. F.; OLIVA, M. A.; SILVA, J. F. Teores de clorofilas e de proteína bruta em soja (*Glycine max* (L.) Merrill) tratada com imazaquin. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, p.33-40, 1990.
- CHAGAS, Roberta Magalhães. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativa em plantas de cana-de-açúcar tratadas com paraquat**. 2007. 86f. Dissertação (Fisiologia e Bioquímica de Plantas), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- CHAOUI, A.; MAZHOUDI, S.; GHORBAL, M. H.; FERJANI, E. L. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidants enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science**, v.127, p.139-147, 1997.
- CHIPMAN, D.; BARAK, Z.; SCHLOSS, J. V. Biosynthesis of 2-aceto-2-hydroxy acid; acetolactate synthases and acetohydroxyacid synthases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v.1385, p.401-419, 1998.
- CONAB. **Série histórica de áreas, produtividade e produção**. Disponível em: <www.conab.gov.br> Acesso em: 15 jan. 2016.
- COODETEC. **Sistema STS**. Disponível em: <http://www.coodetec.com.br/sts/> Acessado em: 31 jul. 2015.
- CORPAS, F. J.; BARROSO, J. B.; DEL RÍO, L. A. Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. **Trends in Plant Sciences**, v.6, p.145-150, 2001.
- CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C.; MELO, W. J. Envelhecimento de resíduos vegetais sobre o solo e os reflexos na eficácia de herbicidas aplicados em pré-emergência. **Bragantia**, v.66, p.101-110, 2007.
- COUÉE, I., SULMON, C., GOUESBET, G., EL AMRANI, A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v.57, p.449-459, 2006.
- CULPEPPER, A. S.; YORK, A. C.; BATTS, R. B.; JENNINGS, K. M. Sicklegod (*Senna obtusifolia*) management in an ALS-modified soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, v.11, p.164-170, 1997.

CURRAN, W. S.; LOUX, M. M.; LIEBL, R. A.; SIMMONS, F. W. Photolysis of imidazolinone herbicides in aqueous solution and on soil. **Weed Science**, v.40, p.143-148, 1992.

DAMANIK, R. I.; ISMAIL, M. R.; SHAMSUDDIN, Z.; OTHMAN, S.; ZAIN, A. M.; MAZIAH, M. Response of antioxidant systems in oxygen deprived suspension cultures of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Growth Regulation**, v.67, p.83-92, 2012.

DAN, H. de A.; DAN, L. G. de M.; BARROSO, A. L. de L.; NETO, A. M. de O.; GUERRA, N. Resíduos de herbicidas utilizados na cultura da soja sobre o milho cultivado em sucessão. **Revista Caatinga**, v.25, p.86-91, 2012.

DAYAN, F. E.; WEETE, J. D.; DUKE, S. O.; HANCOCK, H. G. Soybean (*Glycine max*) cultivar differences in response to sulfentrazone. **Weed Science**, v.45, p.634-641, 1997.

DEL LONGO, O. T.; GONZÁLEZ, C. A.; PATORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

DÉLYE, C. Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. **Pest Management Science**, v.69, p.176-187, 2013.

DERKSEN, D. A.; THOMAS, A. G.; LAFORD, H. A.; LOEPPKY, H. A.; SWANTON, C. J. Impact of agronomic practices on weed communities: follow within tillage systems. **Weed Science**, v.42, p.184-194, 1994.

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

DEVINE, M. D.; SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protection**, v.19, p.881-889, 2000.

DEWAELE, E.; FORLANI, G.; DEGRANDE, D.; NIELSEN, E.; RAMBOUR, S. Biochemical characterization of chlorsulfuron resistance in *Cichorium intybus* L. var. Witloof. **Journal Plant Physiology**, v.151, p.109-114, 1997.

DINAKAR, C.; DJILIANOV, D.; BARTELS, D. Photosynthesis in desiccation tolerant plants: energy metabolism and antioxidative stress defense. **Plant Science**, v.182, p.29-41, 2012.

DINELLI, G.; MAROTTI, I.; BONETTI, A.; CATIZONE, P.; URBANO, J. M.; BARNES, J. Physiological and molecular bases of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* biotypes from Spain. **Weed Research**, v.48, p.257-265, 2008.

DUGGLEBY, R. G.; PANG, S. S. Acetohydroxyacid synthase. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v.33, p.1-36, 2000.

EBERLEIN, C. V.; GUTTIERI, M. J.; MALLORY-SMITH, C. A.; THILL, D. C.; BAERG, R. J. Altered acetolactate synthase activity in ALS-inhibitor resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). **Weed Science**, v.45, p.212-217, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

ESFANDIARI, E.; SHOKRPOUR, M.; ALAVI-KIA, S. Effect of mg deficiency on antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation. **Journal of Agricultural Science**, v.2, p.131-136, 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-I5197e.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2016.

FAHEED, F. Comparative effects of four herbicides on physiological aspects in *Triticum sativum* L. **African Journal of Ecology**, v.50, p.29-42, 2012.

FERREIRA, L. C.; CATANEO, A. C.; REMAEH, L. M. R.; CORNIANI, N.; FUMIS, T. F.; SOUZA, Y. A.; SCAVRONI, J.; SOARES, B. J. A. Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in soybean plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.97, p.47-54, 2010.

FERREIRA, E. A.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; VENTRELLA, M. C.; BARBOSA, M. H. P.; PROCÓPIO, S. O.; REBELLO, V. P. A. Sensibilidade de cultivares de cana-de-açúcar à mistura trifloxysulfuron- sodium+ametryn. **Planta Daninha**, v.23, p.93-99, 2005.

FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; GALON, L.; SCHAEGLER, C. E. Competitividade relativa entre cultivares de arroz irrigado e biótipo de arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v.26, p.101-111, 2008.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a reevaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant Cell Environment**, v.28, p.1056-1071, 2005.

FRANS, R.; TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N.D. (Ed.) **Research methods in weed science**. 3.ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. 37p.

GALON, L.; CONCENÇO, G.; PINTO, J. J. O.; MARQUES, R. F.; ANDRES, A. Imidazolinone-tolerant maize as a tool for weed control in flooded rice production systems. **Maydica**, v.59, p.129-136, 2014.

GAZZIERO, D. L. P.; KARAN, D.; VOLL, E.; ULBRICH, A. Persistência dos herbicidas imazaquin e imazethapyr no solo e os efeitos sobre plantas de milho e pepino. **Planta Daninha**, v.15, p.162-169, 1997.

GECHEV, T. S.; VAN BREUSEGEM, F.; STONE, J. M.; DENEV, I.; LALOI, C. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. **Bioessays**, v.28, p.1091-1101, 2006.

GERWICK, B. C.; MIRELES, L. C.; EILERS, R. J. Rapid diagnosis of ALS/AHAS inhibitor herbicide resistant weeds. **Weed Technology**, v.7, p.519-524, 1993.
GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, p.909-930, 2010.

GIOVANELLI, B. F.; ALBRECHT, L. P.; ALBRECHT, A. J. P.; MIGLIAVACCA, R. A.; SILVA, A. F. M.; WOBETO, K. S.; PELLICCI, V. A.; VICTORIA-FILHO, R. Efeito da aplicação de doses de nicosulfuron sobre soja RR/STS. In: **Anais do XXIX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Gramado, RS, 2014.

GOMES JR., F. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Biologia e manejo de plantas daninhas em áreas de plantio direto. **Planta Daninha**, v.26, p.789-798, 2008.

GRYMES, C. F.; CHANDLER, J. M.; NESTER, P. Response of soybean (*Glycine max*) and rice (*Oryza sativa*) in rotation to AC 263, 222. **Weed Technology**, v.9, p.504-511, 1995.

HALL, L. M.; STROME, K. M.; HORSMAN, G. P. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Science**, v.46, p.390-396, 1998.

HAN, H.; YU, Q.; PURBA, E.; WALSH, M.; FRIESEN, S.; POWLES, S. B. A novel amino acid substitution Ala-122-Tyr in ALS confers high-level and broad resistance across ALS-inhibiting herbicides. **Pest Management Science**, v.68, p.1164-1170, 2012.

HARTWING, I.; BERTAN, I.; GALON, L.; NOLDIN, J. A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A. F.; ASPIAZÚ, I.; FERREIRA, E. A. Tolerância de trigo (*Triticum aestivum*) e aveia (*Avena* sp.) a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). **Planta Daninha**, v.26, p.361-368, 2008

HAVAUX, M.; NIYOGI, K. K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v.96, p.8762-8767, 1999.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.125, p.189-198, 1968.

Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA. Soja em rotação com arroz. Porto Alegre, 2016. Disponível em: http://www.irga.rs.gov.br/upload/20150806112855soja_em_rotacao_com_arroz.pdf. Acesso em: 15 jan 2016.

JIANG, L.; YANG, H. Prometryne-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in wheat. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1687-1693, 2009.

JOHNSON, S. E.; ANGELES, O. R.; BRAR, D. D.; BURESH, R. J. Faster anaerobic decomposition of a brittle straw rice mutant: implications for residue management. **Biochemistry Molecular Biology International**, v.38, p.1880-1892, 2006.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J. C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, p.709-725, 2011.

KAWAHIGASHI, H. Transgenic plants for phytoremediation of herbicides. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, p. 225–230, 2009.

KIM, J. S.; YUN, B. W.; CHOI, J. S.; KIM, T. J.; KWAK, S. S.; CHO, K. Y. Death mechanisms caused by carotenoid biosynthesis inhibitors in green and in undeveloped plant tissues. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.78, p.127-139, 2004.

KISSMANN, K. G. **Resistência de plantas a herbicidas**. São Paulo: Basf Brasileira S.A., 1996. 33p.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. **Ciência Rural**, v.35, p.1248-1256, 2005.

KRAEMER, A. F.; MARCHESAN, E.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; GROHS, M. Destino ambiental dos herbicidas do grupo das imidazolinonas: revisão. **Planta Daninha**, v.27, p.629-639, 2009.

KRESLAVSKI, V. D.; ZORINA, A. A.; LOS, D. A.; FOMINA, I. R.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Molecular mechanisms of stress resistance of photosynthetic machinery. In: ROUT, G. R.; DAS, A. B. (Ed.). **Molecular stress physiology of plants**. New Delhi: Springer, p.21-51, 2013.

KRINSKY, N. I. Antioxidant function of carotenoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.7, p.617-35, 1989.

KVARATSKHELIA, M.; WINKEL, C.; THORNELEY, R. N. F. Purification and characterization of a novel class in peroxidase isoenzyme from tea leaves. **Plant Physiology**, v.114, p.1237-1245, 1997.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A.; BURGOS, N. R.; FEDERIZZI, L. C. Molecular Basis of Resistance to ALS-Inhibitor Herbicides in Greater Beggarticks. **Weed Science**, v.57, p.474-481, 2009.

LANGARO, Ana Claudia. **Alterações no metabolismo secundário, nos componentes de produtividade e na qualidade fisiológica de sementes de arroz em função da aplicação de herbicidas**. 2015. 138f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 531p.

LEDFOORD, H. K.; NIYOGI, K. K. Singlet oxygen and photo-oxidative stress management in plants and algae. **Plant Cell and Environment**, v.28, p.1037-1045, 2005.

LEE, D. J.; SENSEMANN, S. A.; O'BARR, J. H.; CHANDLER, J. M.; KRUTZ, L. J.; McCAULEY, G. N.; KUK, Y. I. Soil characteristics and water potential effects on plant available clomazone in rice. **Weed Science**, v.52, p.310-318, 2004.

LEÓN, A. M.; PALMA, J. M.; CORPAS, F. J.; GOMEZ, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; CHATTERJEE, D.; MATEOS, R. M.; DEL RIO, L. A.; SANDALIO, L. M. Antioxidative enzymes in cultivars of peppers plants with different sensitivity to cadmium. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.40, p.813-820, 2002.

LI, M.; YU, Q.; HAN, H.; VILA-AIUB, M.; POWLES, S. B. ALS herbicide resistance mutations in *Raphanus raphanistrum*: evaluation of pleiotropic effects on vegetative growth and ALS activity. **Pest Management Science**, v.69, p.689-695, 2013.

LI, Z.; WALKER, R. H.; WEHTJE, G.; HANCOCK, H. G. Using electrolyte leakage to detect soybean (*Glycine max*) cultivars sensitive to sulfentrazone. **Weed Technology**, v.14, p.699-704, 2000.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods of Enzymology**, v.148, p.362-385, 1987.

LOUX, M. M.; REESE, K. D. Effect of soil type and pH on persistence and carryover of imidazolinones herbicides. **Weed Technology**, v.7, p.452-458, 1993.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MARCHESAN, E.; AVILA, L. A.; ANDRES, A.; MACHADO, S. L. O. Arroz vermelho. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES Jr., A. M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa/Informações Tecnológicas, 2004. p.547-578.

MARCHEZAN, E. Rotação de culturas em áreas de arroz. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 21., Porto Alegre, RS. 1995. **Anais ...** Porto Alegre: IRGA, 1995. p.15-16.

MARCHESAN, E.; SANTOS, F. M.; GROHS, M.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; SENSEMAN, S. A.; MASSONI, P. F. S.; SARTORI, G. M. S. Carryover of imazethapyr and imazapic to nontolerant rice. **Weed Technology**, v.24, p.6-10, 2010.

MAPA – Instrução Normativa 25/2012

<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=573826556>

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

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C., VIEIRA, R. D., FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e Testes**. ABRATES, cap.3, p.1-24, 1999.

MARTINS, Karen Piraine. **Atividade de herbicidas do grupo químico imidazolinonas na integração lavoura-pecuária**, 2014. 86f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MCCOURT, J. A.; PANF. S. S.; KING-SCOTT, J.; GUDDAT, L. W.; DUGGLEBY, R. G; Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant acetohydroxyacid synthase. **Proceedings of The National Academy of Sciences**. v.103, p.569- 573, 2006.

MENEZES, V. G.; MACEDO, V. R. M.; ANGHINONI, I. **Projeto 10: estratégias para o aumento de produtividade, competitividade e sustentabilidade da lavoura de arroz irrigado no RS**. IRGA. Divisão de Pesquisa: Cachoeirinha, 2004. 32p.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.23-29, 2009.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v.33, p.453-467, 2011.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative modifications to cellular components in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v.58, p.459-481, 2007.

MONDRAGON, R. L.; POTTS, H. C. Field deterioration of soybean as affected by environment. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, v.64, p.63-71, 1974.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; DIAS, C. T. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, v.18, p.419-425, 2000.

MORAES, D. M.; SANTOS FILHO, B. G.; VILLELA, F. A.; SANTOS, D. S. B. Efeito do metribuzin sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, p.160-164, 1997.

MOYER, J. R.; ESAU, R. Imidazolinone herbicide effects on following rotational crops in Southern Alberta. **Weed Technology**, v.10, p.100-106, 1996.

MYLONA, P. V.; POLIDOROS, A. N. ROS regulation of antioxidant genes. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. p.101-128.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSWIKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. ABRATES, cap.2.1, p.2.24, 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Enzimas. In: **Lehninger- Princípios de bioquímica**. 4.ed. São Paulo: SARVIER, 2006, p.189-224.

NOHATTO, Marcos André. **Inter-relações fisiológicas de arroz irrigado com arrozvermelho em função de nitrogênio ou luz e resposta da cultura a herbicidas**. 2014. 167f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

NOLDIN, J. A.; CHANDLER, J. M.; McCAULEY, G. N. Red rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. **Weed Technology**, v.13, p.12-18, 1999.

NOLDIN, J. A.; YOKOYAMA, S.; STUKER, H.; RAMPELOTTI, F. T.; GONÇALVES, M. I. F.; EBERHARDT, D. S.; ABREU, A.; ANTUNES, P.; VIEIRA, J.; Desempenho de populações híbridas F2 de arroz-vermelho (*Oryza sativa*) com arroz transgênico (*O. sativa*) resistente ao herbicida amonio-glufosinate. **Planta Daninha**, v.22, p.381-395, 2004.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, p.291-313, 2001.

OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; COSTA, J. M.; CAVALIERI, S. D.; ARANTES, J. G. Z.; ALONSO, D. G.; ROSO, A. C.; BIFFE, D. F. Interação entre sistemas de manejo e de controle de plantas daninhas em pós emergência afetando o desenvolvimento e a produtividade da soja. **Planta Daninha**, v.24, p.721-732, 2006.

OTTIS, B. V.; SMITH, K. L.; SCOTT, R. C.; TALBERT, E. R. E. Rice yield and quality as affected by cultivar and red rice (*Oryza sativa*) density. **Weed Science**, v.53, p.499-504, 2005.

PANG, S. S.; DUGGLEBY, R. G.; GUDDAT, L. W. Crystal structure of yeast acetohydroxy acid synthase: a target for herbicidal inhibitors. **Journal of Molecular Biology**, v.317, p.249-262, 2002.

PELUZIO, J. M, AFFÉRRI, F. S, MONTEIRO, F. J. F, MELO, A. V de, PIMENTA, R. S. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de soja em várzea irrigada no Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.427-434, 2010.

PEIXOTO, P. H. P. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.137-143, 1999.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. B. Produção de sementes. IN.: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. (Orgs.) **Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos**. 3. ed. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, 2012. p. 13-104

PETTER, F. A.; ZUFFO, A. M.; PACHECO, L. P. Seletividade de herbicidas inibidores de als em diferentes estádios de desenvolvimento do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.41, p.408-414, 2011.

PINTO, J. J. O.; NOLDIN, J. A.; SOUSA, C. P.; AGOSTINETTO, D.; PIVETA, L.; DONIDA, A. Atividade residual de imazethapyr + imazapic em arroz semeado em rotação com o arroz Clearfield®. **Planta Daninha**, v.29, p.205-216, 2011.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: Plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, n.61, p.317-347, 2010.

PRESTON, C.; STONE, L. M.; RIEGER, M. A.; BAKER, J. Multiple effects of a naturally occurring proline to threonine substitution within acetolactate synthase in two herbicide-resistant populations of *Lactuca serriola*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.84, p.227-235, 2006.

RADETSKI, C. M.; COTELLE, S.; FÉRARD, J. F. Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate. **Environmental and Experimental Botany**, v.44, p.221-229, 2000.

RAJGURU, S. N.; BURGOS, N. R.; SHIVRAIN, V. K.; STEWART, J. McD. Mutations in the red rice ALS gene associated with resistance to imazethapyr. **Weed Science**, v.53, p.567-577, 2005.

RAMESH, K.; CHANDRASEKARAN, B.; BALASUBRAMANIAN, T. N.; BANGARUSAMY, U.; SIVASAMY, R.; SANKARAN, N. Chlorophyll dynamics in rice (*Oryza sativa*) before and after flowering based on SPAD (chlorophyll) meter monitoring and its relation with grain yield. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.188, p.102-105, 2002.

RECH, E. L.; VIANNA, G. R.; ARAGÃO, F. J. L. High-efficiency transformation by biolistics of soybean, common bean and cotton transgenic plants. **National Protocols**, v.3, p.410-418, 2008.

RÊGO, G. M.; POSSAMAI, E. Avaliação dos Teores de Clorofila no Crescimento de Muda do Jequitibá-Rosa (*Cariniana legalis*). **Comunicado Técnico 128**, 1.ed., 2004.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. IAPAR, 2011, 697p.

ROMAN, E. S.; BECKIE, H.; VARGAS, L.; HALL, L.; RIZZARDI, M. A.; WOLF, T. M. **Como funcionam os herbicidas: Da biologia à aplicação**. 1.ed. Passo Fundo: Gráfica Berthier, 2007. 156p.

ROSO, A. C.; VIDAL, R. A. Culturas resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS: revisão de literatura. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.21, p.13-24, 2011.

RUCHEL, Q.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; GUERRA, D. S.; BELANI, R. Manejo outonal e pré-semeadura de plantas daninhas na soja Cultivance®. In: **Anais do XXVIII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Campo Grande, MS, 2012.

SANDMANN, G.; SCHEER, H. Chloroplast pigments: chlorophylls and carotenoids. IN: **Photosynthesis, a comprehensive treatise**. Raghavendra, A. S (Editor), New York, Cambridge University press, 376 p., 1998.

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; MAZUR, N.; GARBISU, C.; BARRUTIA, O.; BECERRIL, J. B. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em brachiaria decumbens stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. **Química Nova**, v.34, p.16-20, 2011.

SANTOS, F. M.; MARCHESAN, E.; MACHADO, S. L. O.; VILLA, S. C. C.; AVILA, L. A.; MASSONI, P. F. S. Controle químico de arroz-vermelho na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, v.25, p.405-412, 2007.

SANTOS, F. M.; VARGAS, L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; AGOSTINETTO, D.; MARIANI, F.; DAL MAGRO, T. Differential susceptibility of biotypes of *Conyza sumatrensis* to chlorimuron-ethyl herbicide. **Planta Daninha**, v.32, p.427-435, 2014.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, p.995-1014, 2005.

SCHWANKE, A. M. L.; NOLDIN, J. A.; ANDRES, A.; PROCÓPIO, S. O.; CONCENÇO, G. Caracterização morfológica de ecótipos de arroz daninho (*Oryza sativa*) provenientes de áreas de arroz irrigado. **Planta Daninha**, v.26, p.249-260, 2008.

SCHMIDT, F.; BORTOLON, L.; SOUZA, R. O. Toxidez pelos ácidos propiônico e butírico em plântulas de arroz. **Ciência Rural**, v.37, p.720-726, 2007.

SEBASTIAN, S. A.; FADER, G. M.; ULRICH, J. F.; FORNEY, D. R.; CHALEFF, R. S. Semi-dominant soybean mutation for resistance to sulfonyleurea herbicides. **Crop Science**, v.29, p.1403-1408, 1989.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, J. E.; FUERST, E. P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v.9, p.218-227, 1995.

SERGIER, I.; ALEXIEVA, V.; KARANOV, E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plant. **Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences**, v.51, p.121-124, 1997.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. p.275-293.

SHANER, D. L.; MALLIPUDI, N. M. Mechanisms of selectivity of the imidazolinones. In: Shaner, D.L. & O'Connor, S. L., (Eds.). **The imidazolinone herbicides**, p. 91-102, 1991.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-26, 2012.

SIGMAPLOT – **Scientific Graphing Software**. Version 10.0, 2007.

SILVA, A. A.; OLIVEIRA JR, R. S.; COSTA, R. S.; FERREIRA, L. R. Efeito residual no solo dos herbicidas imazamox e imazethapyr para as culturas de milho e sorgo. **Planta Daninha**, v.17, p.345-354, 1999.

SINGH, B. K.; STIDHAM, M. A.; SHANER, D. L. Assay of acetohydroxyacid synthase. **Analytical Biochemistry**, v.171, p.173-179, 1988.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO - SOSBAI. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**, 2012. 179p.

SONG, N. H.; YIN, X. L.; CHEN, G. F.; YANG, H. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils. **Chemosphere**, v.68, p.1779-1787, 2007.

SOOD, A.; KALRA, C.; PABBI, S.; UNİYAL, P. L. Differential responses of hydrogen peroxide, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in *Azolla microphylla* exposed to paraquat and nitric oxide. **Biologia**, v.6, p.1119-1128, 2012.

STOUGAARD, R. N.; SHEA, P. J.; MARTIN, A. R. Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science**, v.36, p.67-73, 1990.

SÜZER, S.; BÜYÜK, H. Residual effects of spraying Imidazolinone-family herbicides on Clearfield® sunflower production from the point of view of crop rotation. **Helia**, v.33, p.25-36, 2010.

TAN, S. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, v.30, p.195-204, 2006.

TAN, S.; EVANS, R. R.; DAHMER, M. L.; SINGH, B. K.; SHANER, D. L. Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. **Pest Management Science**, v.61, p.246-257, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820p.

TARHANEN, S.; METSARINNE, S.; HOLOPAINEN, T.; OKSANEN, J. Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. **Environmental Pollution**, v.104, p.121-129, 1999.

TRANEL, P. J.; WRIGHT, T. R. Resistance of weeds to ALS inhibiting herbicides: what have we learned? **Weed Science**, v.50, p.700-712, 2002.

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVÁ, E.; DAT, J. F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v.161, p.405-414, 2001.

VARGAS, Leandro. **Resistência de *Euphorbia heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS/AHAS)** 2000. 69 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VERNETTI F. de J. VERNETTI JR., F. de J. Histórico da pesquisa da soja na região sudeste do Rio Grande do Sul: várzeas e coxilhas (do IAS à ETB). **Clima Temperado**, 2013.

VIANA, H. R. M.; SILVA, A. F. M.; ALBRECHT, A. J. P.; ALBRECHT, L. P.; MIGLIAVACCA, R. A.; GIOVANELLI, B. F.; CUNHA, B. R.; VICTORIA-FILHO, R. Efeito da aplicação de doses de metsulfuron-methyl sobre soja RR/STS. In: **Anais do XXIX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Gramado, RS, 2014.

VIEIRA, L. R. D.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R. F.; SEDIYAMA, C. S.; THIEBAUDT, J. T. L.; XIMENES, P. A. Estudo da qualidade fisiológica de semente de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivar UFV-1 em quinze épocas de colheita. In: Seminário Nacional de Pesquisa de Soja, 2., **Anais...** Embrapa-CNPSo, v.1, p.633-644, 1982.

VILA-AIUB, M. M.; NEVE, P.; POWLES, S. B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**, v.184, p.751-767, 2009.

VILLA, S. C. C.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A.; MASSONI, P. F. S.; TELO, G. M.; MACHADO, S. L. O.; CAMARGO, E. R. Arroz tolerante a imidazolinonas: controle do arroz-vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não tolerantes. **Planta Daninha**, v.24, p.761-768, 2006.

WANG, W. N.; LU, J. W.; REN, T.; LI, X. K.; SU, W.; LU, M. X. Evaluating regional mean optimal nitrogen rates in combination with indigenous nitrogen supply for rice production. **Field Crops Research**, v.137, p.37-48, 2012.

WANG, M.; ZHOU, Q. X. Effects of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (*Triticum aestivum*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.64, p.190-197, 2006.

WEI, N.; DENG, X. W. The role of the COP/DET/FUS genes in light control of *Arabidopsis* seedling development. **Plant Physiology**, v.112, p.871-878, 1996.

WHALEY, C. M.; WILSON, H. P.; WESTWOOD, J. H. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v.55, p.83-90, 2007.

WILSON Jr., C. E.; RUNSICK, S. K.; MAZZANTI, R. Trends in Arkansas rice production. In: NORMAN, R. J.; MOLDENHAUER, K. A. K. (eds BR Wells Rice Research Series). **University of Arkansas Agricultural Experiment Station, Research Series 581**, p.11-21, 2009.

WU, G. L.; CUI, J.; TAO, L.; YANG, H. Fluroxypyr triggers oxidative damage by producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*). **Ecotoxicology**, v.19, p.124-132, 2010.

XAVIER, E.; OLIVEIRA, M. C.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; DIESEL, F.; PAGNONCELLI, F. D.; SCALCON, E. Acetolactate synthase activity in *Euphorbia heterophylla* resistant to ALS and PROTOX inhibiting herbicides. **Planta Daninha**, v.31, p.867-874, 2013.

YU, Q.; HAN, H.; VILA-AIUB, M. M. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. **Journal of Experimental Botany**, v.61, p.3925-3934, 2010.

YU, Q.; POWLES, S. B. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. **Pest Management Science**, v.70, p.1340-1350, 2014.

VITA

Diego Severo Fraga é filho de Sérgio Fernando da Silva Fraga e Nora Lúcia Severo Fraga. Nasceu em 06 de dezembro de 1981, no Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Formou-se pela Escola de 2º grau Nossa Senhora do Patrocínio em Dom Pedrito/RS no ano de 2000. No ano de 2004 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel), onde se graduou Engenheiro Agrônomo em 2009. No período de 2005 a 2007 desenvolveu atividades como estagiário e bolsista de Iniciação Científica (FAPERGS), atuando no Departamento de Fitotecnia. Em 2010, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, onde obteve o título de Mestre em Fitossanidade (área de conhecimento: Herbologia) em 2012. Neste mesmo ano ingressou no curso de doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes pela mesma Instituição.