

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Dissertação

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO ARROZ IRRIGADO SUBMETIDO À
APLICAÇÃO DE HERBICIDAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE NA ÁGUA DE
IRRIGAÇÃO**

ÍTALO LUCAS DE MORAES

Pelotas, 2015

ÍTALO LUCAS DE MORAES

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DO ARROZ IRRIGADO SUBMETIDO À
APLICAÇÃO DE HERBICIDAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE NA ÁGUA DE
IRRIGAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de conhecimento: Fisiologia Vegetal).

Orientador: Dr. Sidnei Deuner

Coorientador: Ph.D. Luis Antonio de Avila

Pelotas, 2015

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M827r

Moraes, Ítalo Lucas de

Respostas fisiológicas do arroz irrigado submetido à aplicação de herbicidas em condições de salinidade na água de irrigação / Ítalo Lucas de Moraes. – 66f. : il. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2015. – Orientador Sidnei Deuner ; coorientador Luis Antônio Ávila.

1.Fisiologia vegetal. 2.*Oryza sativa*. 3.Arroz. 4.Controle químico.5.Estresse salino. 6.Herbicidas. I.Deuner, Sidnei. II.Ávila, Luis Antônio. III.Título.

CDD: 633.18

Banca Examinadora:

Dr. Sidnei Deuner (Orientador)

Dr. Edinalvo Rabaioli Camargo

Dr. Giovani Greigh de Brito

AGRADECIMENTOS

A minha família, especialmente aos meus pais Iram Cardoso de Moraes e Iane Lucas de Moraes por todo o apoio e amor incondicional dispensado.

Ao professor e pesquisador Dr. Sidnei Deuner pela confiança a mim depositada, assim como pela orientação, paciência, ensinamentos, amizade e apoio, que foram de suma importância para a realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Relações Hídricas pela amizade e companheirismo.

Ao professor e pesquisador Ph.D. Luis Antônio Ávila, pela coorientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV), por me oportunizar a realização do mestrado.

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

Aos professores do PPFV pelos ensinamentos conferidos no decorrer do curso.

RESUMO

MORAES, Ítalo Lucas de. **Respostas fisiológicas do arroz irrigado submetido à aplicação de herbicidas em condições de salinidade na água de irrigação**, 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Na cultura do arroz irrigado, a utilização do controle químico se constitui na tática mais adotada no manejo de plantas daninhas, porém, algumas respostas fisiológicas da planta sob condições de estresse salino não são bem elucidadas. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e em laboratório pertencente à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Capão do Leão/RS, durante o ano agrícola de 2013/14 e 14/15. Os herbicidas utilizados foram Aura[®] 200 (profoxidim 170 g.i.a ha⁻¹), Clincher[®] (cialofope butílico 315 g.i.a ha⁻¹), Nominee[®] (bispiribaque sódico 50 g.i.a ha⁻¹) e Gamit[®] (clomazona 600 g.i.a ha⁻¹), aplicados no estágio V3-V4, antes do estabelecimento da lâmina de água, a qual foi mantida na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de salinidade. No primeiro ensaio, as variáveis analisadas foram fitotoxicidade, conteúdo relativo de água (CRA), atividade das enzimas antioxidantes (CAT, APX e SOD), peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio. Objetivou-se com esse experimento inferir sobre os efeitos fisiológicos desencadeados pela ação de herbicidas seletivos a cultura do arroz aplicados em pós-emergência sob condições salinas da água de irrigação. O herbicida clomazona mostrou a maior fitotoxicidade para o tratamento não salino, no entanto para o tratamento com sal houve recuperação, e o maior valor de CRA, associado a maior atividade da CAT, menor atividade para APX e baixa atividade para SOD. A baixa peroxidação lipídica e conteúdo de peróxido indicam que a CAT é efetiva na eliminação de EROs impedindo assim, o dano as membranas. O herbicida profoxidim quando aplicado de forma isolada manteve baixa fitotoxicidade, porém o CRA foi o mais afetado nas duas condições de salinidade. O alto valor de atividade das enzimas antioxidantes e de peroxidação lipídica indicam que o estresse oxidativo também está associado a ação deste herbicida. O herbicida bispiribaque-sódico não alterou a fitotoxicidade e o CRA, estando os valores de atividade enzimática associados a baixa peroxidação lipídica, o que indica ocorrência de estresse oxidativo em menor grau para o herbicida inibidor de ALS. Para cialofope-butílico houve alta fitotoxicidade e a maior redução no CRA para o tratamento não salino. No segundo experimento objetivou-se investigar os parâmetros fisiológicos índice de clorofilas, flavonoides, antocianinas, índice de balanço de nitrogênio e potencial osmótico em plantas de arroz irrigado. O herbicida clomazona apresentou recuperação no índice de clorofila, índice de balanço do nitrogênio e potencial osmótico sob estresse salino, mostrando maior produção de antocianinas, provavelmente devido a maior ativação do mecanismo de defesa. Todos os tratamentos que combinaram os dois estresses apresentaram redução no índice de balanço do nitrogênio e índice de clorofila aos 21 e 28 dias após a aplicação, respectivamente. O herbicida clomazona aplicado sob condições estresse salino mostrou recuperação da maioria dos parâmetros avaliados, constituindo-se este, uma alternativa ao controle químico de plantas daninhas na cultura do arroz nestas condições. Estas alterações sugerem que os herbicidas interferem nos parâmetros fisiológicos avaliados, provavelmente por uma elevação nos custos energéticos de metabolização.

Palavras-chave: *Oryza sativa*; controle químico; estresse salino; herbicidas

ABSTRACT

MORAES, Ítalo Lucas de. **Physiological responses of herbicides in rice subjected to salinity conditions in the irrigation water.** 2015. 66 f. Dissertation (Master degree) – Post-Graduation Program in Plant Physiology Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

In irrigated rice, the use of chemical weed control constitutes the most adopted tactic in the management of these, however, some physiological responses of plant under salt stress conditions are not well elucidated. This study aimed to evaluate physiological variables in irrigated rice in response to the effect of selective herbicides to the crop in salinity conditions of irrigation water. The experiment was conducted in a greenhouse and laboratory belonging to the Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão/RS, during the agricultural year of 2013/14 and 14/15. The herbicides were used Aura[®] 200 (profoxydim 170 g.i.a. ha⁻¹), Clincher[®] (Cyhalofop-butyl 315 g.i.a. ha⁻¹), Nominee[®] (bispyribac sodium, 50 g.i.a. ha⁻¹) and Gamit[®] (clomazone 600 g.i.a ha⁻¹). All of these have been applied in the V3-V4 growth stage, prior to the establishment of the water layer, which was maintained in the presence or absence of 7.5 dS m⁻¹ NaCl. In the first trial, the variables analyzed were phytotoxicity, relative water content, activity of antioxidant enzymes (CAT, APX and SOD), lipid peroxidation and hydrogen peroxide. The objective of this experiment infer about the physiological effects triggered by the action of selective herbicides the rice crop applied post-emergence under salt conditions in irrigation water. The clomazone herbicide showed the highest phytotoxicity for non saline treatment, however to treat with salt there was a significant recovery, and the highest value of CRA associated with increased activity of CAT, APX to lower activity and low activity for SOD. The low lipid peroxidation and peroxide content indicating that CAT is effective in the elimination of ROS thus preventing damage the membranes. The profoxydim herbicide when applied in isolation kept low phytotoxicity, but the CRA was the most affected in both conditions of salinity. The high-value activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation indicate that oxidative stress is also associated with the action of this herbicide. The herbicide bispyribac-sodium did not change the phytotoxicity and the CRA. The values of the antioxidant activity of enzymes associated with low lipid peroxidation indicate that oxidative stress occurs to a lesser extent to ALS-inhibiting herbicides. To cyhalofop butyl was high phytotoxicity and the greatest reduction in CRA for non saline treatment. In the second experiment aimed to investigate the physiological parameters chlorophyll index flavonoids, anthocyanins, nitrogen balance index and osmotic potential of rice plants. The clomazone herbicide showed recovery of chlorophyll index, nitrogen balance index and osmotic potential parameters, under salt stress, showing higher production of anthocyanins, probably due to increased activation of defense mechanism. All treatments that combined the two stress showed a reduction in the nitrogen balance index and at 21 and 28 DAA respectively. The clomazone herbicide applied under salt stress conditions showed recovery of most of the evaluated parameters, being this, an alternative to chemical weed control in rice cultivation in these conditions. These changes suggest that herbicides modifies physiological parameters evaluated, probably by an elevation in energy costs to metabolization.

Key words: *Oryza sativa*; Chemical control; Salt stress; Herbicides.

Lista de Tabelas

Capítulo 01

Tabela 1	Valores da análise química do solo coletado de área de várzea.....	24
Tabela 2	Relação dos herbicidas utilizados conforme seus respectivos nomes comerciais, técnicos, mecanismo de ação e dose.....	25
Tabela 3	Valores médios de fitotoxicidade de herbicidas aplicados no arroz irrigado, cultivar IRGA 424, acrescidos ou não de 7,5 dS m ⁻¹ de NaCl na água de irrigação aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas.....	29

Capítulo 02

Tabela 1	Valores da análise química do solo coletado de área de várzea.....	46
Tabela 2	Relação dos herbicidas utilizados conforme seus respectivos nomes comerciais, técnicos, mecanismo de ação e dose.....	47

Lista de Figuras

Capítulo 1

- Figura 1 Valores médios de Conteúdo relativo de água (CRA%) em plantas de arroz aos 7 DAA submetidas a diferentes tratamentos herbicidas, associados ou não a salinidade na água de irrigação.....30
- Figura 2 Atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação32
- Figura 3 Atividade da enzima Ascorbato peroxidase (APX) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação.....33
- Figura 4 Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação.....34
- Figura 5 Conteúdo de MDA em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação36
- Figura 6 Conteúdo de H₂O₂ em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação.....38

Lista de Figuras

Capítulo 2

- Figura 1 Índice de clorofila em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação.....50
- Figura 2 Plantas de arroz, cultivar IRGA 424, tratadas com o herbicida clomazona, sem salinidade na água de irrigação (esquerda) e com salinidade (direita). Evidenciando a recuperação mais rápida no IC no tratamento com salinidade aos 21 DAA.52
- Figura 3 Conteúdo de flavonoides em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação.....54
- Figura 4 Conteúdo de antocianinas em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação.....55
- Figura 5 Índice de balanço do nitrogênio (NBI) em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação.....57
- Figura 6 Potencial osmótico (MPa) em folhas de arroz, aos sete e 14 DAA (A e B), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação.....60

Sumário

Resumo	4
Abstract	5
Lista de tabelas	6
Lista de Figuras	7
Introdução geral	10
Referências bibliográficas	18
Capítulo 01 – Estresse oxidativo em arroz irrigado submetido a diferentes herbicidas, associados à salinidade na água de irrigação	21
Introdução.....	22
Material e Métodos.....	24
Resultados e Discussão.....	28
Conclusão.....	39
Referências Bibliográficas.....	40
Capítulo 02 – Parâmetros fisiológicos em arroz irrigado submetido ao tratamento com herbicidas associados à salinidade na água de irrigação	43
Introdução.....	44
Material e Métodos.....	46
Resultados e Discussão.....	49
Conclusões.....	63
Referências Bibliográficas.....	64

1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais importantes no mundo, considera-se que um terço da fonte total de carboidratos venha deste grão. É o alimento de mais de três bilhões de pessoas, sendo responsável por 50-80% da ingestão diária de calorias. É o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando uma área de aproximadamente de 158 milhões de hectares (AREF & RAD 2012). O crescimento do consumo mundial de arroz têm sido linear, com variação média de 2% a.a., e a expectativa é de aumento de 1,3%, atingindo o maior consumo já registrado por esta *commodity*. A produção vem apresentando crescimento de 1,9% a.a. sendo de 1% de aumento para 2014. Em 2013, o aumento do consumo fora de 1,6%, enquanto o da produção de apenas 0,6%, resultando em um excedente de produção em relação ao consumo de 1,9 milhões de toneladas (USDA, 2015).

Enquanto o arroz irrigado é produzido em vastas áreas do mundo, as exigências físicas para o seu cultivo em sistema irrigado se limitam a determinadas zonas. Sua produção, para ser economicamente viável, requer temperaturas médias elevadas normalmente durante a estação de crescimento. A maior parte da produção mundial de arroz é destinado para uso alimentar, embora seja também utilizada na alimentação de animais (FAO, 2014).

A salinidade é um problema que ameaça a produção de alimentos básicos em inúmeros locais do mundo, principalmente em regiões semiáridas e áridas onde a água de irrigação é frequentemente salina. Nos EUA, por exemplo, o conteúdo salino nas nascentes do rio Colorado é de apenas 50 mg L⁻¹, enquanto que 2.000 km a jusante, o conteúdo do mesmo rio atinge cerca de 900 mg L⁻¹ (TAIZ & ZEIGER, 2013). A aplicação de água de irrigação na cultura do arroz em uma condutividade elétrica de 5,0 dS m⁻¹, correspondente a aproximadamente 100 mM de NaCl, com uma vazão de 1,0 L s⁻¹ ha⁻¹ proveria ao solo 42 toneladas de NaCl por hectare.

Atualmente, estima-se que cerca de 7% da superfície agrícola mundial seja afetada pela salinidade e que esse número pode aumentar até 20% no futuro,

devido à salinização da terra como consequência da irrigação artificial e do manejo inadequada dos solos. Os solos irrigados contribuem com cerca de um terço da produção mundial de alimentos, sendo que grande parte da área total de terras irrigadas podem ser adversamente afetadas pela salinização (KOSOVÁ, 2013).

Nas planícies costeiras do Rio Grande do Sul, o sistema de cultivo do arroz é basicamente irrigado, e a fonte de água para a irrigação mais utilizada é a Laguna dos Patos, que pela ligação ao Oceano Atlântico, sofre a influência, em épocas de baixa pluviosidade, com a entrada de água salina, acarretando o aumento da salinidade para níveis de condutividade de até $7,49 \text{ dS m}^{-1}$. Entretanto, não é somente a água de irrigação que provém o aumento de sais às lavouras, a própria gênese dos solos, originários de sedimentos costeiros, favorece a presença de altos níveis de sódio (CARMONA, 2011).

A segurança alimentar mundial é ameaçada pelas mudanças climáticas, constituindo um dos desafios mais importantes do século 21 para o fornecimento de alimentos suficientes para a crescente população (KANG et. al, 2009). Nesse contexto a disponibilidade de água será um dos limitantes para a produção agrícola, e em especial, a região costeira produtora de arroz no Estado do RS poderá sofrer com o aumento dos níveis dos oceanos pelo maior aporte de água salina na Laguna dos Patos, pois é esperado aumento no nível do mar de 0,5 até 1m até 2100 (CHURCH et al., 2013).

A salinidade do solo promove a toxidez de alguns íons, estresse osmótico, deficiência de nutrientes (N, Ca, K, P, Fe, Zn) e estresse oxidativo em plantas, limitando a absorção de água do solo. Reduz significativamente a absorção de fósforo (P) porque íons fosfato podem precipitar (SHRIVASTAVA, 2015). A salinidade afeta também a fotossíntese principalmente através de uma redução da área foliar, teor de clorofila e condutância estomática, e em menor extensão, diminuição da eficiência do fotossistema II (NETONDO et al., 2004).

As respostas da planta para ambos os efeitos osmótico e iônico, exigem maior quantidade de recursos e aumento do metabolismo energético. À medida que as plantas se desenvolvem e aumentam sua necessidade por água, há tendência de ocorrer maior concentração de sais ao redor das raízes, pelo aumento da evapotranspiração das plantas (GRATTAN, et al., 2008). Em função da concentração de sais, as plantas ficam incapacitadas de absorver quantidade suficiente de água, pelo decréscimo do potencial osmótico do solo. Em decorrência

disso, ocorre o fechamento dos estômatos, diminuição da absorção de CO₂ e conseqüentemente a diminuição da fixação de carbono, afetando severamente a produção de compostos ricos em energia na maioria das plantas sensíveis ao sal, reduzindo a produção de biomassa vegetal.

Elevadas concentrações de sais podem conduzir a penetração de íons, como Na⁺ e o Cl⁻, passivamente através da membrana plasmática e a acumulação destes no citoplasma das células, que podem conduzir à inibição da atividade de enzimas intracelulares (KOSOVÁ, 2013). Certos íons atuam isoladamente ou combinados, afetando o estado nutricional das plantas e causando desnaturação de proteínas e desestabilização de membranas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Todos os solos contêm sais solúveis em água. As plantas absorvem os nutrientes essenciais na forma de sais solúveis, mas a acumulação excessiva suprime o crescimento das plantas. Nos últimos anos, a degradação dos atributos químicos, físicos, e biológicos do solo resultou em graves conseqüências aos recursos naturais globais (a compactação, atividade microbiana diminuída). A área com solos afetados continua a aumentar a cada ano devido à introdução de irrigação em novas áreas (SHRIVASTAVA, 2015).

Em resumo, as mudanças fisiológicas causadas pelos efeitos da salinidade incluem, inicialmente, a absorção de água e nutrientes e a permeabilidade das membranas. Essas alterações refletem no balanço hídrico e nutricional da planta e provocam mudanças no metabolismo, no balanço hormonal, nas trocas gasosas e na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Todas essas mudanças comprometem a expansão e divisão das células, o crescimento vegetativo e reprodutivo e a aceleração da senescência das folhas, que resultam na eventual morte da planta (PRISCO, 2010).

Para tolerar a salinidade as plantas podem acumular íons no vacúolo e/ou solutos orgânicos de baixo peso molecular no citoplasma, no processo denominado de ajustamento osmótico, assim como efetuar a exclusão de Na⁺ e Cl⁻ a partir do citosol por compartimentalização no vacúolo (SILVA, 2015).

A avaliação da interferência do estresse salino no potencial produtivo de plantas é difícil de mensurar em virtude das interações com outros fatores ambientais, incluindo fertilidade do solo, temperatura, intensidade luminosa e perda de água devido à transpiração. A tolerância das plantas pode sofrer variações conforme a fase de desenvolvimento das culturas. Por exemplo, no arroz, a produção de grãos é

muito mais afetada pela salinidade do que o crescimento vegetativo (SHRIVASTAVA, 2015).

A susceptibilidade do arroz ao sal varia durante o ciclo de vida, mas os efeitos mais significativos ocorrem nos estádios inicial e reprodutivo. As plantas podem ser capazes de se adaptar rapidamente ao estresse salino moderado pela reprogramação múltipla dos processos fisiológicos e de desenvolvimento (THITISAKSAKUL, 2015). A maioria das cultivares utilizadas no Rio Grande do Sul é susceptível a salinidade, tanto no período de plântula, quanto reprodutivo. Isso leva a necessidade do entendimento da dinâmica da salinidade da água e do solo e do conhecimento do seu efeito no crescimento das plantas e no rendimento de grãos do arroz irrigado (CARMONA, 2011).

A condutividade elétrica (CE) é o atributo mais frequentemente usado para monitorar os níveis de salinidade da água. Em condições de campo, reduções de um terço no rendimento de grãos podem ocorrer quando o arroz é cultivado em uma condutividade elétrica (CE) de 2 dS m^{-1} , reduzindo a metade em níveis de 4 dS m^{-1} , sendo estes níveis de salinidade, considerados baixo e moderado estresse salino, respectivamente. Alguns estudos mostram que menos de 5 dS m^{-1} se mostra letal para o arroz (THITISAKSAKUL, 2015).

Nos pontos de captação de água de irrigação ao redor da Lagoa dos Patos a condutividade variou de $0,3 \text{ dS m}^{-1}$ até $7,0 \text{ dS m}^{-1}$, ao longo dos anos (FRAGA et al., 2010). Segundo Carmona (2011), o valor máximo de CE encontrado para a região de Pelotas foi de $7,49 \text{ dS m}^{-1}$, enquanto que para a região de São Lourenço do Sul a salinidade variou de $5,59$ a $6,09 \text{ dS m}^{-1}$, valores estes muito acima do teor crítico do arroz.

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas continuamente como subprodutos de diversas vias metabólicas que estão localizadas em diferentes compartimentos celulares, tais como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomos. Estima-se que entre 1 e 2% de O_2 consumido pelas plantas é desviado para formação de EROs em vários *locus* subcelulares. Em condições normais, estas moléculas são quebradas por vários mecanismos de defesa antioxidantes. O equilíbrio entre a sua produção e a eliminação pode ser perturbado por vários fatores bióticos e abióticos de estresse, tais como salinidade, radiação UV, seca, metais pesados, temperaturas extremas, deficiência de nutrientes, poluição do ar, herbicidas e ataques de patógenos (GILL, 2010).

Acumulação de EROs induzida por estresse é contrabalançada pelos sistemas enzimáticos antioxidantes que incluem uma variedade de removedores, tais como SOD, CAT e APX. A enzima SOD (Superóxido dismutase, EC 1.15.1.1) é uma metaloenzima, sendo classificada pelos seus co-fatores de metal em três tipos conhecidos: cobre/zinco (Cu/Zn-SOD), manganês (Mn-SOD) e o ferro (Fe-SOD), que estão localizados em diferentes compartimentos celulares. A SOD é a mais eficaz enzima antioxidante intracelular, estando presente em todos os organismos aeróbios e em todos os compartimentos subcelulares propensos a estresse oxidativo mediado por EROs. É a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos causados por níveis elevados do ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), onde esta enzima o remove catalisando a seguinte reação: $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow 2 H_2O_2 + O_2$ (GILL, 2010).

A CAT (Catalase, EC 1.11.1.6) é uma enzima tetramérica contendo heme, com potencial para dismutar diretamente H_2O_2 em H_2O e O_2 , sendo indispensável para desintoxicação das EROs durante condições de estresse. Apresenta uma das maiores taxas de conversão para todas as enzimas: uma molécula de CAT pode converter aproximadamente 6 milhões de moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 por minuto (GILL, 2010).

A APX (Ascorbato peroxidase EC 1.11.1.11) também desempenha um papel na limpeza de EROs, protegendo as células de plantas superiores, algas, e outros organismos. APX está envolvida na conversão de H_2O_2 em duas moléculas de água. A família APX é composta por pelo menos cinco isoformas diferentes incluindo diferentes organelas como tilacóide (tAPX) e glioxissomo (gmAPX), bem como a forma solúvel do estroma do cloroplasto (sAPX) e forma citosólica (cAPX) (GILL, 2010).

Outro problema que pode inviabilizar a orizicultura são as plantas daninhas, o que se traduz em efeitos negativos pela competição por luz, água e nutrientes. Nesse contexto, a aplicação de herbicidas é uma das práticas mais utilizadas na agricultura moderna, assim como no sistema produtivo do arroz para controlar a competição com essas plantas. Alguns herbicidas possuem seletividade a determinada cultura em detrimento a planta daninha, e essa seletividade pode variar de acordo com alguns fatores, um deles relaciona a habilidade da cultura em decompor ou metabolizar a molécula de herbicida antes de sua ação, podendo conjugá-las com açúcares ou aminoácidos, armazenando-os no vacúolo de uma

forma não tóxica. A incapacidade da planta daninha em metabolizar o herbicida determina sua morte (ROMAN, et al., 2007).

O processo de metabolização e desintoxicação dos herbicidas é realizado por glutatona e citocromo P450 monooxigenases, catalisando reações de oxidação e conjugação. Em plantas, citocromo P450 monooxigenases participam no metabolismo primário e secundário, estando envolvidas na biossíntese e ou catabolismo de fitormônios, de muitos biopolímeros (por exemplo, lignina, cutina, suberina), pigmentos, aromas, sabores, antioxidantes, compostos aleloquímicos e defesa. Ao exibir alta especificidade por seus substratos, P450s também podem participar da ativação ou o catabolismo de xenobióticos, tais como poluentes industriais ou pesticidas, atuando como detoxificante de herbicidas (RENAULT et al., 2014).

Um herbicida seletivo é aquele que é muito mais tóxico para algumas plantas do que para outras dentro de alguns limites, os quais incluem: uma faixa específica de doses, método de aplicação, condições ambientais que precedem ou sucedem a aplicação (OLIVEIRA, 2011).

A seletividade de herbicidas se manifesta de forma diferenciada de acordo com a cultura (espécie), herbicida, ambiente e estágio fenológico da cultura. Segundo Martini et al. (2012), tem sido relatado fitotoxicidade de herbicidas seletivos ao arroz irrigado na ocorrência de baixas temperaturas. Essa seletividade, quando baseada no metabolismo, apresenta maiores riscos de ocorrência de injúria à planta, pois a eficácia dos herbicidas é extremamente dependente das condições ambientais, e estas podem alterar a capacidade de absorção, de translocação e de detoxificação dessas moléculas nas plantas. A eficácia do herbicida pode variar de acordo com as condições ambientais. A temperatura do ar, umidade relativa, nível de radiação e as condições fisiológicas da planta podem alterar a composição e quantidade de substâncias lipofílicas depositadas sobre a superfície foliar (MATZENBACHER, 2014).

A seletividade a herbicidas não pode ser determinada apenas pela verificação ou não de sintomas de fitotoxicidade, pois já são conhecidos exemplos de produtos que podem reduzir a produtividade das culturas sem causar efeitos visualmente detectáveis e, também, outros que provocam injúrias acentuadas, mas que permitem a recuperação plena da cultura (FERREIRA et al., 2005).

O cialofope-butílico e o profoxidim são herbicidas utilizados para o controle de plantas daninhas Liliopsidas, registrados para a cultura do arroz irrigado, pertencentes ao grupo químico dos ariloxifenoxipropionatos (FOPs) e ciclohexanodionas (DIMs), respectivamente, os quais possuem mecanismo de ação baseado na inibição da Acetil CoA carboxilase (ACCase). Esta enzima é responsável pela conversão de acetil coenzima A (acetil co-A) em malonil co-A, através da adição de CO_2 à acetil co-A, primeiro passo da síntese dos ácidos graxos, que são constituintes de membranas de células e organelas. Em decorrência disso, ocorre a paralisação da síntese de membranas necessárias para o crescimento e multiplicação celular.

O clomazone é um herbicida do grupo dos inibidores dos diterpenos, um pré-herbicida, que deve ser metabolizado a 5-cetoclomazone, que é o composto ativo que inibe deoxixilulose 5-fosfato sintase, enzima chave da via dos isoprenóides que catalisa o primeiro passo da rota do Metileritritol fosfato (MEP) (YASUOR, 2010). Sem a síntese de isoprenóides não são produzidas moléculas relacionadas ao crescimento como giberelinas e citocininas, não havendo também a produção de carotenoides, e na ausência destes, em condições de iluminação, são formados oxigênio singlete e clorofila triplet, levando a degradação de clorofilas e peroxidação dos lipídeos de membrana.

Em condições salinas, a deficiência hídrica nas folhas, causada pelo decréscimo do potencial osmótico, inibe o crescimento e metabolismo dos vegetais, diminuindo a fotossíntese e o consumo de assimilados nas folhas em expansão. Isso ocorre devido à redução do potencial hídrico do floema durante o estresse hídrico, que diminui o movimento de assimilados, visto que o transporte pelos elementos crivados depende de gradientes de pressão (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O estresse hídrico prolongado pode levar ao aumento na espessura e densidade de cutícula e da pubescência e, conseqüentemente, reduzindo a penetração, translocação e metabolismo de herbicidas. A breve exposição ao estresse hídrico, isto é, até o murchamento da planta, torna a cutícula menos permeável a água do que era antes e aumenta o ângulo de contato da gota pulverizada com a folha, reduzindo sua molhabilidade (MACHADO, et al., 2000).

Dentro da planta, os herbicidas movem-se com o fluxo em massa de água pelo xilema, e a força motriz deste fluxo é a diferença de potencial hídrico entre a atmosfera e o mesófilo foliar, e deste para as raízes. Com menor transpiração

ocorrendo devido ao maior fechamento dos estômatos, espera-se que o movimento desses produtos possa ser prejudicado. Dolatabadian et al. (2011), investigando o efeito do estresse salino induzido em atributos de crescimento e características anatômicas de soja, observaram que o estresse salino aumentou significativamente a massa cuticular e a densidade dos tricomas nas células epidérmicas. Por outro lado, a espessura do córtex foi diminuída por causa do estresse salino, enquanto a espessura do xilema aumentou nas plantas cultivadas sob estresse salino, especialmente em altos níveis de salinidade. Dessa forma, é de se esperar que o metabolismo e translocação de herbicidas sistêmicos na planta possa ser alterado em maior ou menor grau, em função dos níveis de salinidade no solo ou na água de irrigação. Sacala, et al. (2008), estudando a ação combinada do herbicida glufosinato de amônio e NaCl, constatou nesta associação, diminuição significativa no teor de amônio em folhas de milho em comparação com o tratamento herbicida isolado, enquanto que a concentração de amônio nas raízes mantiveram-se no mesmo nível. Isso sugere redução do metabolismo do herbicida em condições de salinidade, em virtude de este, atuar inibindo a enzima glutamina sintetase (GS), levando a um acúmulo deste composto nos tecidos. Esse mesmo autor, testando o efeito do herbicida inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS), rimsulfuron, concluiu que a salinidade não alterou a toxicidade do herbicida aplicado em dose baixa, mas fez aumentar a toxicidade em concentração elevada em relação às raízes de milho.

O metabolismo de herbicidas envolve gasto de energia para a planta, além disso, sabe-se que sob determinado estresse, as plantas apresentam paralisação do crescimento, o que se traduz em menor quantidade de biomassa, a qual poderia se converter em maior produção de carboidratos pela fixação de CO₂, afetando por sua vez a produtividade das culturas.

Por ser a salinidade do solo um limitante a produtividade recorrente em muitas regiões agrícolas do mundo, e em virtude de não haver dados significativos quanto a seus efeitos frente às práticas de manejo químico de plantas daninhas na cultura do arroz, objetiva-se com este estudo, avaliar a ação de herbicidas recomendados para esta cultura sobre parâmetros fisiológicos em condições salinas de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AREF, F.; RAD, H. E. Physiological characterization of rice under salinity stress during vegetative and reproductive stages. **Indian Journal of Science and Technology**. vol. 5, p. 2578 - 2586, n. 4, 2012.

CARMONA, F. C.; ANGHINONI, I.; HOLZSCHUH, M. J.; MARTINS, A. P. Attributes of irrigated rice as affected by soil sodicity and potassic fertilizer application. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, v.35, p. 889-897 2011.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; OVEJERO, R. F. L.; CARVALHO, J. C. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2 ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2004. 100p.

CHURCH, J. A. et al. Revisiting the Earth's sea-level and energy budgets from 1961 to 2008. Sea-level rise by 2100. **Science**, v. 342, p. 1445-1445, 2013.

DOLATABADIAN, A. et al. Effect of Salinity on Growth, Xylem Structure and Anatomical Characteristics of Soybean. **Not Sci Biol**, p. 41-45, 2011.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/>>. Acesso em: 22 Jan. 2014.

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, n. 1, p. 93-99, 2005.

FRAGA, T. I. et al. Atributos de solução de arroz e solo irrigado como afetados pelos níveis de salinidade da camada de água. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 34, n. 4, p. 1049-1057, 2010.

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

GRATTAN, Stephen R. **Irrigation water salinity and crop production**. University of California, Davis, 2008. Disponível em: <<http://anrcatalog.ucdavis.edu/>>. Acesso em: 13 jan. 2014.

KANG, Y.; KHANB, S.; MA, X. Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security. **Progress in Natural Science**, v. 19 12, p. 1665–1674, 2009.

KOSOVÁ, K.; PRÁŠIL I. T.; VÍTÁMVÁS, P. Protein Contribution to Plant Salinity Response and Tolerance Acquisition. **Int. J. Mol. Sci.**, p. 6757-6789, 2013.

MACHADO, R. A. et al. Efeito do estresse hídrico sobre a eficiência do halosulfuron no controle de tiririca. **Planta Daninha**, v. 18, p. 265-275, 2000.

MARTINI, L. F.; NOLDIN, J. A.; AVILA, L. A.; MARQUES, M.; LANGES, R.; ROCKEMBACH, F. Seletividade de herbicidas na cultura do arroz irrigado submetido ao estresse por baixas temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28., 2012, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, MS: SBCPD, 2012. p. 253-257.

MATZENBACHER, F.O. et al. Environmental and physiological factors that affect the efficacy of herbicides that inhibit the enzyme protoporphyrinogen oxidase: a literature review. **Planta daninha**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 457-463, 2014.

NETONDO, G. W.; ONYANGO, J. C.; BECK, E. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress **Crop Sci.** v.44, p. 806–811, 2004.

OLIVEIRA, Ruben Silvério Jr.; CONSTANTIN, Jamil; INOUE, Miriam Hiroko. Mecanismo de ação de herbicidas. In: _____. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011. 348p.

PRISCO, J. T. & GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura**. Fortaleza, INCT Sal. p. 472, 2010.

RENAULT, H.; BASSARD, J. E.; HAMBERGER, B. REICHHART, D. W. Cytochrome P450-mediated metabolic engineering: current progress and future challenges. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 19, p. 27–34, 2014.

ROMAN, Erivelton Scherer; BECKIE, Hugh; VARGAS, Leandro; HALL, Linda; RIZZARDI, Mauro Antonio; WOLF, Tomas M. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Berthier, 2007. 158p.

SACALA, E. et al. Glufosinate phytotoxicity to maize under salt stress conditions. **Polish J. of Environ. Stud**, vol. 17, p. 993-996, 2008.

SILVA, E. N.; SILVEIRA, J. A. G.; RODRIGUES, C. R. F.; VIEGAS R. A. Physiological adjustment to salt stress in *Jatropha curcas* is associated with accumulation of salt ions, transport and selectivity of K⁺, osmotic adjustment and K⁺/Na⁺ homeostasis, **Plant Biology**, 2015.

SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, p. 123–131, 2015.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. Respostas e Adaptações ao Estresse Abiótico. In: _____. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artimed, 2013. p.763 - 780.

THITISAKSAKUL, M.; TANANUWONG, K.; SHOEMAKER, C. F.; CHUN, A.; TANADUL, O.; LABAVITCH, J. M.; BECKLES, D. M. Effects of Timing and Severity of Salinity Stress on Rice (*Oryza sativa* L.) Yield, Grain Composition, and Starch Functionality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2296 - 2304, 2015.

USDA, United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/topics/crops/rice/>>. Acesso em: 17 jan. 2015.

YASUOR, H. et al. Differential Oxidative Metabolism and 5-Ketoclorazon Accumulation Are Involved in *Echinochloa phyllopogon* Resistance to Clomazone. **Plant Physiology**, vol. 153, p. 319–326, 2010.

Capítulo 1

Estresse oxidativo em arroz irrigado submetido a diferentes herbicidas, associados a salinidade na água de irrigação

1 INTRODUÇÃO

O arroz é alimento básico para mais da metade da população mundial, sendo a Ásia responsável pela maior produção e consumo (FAO, 2013). Este cereal alimenta cerca de 50% da população mundial, no entanto, a produção mundial de arroz tem de aumentar em pelo menos 70% até 2050, a fim de atender a demanda da população (WANG, 2013). A área cultivada com o cereal no Estado do Rio Grande do Sul oscila em torno de um milhão de hectares, sendo considerado o maior produtor brasileiro com um montante de 8,4 milhões de toneladas e uma produtividade média de 7,4 toneladas por hectare. O consumo médio mundial de arroz é de 60 kg/pessoa/ano, sendo que nos países asiáticos, onde se produz 90% deste cereal, apresentam as médias mais elevadas, situadas entre 100 e 150 kg/pessoa/ano. Na América Latina, são consumidos em média 30 kg/pessoa/ano, destacando-se o Brasil como grande consumidor, com um valor de 45 kg/pessoa/ano (CONAB, 2013).

O arroz irrigado pode sofrer reduções de produtividade de um terço no rendimento de grãos quando o arroz é cultivado sob condições de salinidade em uma condutividade elétrica (CE) de 2 dS m⁻¹, reduzindo a metade em níveis de 4 dS m⁻¹, sendo estes níveis de salinidade, considerados baixo e moderado estresse salino, respectivamente. Alguns estudos mostram que menos de 5 dS m⁻¹ é letal para o arroz (THITISAKSAKUL, 2015).

A fixação de CO₂ é limitada em condições de estresse salino, levando a uma diminuição na assimilação do carbono pelo ciclo de Calvin e redução da concentração de NADP⁺ oxidado para servir como um aceptor de elétrons na fotossíntese. Quando ocorre uma sobre-redução da ferredoxina durante a transferência de elétrons, estes podem ser transferidos do fotossistema I (PSI) para o oxigênio formando radicais superóxido (O₂⁻), o que desencadeia a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) mais agressivas. Qualquer desequilíbrio na homeostase celular redox pode ser chamado como o estresse oxidativo, resultando na produção de EROs, devido à redução de oxigênio. Dessa forma, o estresse

salino aumenta a taxa de produção de radicais livres, como radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila ($^{\cdot}OH$) e oxigênio singlete (1O_2). Sabe-se que estes radicais são bastante citotóxicos e que também são gerados durante os processos metabólicos nas mitocôndrias e peroxissomos, podendo afetar o metabolismo normal através de dano oxidativo de lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (AMIRJANI, 2010).

A peroxidação de lipídeos, induzida pelos radicais livres, é considerado como o processo mais prejudicial de deterioração das membranas, podendo ocorrer em todos os organismos vivos (AMIRJANI, 2010). O dano às membranas é tomado como parâmetro para determinar o nível de destruição de lipídeos sob vários estresses. Sabe-se que, durante a peroxidação lipídica, são formados produtos a partir de precursores poliinsaturados que incluem pequenos fragmentos de hidrocarbonetos, tais como cetonas, malonaldeído (MDA) e compostos relacionados a eles. A peroxidação lipídica ocorre quando níveis de EROs se elevam acima de um limiar, assim, não só afetando diretamente o funcionamento celular normal, mas também agrava o estresse oxidativo através da produção de radicais derivados de lipídeos (GILL, 2010).

As plantas daninhas, quando crescem juntamente com as culturas, interferem no seu desenvolvimento, reduzindo-lhes a produção – competem pela extração dos elementos vitais (água, luz, CO_2 e nutrientes). Estima-se que as perdas ocasionadas às culturas agrícolas pela interferência de plantas daninhas no Brasil sejam em torno de 20 a 30% (LORENZI, 2014). Sabe-se que o controle químico é o método mais utilizado para a supressão do desenvolvimento das plantas daninhas, entretanto, pouco se sabe acerca dos efeitos do controle químico sobre o arroz irrigado em condições de estresse por salinidade. Portanto, objetivou-se com o trabalho, inferir sobre os efeitos fisiológicos desencadeados pela ação de herbicidas seletivos a cultura do arroz aplicados em pós-emergência sob condições salinas da água de irrigação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em laboratório pertencente à Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no município do Capão do Leão/RS, durante o ano agrícola de 2013/14. As unidades experimentais foram compostas por baldes plásticos com capacidade para oito litros, os quais foram preenchidos com solo coletado de área de várzea.

A cultivar de arroz utilizada foi IRGA 424, na população de 15 plantas por vaso, o que totalizou uma densidade de 300 plantas por metro quadrado. Antes do início do estabelecimento da lâmina de irrigação foi fornecida água para manter o solo na capacidade de campo.

Durante o desenvolvimento das plântulas e condução do experimento, as mesmas receberam adubação, conforme as recomendações técnicas da cultura (SOSBAI, 2012). Foi também realizada análise prévia quanto aos atributos químicos do solo, laudo realizado no laboratório de análise de solos pertencente ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Pelotas (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de análise química do solo coletado de área de várzea.

pH água 1:1	Ca	Mg	Al	CTC efetiva	% MO	% Argila	Classe de Argila	K	P- Mehlich
	cmol _c dm ⁻³				m/v			mg dm ⁻³	
5,6	3,6	1,8	0,1	5,7	1,93	13	4	71	51,9

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (A x B), sendo o fator A composto pela salinidade na água de irrigação (A₁ não salina e A₂ salina) e o fator B formado por quatro herbicidas e suas respectivas dosagens recomendadas para a cultura do arroz irrigado, mais o tratamento controle (sem herbicidas), totalizando 10 tratamentos com quatro repetições cada.

Os tratamentos controle, constituíram-se de um, que recebeu água destilada na irrigação (A₁B₁), e outro, que recebeu água na condutividade elétrica de 7,5 dS m⁻¹ (A₂B₂), essa condutividade foi formada pela adição de cloreto de sódio (NaCl).

A escolha dos herbicidas se deu em função do padrão de fitotoxicidade observado, assim como pela frequência de seu uso comercial em lavouras de arroz irrigado. Todos os herbicidas utilizados foram testados na presença (A₂) ou ausência (A₁) de salinidade na água de irrigação (Tabela 2).

Tabela 2. Relação dos herbicidas utilizados conforme seus respectivos nomes comerciais, técnicos, mecanismo de ação e dose.

Nome comercial	Nome técnico	Mecanismo de ação	Dose (g.i.a. ha ⁻¹)
Aura® 200	profoxidim	Inibidor de ACCase	170
Clincher®	cialofope butílico	Inibidor de ACCase	315
Nominee 400 SC®	bispiribaque sódico	Inibidor de ALS	50
Gamit 360 SC®	clomazona	Inibidor da biossíntese de carotenoides	600

Os herbicidas foram aplicados em pós-emergência (antes do estabelecimento da lâmina de água) no estágio vegetativo V3-V4 segundo COUNCE et al. (2000). Para a aplicação dos herbicidas, foi utilizado um pulverizador costal de precisão, pressurizado a CO₂, equipado com barra composta de quatro pontas de pulverização jato plano do tipo leque, série 110-02, espaçadas em 50 cm, calibrado para aplicar um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

Um dia após a aplicação dos herbicidas foi efetuada uma adubação nitrogenada em cobertura seguido da irrigação, adicionando uma lâmina de água de 2,5 cm. Essa lâmina de água foi mantida na condição salina em uma condutividade de 7,5 dS m⁻¹ para o fator A₂ (salinidade) essa por sua vez, aferida por meio de um condutímetro Schoot, LF 613T, e nos vasos correspondentes ao fator A₁ (não salino), foi adicionada água destilada. A cada dia foi aferida a condutividade elétrica da lâmina de irrigação dos baldes, para reposição da água na condutividade suficiente para formar a concentração inicial mantendo a altura da lâmina.

2.2 Fitotoxicidade

Os sintomas de fitotoxicidade das plantas, foram avaliados visualmente atribuindo-se notas que variam de 0 (sem sintomas) a 100% (plantas mortas) aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (SBCPD, 1995).

2.3 Conteúdo relativo de água

Foi coletado material aos sete DAA para avaliação do conteúdo relativo de água (CRA%), conforme Smart & Bingham (1974), adaptado para folhas de arroz, na qual foram cortadas 20 lâminas com tamanho de 2 cm da superfície foliar de formato retangular, depois pesados em balança de precisão para verificar a massa fresca (MF). Logo em seguida, as lâminas foram imersas em água destilada por um período de 24 horas, para pesagem da massa túrgida (MT), posteriormente, esse material foi levado a estufa a 80°C por um período de 24 horas para pesagem da massa seca (MS). De posse destes dados pôde-se calcular o CRA (%) através da equação: $CRA \% = (MF - MS) / (MT - MS)$.

2.4 Atividade enzimática

A atividade antioxidante foi avaliada aos 7 dias após a aplicação dos herbicidas. O tempo de coleta para as análises bioquímicas foi baseado em trabalhos de absorção e metabolismo dos herbicidas estudados (MARTINI et. al., 2014, SANTAELLA et. al., 2006). Foram coletadas 5 plantas por vaso, em cada tratamento, para a análise de enzimas antioxidantes Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato peroxidase (APX). Duzentos miligramas de tecido foliar foram macerados com 20% de PVPP (Polivinilpolipirrolidona) e homogeneizados em 1,5 mL do seguinte tampão de extração: Fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 10 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 13.000 rpm por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado para posterior análises enzimáticas.

A SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (GIANNOPOLIS e RIES, 1977), em um meio de reação composto por fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8, metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. Os tubos com o meio de reação e a amostra foram iluminados por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foi iluminado. O branco permaneceu no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da enzima feito pela equação: $\% \text{ DE INIBIÇÃO} = (A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à

quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

A APX foi determinada segundo Nakano e Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O meio de reação composto de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5 mM e H₂O₂ 0,1 mM, incubado a 28°C. O decréscimo na absorvância foi monitorado por um período de dois minutos a partir do início da reação.

A CAT foi determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998). Sua atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm durante dois minutos em um meio de reação incubado a 28°C contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,0 e H₂O₂ 12,5 mM.

2.5 Peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

O conteúdo de Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e Peroxidação lipídica foram determinados aos sete DAA em aproximadamente 500mg de matéria fresca obtido de folhas de arroz, cultivar IRGA 424. Os tecidos foram macerados em tampão de extração contendo ácido tricloroacético (TCA) a 0,1%. O homogenato foi centrifugado a 12.000 g, durante 20 minutos e o sobrenadante obtido foi transferido para *eppendorf* de 2mL.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Cakmak & Horst (1991). Duzentos e cinquenta microlitros do sobrenadante foram adicionados a 1 mL do meio de reação composto por 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 10 % (p/v) de TCA sendo posteriormente incubados a 90°C, por 20 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo por 10 minutos, logo após a retirada do meio de incubação. As amostras foram em seguida lidas em espectrofotômetro, a 535nm e 600nm. O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o malonaldeído (MDA), produto secundário dos processos de peroxidação. A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela equação: $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / (\xi \cdot b)$, onde ξ : coeficiente de extinção = $1,56 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^{-1}$, e b: comprimento ótico=1. A peroxidação foi expressa em $\mu\text{mol de MDA g}^{-1} \text{ MF}$.

A quantificação do peróxido de hidrogênio foi determinada de acordo com Velikova et al. (2000). Em tubos de ensaio contendo 0,7 mL de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de KI 1 M, foram adicionados 0,3 mL do sobrenadante seguido de incubação por 10 minutos a 30°C. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 390nm e a concentração de H₂O₂ expressa em $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF}$.

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância para testar as fontes de variação e suas possíveis interações. As médias foram comparadas entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando para tal, o software estatístico WinStat (MACHADO & CONCEIÇÃO, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável fitotoxicidade, em todos os períodos avaliados houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando avaliados os tratamentos herbicida (fator B) isoladamente quanto à presença ou ausência da salinidade na água de irrigação (fator A) (Tabela 3). Analisando o comportamento dos diferentes herbicidas (fator B) na ausência da salinidade (fator A₁), embora todos tenham resultado em sintomas de fitotoxicidade quando comparados ao controle (sem salinidade e sem herbicida), aos sete dias após a aplicação (DAA), o cialofope-butílico e clomazona apresentaram valores significativamente superiores aos demais, da mesma forma, foi o comportamento observado aos 28 DAA. Aos 14 e 21 DAA, os maiores sintomas de fitotoxicidade foram observados para o herbicida clomazona.

Quanto ao fator salinidade (A₂), todos os tratamentos herbicida apresentaram fitotoxicidade, inclusive havendo sintomas de toxidez pela salinidade no controle (ausência de herbicida) (Tabela 3). No entanto, apenas bispiribaque-sódico, aos sete e 14 DAA, diferiu em relação ao controle, com valores médios significativamente inferiores. Aos 21 DAA, os herbicidas profoxidim, clomazona e bispiribaque-sódico diferiram do controle, enquanto que aos 28 DAA, apenas clomazona diferiu significativamente.

Tabela 3. Valores médios de fitotoxicidade de herbicidas aplicados no arroz irrigado, cultivar IRGA 424, acrescidos ou não de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas.

Tratamento	7 DAA		14 DAA		21 DAA		28 DAA	
	0 dS m ⁻¹	7,5 dS m ⁻¹	0 dS m ⁻¹	7,5 dS m ⁻¹	0 dS m ⁻¹	7,5 dS m ⁻¹	0 dS m ⁻¹	7,5 dS m ⁻¹
Controle	0 Cb	45 ABa	0 Db	50 ABa	0 Db	90 Aa	0 Bb	100 Aa
cialofope-butílico	47,5 Ab	57,5 Aa	40 Bb	62,5 Aa	40 Bb	87,5 Aa	50 Ab	100 Aa
profoxidim	17,5 Bb	55 Aa	17,5 Cb	52,5 Aa	17,5 Cb	65 Ba	17,5 Bb	95 Aa
clomazona	52,5 Aa	37,5 BCb	55 Aa	37,5 BCb	67,5 Aa	30 Cb	67,5 Aa	17,5 Bb
bispiribaque-sódico	7,5 BCb	30 Ca	12,5 CDb	32,5 Ca	12,5 CDb	40 Ca	10 Bb	82,5 Aa

*Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os tratamentos dentro de cada coluna, e letras minúsculas, comparam dentro de cada linha.

Analisando o efeito dos herbicidas associado à salinidade da água de irrigação, o cialofope-butílico apresentou os maiores valores médios de fitotoxicidade, sendo 57,5; 62,5; 87,5 e 100%, aos sete, 14, 21 e 28 dias, respectivamente. No presente trabalho, ocorreu uma maior porcentagem de fitotoxicidade, quando este esteve associado ao fator salinidade, em comparação aos demais tratamentos herbicidas. Isto pode ser devido à menor taxa de metabolização nesta condição. Quanto ao tratamento não salino, os maiores valores de fitotoxicidade foram observados para o herbicida clomazona, em média 52,5 e 55% aos sete e 14 DAA e 67,5% aos 21 e 28 DAA, respectivamente. Negrisoli, (2010) verificou para o mesmo herbicida na mesma dosagem, uma maior porcentagem de fitotoxicidade nas plantas, 77% aos sete e 87,9% aos 26 DAA.

Entretanto, sob estresse salino, o tratamento com clomazona apresentou uma visível recuperação dos sintomas de fitotoxicidade, aproximadamente 59% comparando-se dos sete aos 28 DAA, levando a inferência de que há no processo de metabolização deste herbicida, algum mecanismo que confere a planta uma considerável recuperação sobre estresse salino.

Analisando os menores valores médios de fitotoxicidade comparando os herbicidas vinculados a salinidade, o bispiribaque-sódico apresentou valores de 30 e 32,5% aos sete, 14 DAA, respectivamente e, aos 21 e 28 DAA, o clomazona apresentou os menores valores, 30 e 17,5%, respectivamente. Petter et al. (2013) constataram efeito fitotóxico em arroz de sequeiro, quando o bispiribaque-sódico foi

aplicado aos 15 dias após a emergência (DAE), sendo mais intenso aos 14 e 28 dias após aplicação (DAA).

Para o CRA%, dentre os fatores herbicida e salinidade não ocorreu diferença significativa ($p > 0,05$). Na comparação do fator herbicidas, associados ou não a salinidade, pode-se observar diferença somente para o clomazona (Figura 1). Na avaliação do fator não salino (A_1) entre os diferentes herbicidas, houve diferença significativa apenas para o herbicida profoxidim, em relação ao controle.

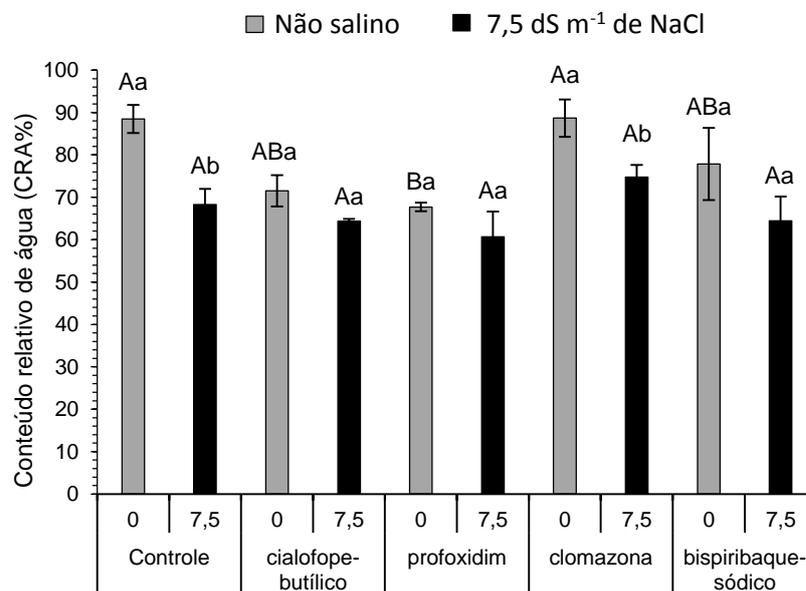


Figura 1. Valores médios de conteúdo relativo de água (CRA%) em plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos herbicidas, aos 7 DAA associados ou não a salinidade na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

A presença da salinidade na água de irrigação a uma condutividade elétrica de 7,5 dS m⁻¹, promoveu redução nos valores médios, ou seja, o distúrbio osmótico gerado pela concentração de sais nas raízes levou a uma menor absorção de água e conseqüentemente, menor disponibilidade desta no tecido foliar. Amirjani (2010), testando concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200 mM de sal em arroz, observou redução crescente no CRA conforme o aumento da salinidade, sendo que para o controle, o valor foi de 71%, e 58% para a maior concentração de sal. Sob estresse

salino as plantas respondem por meio de ajustamento osmótico, no entanto neste trabalho, esse ajustamento não foi suficiente para evitar estresse hídrico em plantas tratadas, e, portanto, houve diminuição no teor de água nessas condições.

Os menores valores médios do CRA se deram no tratamento cialofop-butílico acrescido de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl, com uma redução de 27,6% em relação ao controle, seguido do tratamento de profoxidim mais sal, com 27,1% a menos que o controle (Figura 1). Estes resultados estão de acordo com Qin et al. (2010), onde, trabalhando com a espécie *Shepherdia argentea*, relataram redução significativa da CRA em folhas de plantas tratadas com 400 e 600 mM de NaCl, indicando que a salinidade também resultou em desidratação celular.

O tratamento que recebeu apenas 7,5 dS m⁻¹ teve CRA maior que os tratamentos com herbicida associado ao sal, profoxidim e cialofop-butílico. Provavelmente devido à diminuição turgor celular na condição de estresse salino, a destoxificação dos herbicidas ficou prejudicada, o que aumentou o dano e conseqüentemente a senescência dos tecidos foliares, o que diminuiu o CRA.

Além dos sintomas de fitotoxicidade e mudanças no CRA das plantas de arroz em resposta aos efeitos dos herbicidas associado à salinidade da água de irrigação, houve também, alteração na atividade das enzimas antioxidantes. Embora para a enzima CAT, analisando sua atividade para os diferentes herbicidas, comparando o fator salinidade, não se observa diferença significativa ($p > 0,05$), ao comparar as respostas de cada herbicida dentro do fator salinidade (presença e ausência), com exceção ao bispiribaque-sódico, todos os demais tratamentos apresentaram diferença significativa (Figura 2).

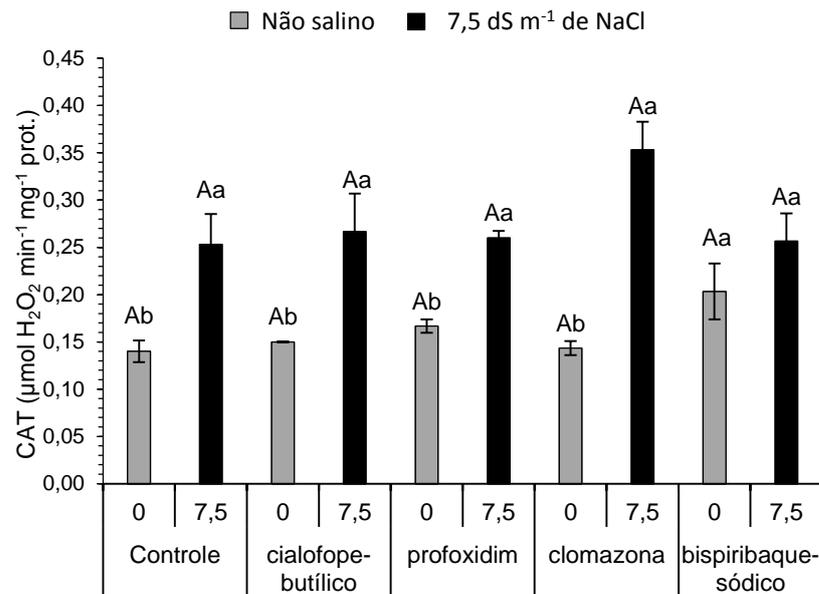


Figura 2. Atividade da enzima catalase (CAT) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

A CAT mostrou a mesma tendência encontrada nas avaliações de fitotoxicidade, ou seja, nos tratamentos que combinaram a salinidade na água de irrigação após a aplicação dos herbicidas tiveram valores significativamente superiores. Com exceção ao clomazona, o qual, na presença do sal, apresentou sintomas de fitotoxicidade inferiores quando comparado ao tratamento não salino (Tabela 2). Esta resposta pode ser justificada pelo maior valor numérico (150%) da atividade da CAT observado no tratamento salino (Figura 2). Os resultados obtidos com clomazona diferem dos obtidos por Darwish et al. (2015), os quais constataram uma redução na atividade da enzima CAT, trabalhando com tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) variedade *Xanthi* na ausência de salinidade, essa variação pode ser devido a espécie vegetal trabalhada. Lee et al. (2013), testando a resposta de duas cultivares de arroz a salinidade, constataram para a cultivar sensível ao sal IR-29, um aumento na atividade da CAT de até 184% em relação ao controle. Os herbicidas profoxidim e bispiribaque-sódico acrescidos ao sal apresentaram respectivamente um aumento de 87 e 83% em relação ao controle (Figura 2).

Para a atividade da enzima APX analisando os tratamentos herbicidas na ausência de salinidade não houve diferença significativa, entretanto, na comparação dos diferentes herbicidas dentro do fator salinidade ($7,5 \text{ dS m}^{-1}$), verificou-se diferença para o herbicida clomazona e bispiribaque-sódico em relação aos demais, com atividade significativamente inferior. Também houve diferença na comparação dos dois níveis de salinidade em cada herbicida, sendo os valores superiores na presença da salinidade (Figura 3).

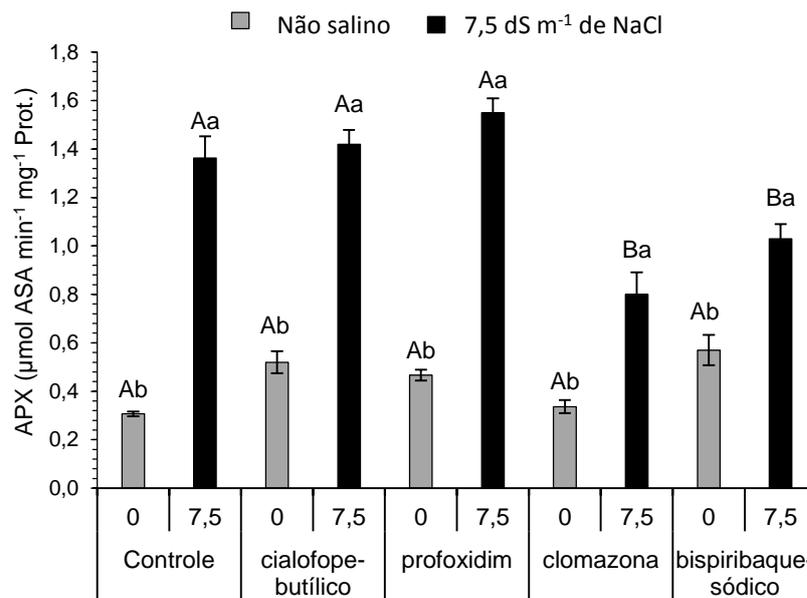


Figura 3. Atividade da enzima Ascorbato peroxidase (APX) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

A menor atividade da APX observada para os herbicidas clomazona e bispiribaque-sódico na presença de sal, está relacionada a atividade da enzima CAT nessas condições, podendo ser esta, a principal via de detoxificação do H_2O_2 , o que diminui assim a expressão da enzima APX para esses dois herbicidas. Segundo Zabalza et al. (2007), o estresse oxidativo não está relacionado com o modo de ação dos herbicidas inibidores de da acetolactato sintase (ALS), isso pode explicar uma menor atividade da enzima APX para bispiribaque sódico. Os dados do tratamento com clomazona estão de acordo com Darwish et al. (2014), os quais observaram um decréscimo na atividade da APX trabalhando com plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*). No entanto, o mesmo autor também observou uma menor atividade da

enzima CAT, fato não constatado neste trabalho. Respostas diferenciais podem ser em função da espécie vegetal trabalhada.

Da mesma forma, pôde-se observar que os tratamentos herbicidas na presença da salinidade na água de irrigação, tiveram maiores valores de atividade enzimática (Figura 3). Os herbicidas cialofope-butílico e profoxidim tiveram atividade 4 e 14%, superior ao tratamento controle com sal respectivamente (Figura 3). Lee et al. (2013) constataram que para o tratamento com 100 mM de sal, na cultivar de arroz sensível IR-29, ocorreu aumento significativo da atividade total da APX para 238% e 122%, respectivamente, em comparação com plantas controle. O tratamentos com clomazona e bispiribaque-sódico acrescidos de 7,5 dS m⁻¹ de sal quando comparado ao tratamento controle com 7,5 dS m⁻¹ de sal de forma isolada, mostraram um decréscimo de 41 e 24% respectivamente na atividade da APX, indicando atenuação do estresse oxidativo pela associação com os herbicidas (Figura 3).

Para a enzima SOD, ocorreu diferença significativa apenas para o fator presença e ausência da salinidade ($p= 0,000000001$), ou seja, todos herbicidas, de forma isolada, diferiram significativamente quando comparamos os fatores A₁ e A₂.

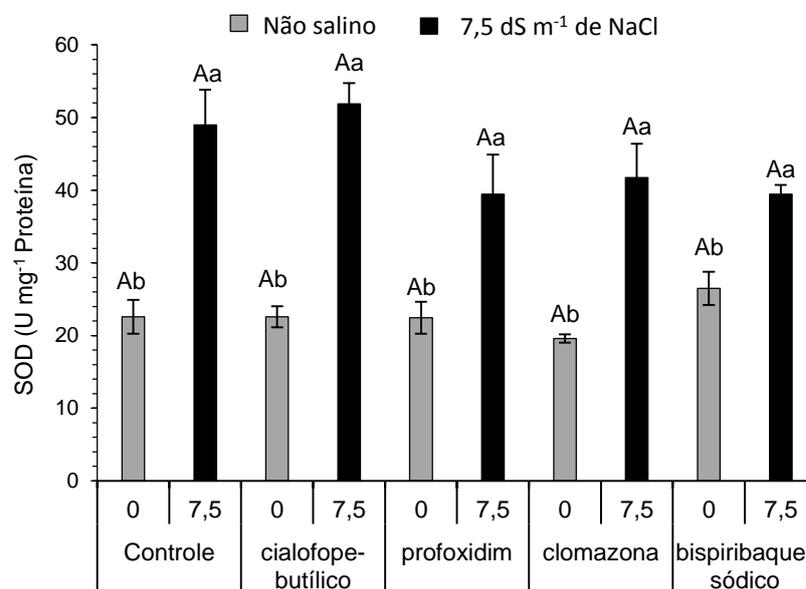


Figura 4. Atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) em folhas de arroz aos 7 DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

O tratamento cialofope-butílico com 7,5 dS m⁻¹ de NaCl teve a maior atividade enzimática, com um aumento de 6% em relação ao tratamento com sal de maneira isolada. Os demais tratamentos que combinaram a salinidade com herbicidas apresentaram atividade abaixo do tratamento controle com 7,5 dS m⁻¹ (Figura 4).

O padrão de atividade observado para a enzima SOD foi muito semelhante ao da APX, o que pode ser explicado, pelo fato da APX estar envolvida no passo seguinte à conversão do radical superóxido pela SOD, que resulta na produção de H₂O₂. Além disso, o estresse salino desencadeia um aumento da atividade das respectivas isoenzimas SOD mitocondrial e APX cloroplastídica (HERNANDEZ et al., 1995). Resultados semelhantes foram encontrados por Turan (2012), onde a atividade da APX aumentou de forma semelhante ao aumento da SOD, ao testar duas cultivares de arroz (tolerante e sensível) a salinidade. A enzima APX tem uma maior afinidade para H₂O₂ (na faixa de µM) do que a CAT (faixa de mM) por isso, pode ter um papel crucial na limpeza de EROs, durante diferentes situações de estresses, como foi demonstrada com o aumento de sua expressão em plantas nessas condições (GILL, 2010).

A salinidade associada ao herbicida bispiribaque sódico apresentou os menores valores para a atividade da SOD (Figura 4). Wang & Zhou (2006), testando outro herbicida inibidor de ALS em trigo (*Triticum aestivum*) em concentrações de 5 a 150 µg kg⁻¹, observaram redução na atividade da enzima SOD, sendo este resultado similar ao observado no tratamento salino do presente estudo.

Para a peroxidação lipídica, parâmetro este, baseado na formação de MDA, observa-se diferença significativa para todos os herbicidas ao fixar o fator não salino (A₁), com exceção do herbicida bispiribaque-sódico em relação ao controle (Figura 5). O mesmo ocorreu quando se comparou os diferentes herbicidas dentro do fator salinidade (A₂), com exceção dos herbicidas clomazona e bispiribaque-sódico testados entre si. Da mesma forma, também houve diferença nos resultados de peroxidação lipídica para a variação dos níveis de salinidade para cada herbicida estudado (p<0,05).

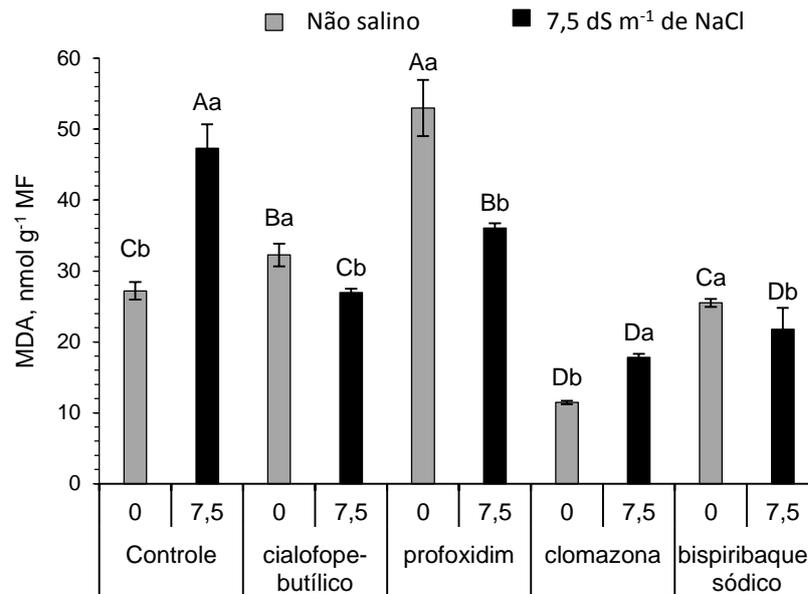


Figura 5. Conteúdo de MDA em folhas de arroz aos sete DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

Todos os herbicidas, quando associados à salinidade, apresentaram baixos valores de peroxidação, quando comparados ao tratamento que recebeu apenas sal, evidenciando uma eficiente eliminação das EROs pelo sistema antioxidante enzimático quando o estresse foi associado. Os herbicidas cialofope-butílico, profoxidim, clomazone e bispiribaque-sódico vinculados a salinidade, apresentaram redução de 43; 23,8; 62,3 e 54% em relação ao tratamento com 7,5 dS m⁻¹ de NaCl, respectivamente. Este tratamento controle (7,5 dS m⁻¹ de NaCl), por sua vez, teve elevado nível de peroxidação lipídica (47,33 nmol g⁻¹ MF de MDA), representando aumento de 74% em relação ao controle sem sal, ficando abaixo apenas do tratamento com o herbicida profoxidim sem adição de sal.

Tanto cialofope-butílico quanto profoxidim, são herbicidas que atuam inibindo a enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCase), e conseqüentemente, a síntese de lipídios, no entanto estes apresentaram elevados valores de MDA, sugerindo maior peroxidação lipídica. Luo (2004), concluiu que a peroxidação lipídica aumentou em plântulas de carrapicho (*Acanthospermum hispidum*) pela aplicação de fluazifop-p-butil, um herbicida que também atua inibindo a enzima ACCase, sugerindo que ação desse herbicida nesta espécie pode se dar também nas membranas, pela produção

de EROs, as quais estão envolvidas na peroxidação. Além disso, o bloqueio da síntese de lipídeos pelos herbicidas inibidores de ACCase ocorre majoritariamente nas folhas meristemáticas, ou seja, onde é necessário constante produção de lipídeos para formação de membranas para constituição de tecidos novos. Para Turan (2012), o nível de MDA utilizando 200 mM de NaCl foi aumentado em resposta ao estresse salino na cultivar sensível ao sal PB1 e não alterou na cultivar resistente ao sal CSR10, sugerindo que este parâmetro pode sofrer variações conforme a sensibilidade da cultivar a salinidade.

O herbicida bispiribaque-sódico apresentou baixos valores de peroxidação lipídica, superando apenas o tratamento com clomazona. Wang & Zhou (2006), trabalhando com um herbicida também inibidor de ALS, observaram níveis inferiores de MDA nas folhas e raízes expostas à alta concentração em relação ao controle, enquanto baixas concentrações desse herbicida apresentaram aumento nos níveis de MDA em folhas de acordo com o tempo de exposição. O tratamento com clomazone mostrou baixos valores de peroxidação, sendo estes, menores que o controle. Kruse et al. (2006) não encontraram diferença utilizando o mesmo herbicida na dose de 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ aplicado isoladamente em plantas de girassol (*Helianthus annuus*) em relação as plantas não tratadas.

Quanto aos teores de peróxido de hidrogênio, observou-se uma resposta diferenciada, dependendo do tratamento herbicida. Para o bispiribaque-sódico houve diferença significativa em relação ao controle para o fator A_1 , enquanto que para o fator A_2 , houve diferença para profoxidim e bispiribaque-sódico. Analisando os fatores A_1 e A_2 para cada herbicida, nota-se diferença significativa para todos os tratamentos (Figura 6).

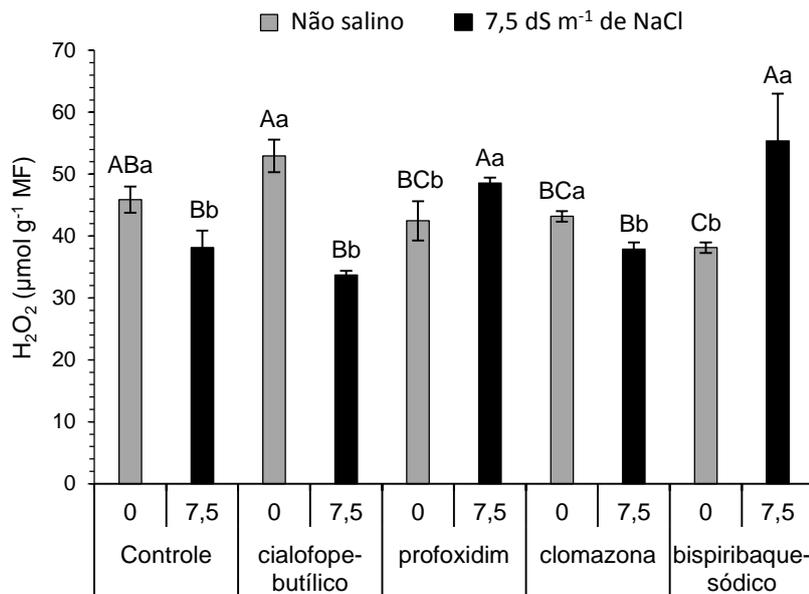


Figura 6. Conteúdo de H₂O₂ em folhas de arroz aos sete DAA na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida.

O tratamento que recebeu apenas a salinidade na água de irrigação mostrou baixos valores de H₂O₂, ficando este abaixo do controle. Há contrastantes dados na literatura no que concerne essa variável em condições de salinidade, o conteúdo de H₂O₂ foi aumentado (WANG et al., 2009; HERNÁNDEZ et al., 2010), permaneceu inalterado (ANÓNIMO E ASHRAF, 2009), e diminuiu (KIM et al., 2005) sob estresse salino. Os dados do presente estudo estão de acordo com Turan (2012), o qual relatou diminuição no teor de H₂O₂ nessas condições. Isso pode indicar que as maiores atividades para CAT e APX poderiam ser responsáveis por detoxificar o H₂O₂ produzido pela SOD. Embora o O₂^{•-} seja eliminado pelo aumento da atividade da SOD, esta pode não ser suficiente, pelo excesso deste radical gerado pelo estresse salino. Portanto, o aumento no MDA induzido pelo estresse salino pode ser devido ao O₂^{•-}, uma das EROs mais potentes que causam peroxidação lipídica em células.

4 CONCLUSÃO

A aplicação dos herbicidas clomazona e bispiribaque-sódico em condições salinas reduz os efeitos negativos nos parâmetros avaliados, pois clomazona apresenta recuperação dos sintomas de fitotoxicidade, ao passo que bispiribaque-sódico mantém baixos valores de fitotoxicidade até os 21 DAA, além de ambos apresentarem uma alta atividade da CAT, baixa APX e reduzida peroxidação lipídica.

Os herbicidas inibidores de ACCase avaliados afetam negativamente os parâmetros quando associados a salinidade, devido aos altos valores de fitotoxicidade. O herbicida profoxidim apresenta redução no CRA e elevados valores de MDA para o tratamento não salino, sugerindo que a ação deste herbicida também está também relacionada ao estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIRJANI, M. R.; Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. **EJBS**, 2010.

CAKMAK, I; HORST, W. J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxido dismutase, catalase, and peroxidases activities in root tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, v. 83, n.3, p. 463-468, 1991.

CONAB: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acomp. safra bras. grãos, v. 1 - Safra 2013/14, n. 2 - Segundo Levantamento, nov. 2013**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 11 fev. 2014.

COUNCE, P. A. et al. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.

DARWISH, M.; LAURI, F. L.; MAATAOUI, M. E.; URBAN, L.; SALLANON. H. Pretreatment with alternation of light/dark periods improves the tolerance of tobacco (*Nicotiana tabacum*) to clomazone herbicide. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 134 p. 49–56, 2014.

DARWISH, M.; VIDAL, V.; LAURI, F. L.; ALNASER, O.; JUNGLEE, S.; MAATAOUI, M. E.; SALLANON, H. Tolerance to clomazone herbicide is linked to the state of LHC, PQ-pool and ROS detoxification in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). **Journal of Plant Physiology**, v. 175 p. 122–130, 2015.

FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2012. Disponível em:< <http://www.fao.org/>>. Acesso em: 22 Jan. 2014.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

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

HERNANDEZ, J. A; OLMOS. E.; CORPAS, F.; SEVILLA, F.; DEL RIO, LA. Salt induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. **Plant Sci.**, v. 105, p. 151–167, 1995.

LEE, M. et al. Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 325-335, 2013.

LORENZI, Harri. Manual de identificação e controle de plantas daninhas plantio direto e convencional. 7. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2014. 384p.

LUO, X. Y.; YUKARI, S.; MATSUMOTO, H. Fluazifop-butyl causes membrane peroxidation in the herbicide-susceptible broad leaf weed bristly starbur

(*Acanthospermum hispidum*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, p. 93-102, 2004.

MACHADO, A. de A.; CONCEIÇÃO, A.R. **WinStat: sistema de análise estatística para Windows**. Versão 2.0. Pelotas: UFPel/NIA, 2003.

MARTINI, L.F. D.; BURGOS, N. R.; NOLDIN, J. A.; AVILA, L. A. D.; SALAS, R. A. Absorption, translocation and metabolism of bispyribac-sodium on rice seedlings under cold stress. **Pest Manag Sci**, 2014.

NAKANO, Y.; ASADA, K. hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v.22, n.5, p.867-880, 1981.

NEGRISOLI, E.; TRINDADE, M. L. B.; VELINI, E. D.; CORRÊA, M. R.; PERIM, L.; ROSSI, C. V. S. Seletividade da cultura do arroz, a tratamentos com clomazone aplicado isolado e combinado com um polímero e um protetor de semente. In: **XXVII CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 2010**, Ribeirão Preto – SP.

PETTER, F. A.; ZUFFO, A. M.; PACHECO, L. P. Effect of Acetolactate Synthase Inhibitor Herbicides on Upland Rice (*Oryza Sativa* Linn.) Cultivars. **Journal of Agricultural Science**, vol. 5, n. 10, 2013.

SANTAELLA, J. P. R.; PRADO, R. D.; WAGNER, J.; FISCHER, A.J.; GERHARDS, R. Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. from California, **Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 95-100, 2006.

SMART, R. E.; BINGHAM, G. E.; Rapid Estimates of Relative Water Content. **Plant Physiol.** vol. 53, p. 258-260, 1974.

QIN, J.; DONG, W. Y.; HE, K. N.; YU, Y.; TAN, G. D.; HAN, L.; DONG, M.; ZHANG, Y.Y.; ZHANG, D.; LI, A. Z.; WANG, Z. L. NaCl salinity-induced changes in water status, ion contents and photosynthetic properties of *Shepherdia argentea* (Pursh) Nutt. Seedlings. **Plant soil environ**, p. 325–332, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS - SBCPD. **Procedimentos para a instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42p.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI) Arroz Irrigado: **recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre, RS: SOSBAI, 179p. 2012.

THITISAKSAKUL, M.; TANANUWONG, K.; SHOEMAKER, C. F.; CHUN, A.; TANADUL, O.; LABAVITCH, J. M.; BECKLES, D. M. Effects of Timing and Severity of Salinity Stress on Rice (*Oryza sativa* L.) Yield, Grain Composition, and Starch Functionality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 2296 - 2304, 2015.

TURAN, S.; TRIPATHY, B. C. Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation. **Protoplasma**, v. 250 p. 209–222, 2013.

VELIKOVA, V; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. **Plant Science**, v.151, p.59-66, 2000.

WANG, Y.; ZHANG, L.; NAFISAH, A.; ZHU, L.; XU, J.; LI, Z. Selection efficiencies for improving drought/salt tolerances and yield using introgression breeding in rice (*Oryza sativa* L.). **The Crop Journal**, v. 1, p. 134–142, 2013.

WANG, W. B.; KIM, Y. H.; LEE, H. S.; KIM, K. Y.; DENG, X. P. KWAK, S. S.; Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. **Plant Physiol Biochem**, v. 47, p. 570–577, 2009.

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

ZABALZA, A.; GASTON, S.; SANDALIO, L. M.; DEL RÍO, L. A.; ROYUELA, M. Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. **Environmental and Experimental Botany**. v.59 p.150-159, 2007.

Capítulo 2

Parâmetros fisiológicos em arroz irrigado submetido ao tratamento com herbicidas associados a salinidade na água de irrigação

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das culturas mais importantes do mundo, e é o alimento principal de mais de três bilhões de pessoas. Com o rápido crescimento da população, assim como do consumo do arroz e a deterioração da qualidade do solo e da água em todo o mundo, há necessidade de compreender a resposta desta importante cultura as variações ambientais (AMIRJANI, 2010).

As mudanças climáticas se constituem em um dos limitantes para a produção agrícola mundial, nesse contexto a disponibilidade de água será um problema, e em especial, a região costeira produtora de arroz no Estado do Rio Grande do Sul poderá sofrer com o aumento dos níveis dos oceanos pelo maior aporte de água salina na Laguna dos Patos, pois é esperado aumento no nível do mar de 0,5 até 1m até 2100 (CHURCH et al., 2013). Como esse reservatório natural possui importância para o fornecimento de água para a irrigação no arroz, torna-se importante o estudo da salinidade para a cultura.

O estresse salino é o segundo estresse abiótico mais importante como limitante à produtividade do arroz, particularmente nas zonas costeiras. Estima-se que 20-50% das terras irrigadas de arroz sejam afetadas pela salinidade (WANG, 2013). A salinidade afeta o balanço hídrico e de íons na planta, inicialmente reduzindo a área foliar. O fechamento estomático ocorre devido ao estresse hídrico, com isso tem-se menor absorção de CO₂, levando a queda na redução do carbono pelo ciclo de Calvin e diminuição do NADP⁺ oxidado para servir como um acceptor de elétrons na fotossíntese, gerando espécies reativas de oxigênio (EROs).

A redução nos níveis de CO₂, têm efeitos diretos sobre o balanço de carbono/nitrogênio (CRONIN & LODGE, 2003). O carbono é necessário para fornecer o esqueleto para a assimilação do nitrogênio para a produção de aminoácidos (SWEETLOVE et al., 2010). Dessa forma, o ciclo dos ácidos tricarbóxicos liga vias metabólicas de carbono e nitrogênio e aquisição de ambos os nutrientes é interdependente. Além disso, o balanço de carbono/nitrogênio pode tornar-se alterado como resultado dos efeitos nocivos de EROs produzidas durante períodos de estresse (TAYLOR et al., 2004). Com menor taxa fotossintética,

ocorrerá menor alocação de esqueletos de carbono para síntese de aminoácidos, levando ao aumento de compostos do metabolismo secundário.

A estrutura molecular da clorofila (Chl) representa grande proporção do nitrogênio total da folha, de forma que a sua concentração fornece uma estimativa indireta do estado nutricional das plantas. Além disso, o conteúdo de Chl na folha está intimamente relacionado com a resposta da planta ao estresse e senescência (LOBOS, 2012).

Os flavonoides realizam uma ampla gama de funções nas plantas, tais como atividade antioxidante, proteção UV, defesa contra fitopatógenos, nodulação em leguminosas, fertilidade masculina, sinalização visual, controle do transporte de auxina e eliminação de EROs (PETRUSSA, 2013).

A indução de acúmulo de antocianinas em tecidos vegetativos é frequentemente considerada uma resposta das plantas a condições de estresses bióticos ou abióticos. A atenuação do excesso de luz é uma das funções aceitas como primárias do pigmento, porém elas podem também estar vinculadas a eliminação de EROS. Apesar das diferentes localizações subcelulares das antocianinas e EROS, células contendo antocianinas na folha demonstram maior capacidade para remover H_2O_2 do que as células que não possuem estes compostos (KOVINICH et al., 2014).

É amplamente conhecido, que um dos efeitos da salinidade está relacionado à deficiência hídrica nas plantas. A diminuição do potencial osmótico (Ψ_s) em resposta ao estresse hídrico é um mecanismo bem conhecido através do qual muitas plantas se ajustam às condições de seca. Em muitas plantas, a acumulação líquida de solutos, permite a manutenção de processos dependentes de turgor sob condições de estresse hídrico (PATAKAS, 2002).

Na fase inicial de desenvolvimento do arroz, uma das práticas mais utilizadas para a supressão de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado é o controle químico, este, realizado na fase inicial da cultura. Visto a carência de estudos relacionando o efeito de herbicidas recomendados para a cultura do arroz irrigado associado a salinidade da água, objetivou-se com o presente trabalho investigar, frente as condições citadas, parâmetros fisiológicos como índice de clorofila, antocianinas, flavonoides e índice de balanço do nitrogênio, assim como a alteração no potencial osmótico em plantas de arroz irrigado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e em laboratório pertencente ao Departamento de Botânica, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no município do Capão do Leão/RS, durante o ano agrícola de 2014/15. As unidades experimentais foram compostas por baldes plásticos com capacidade para oito litros, os quais foram preenchidos com solo coletado de área de várzea. Foi realizada análise prévia quanto aos atributos químicos do solo, laudo realizado no laboratório de análise de solos pertencente ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Pelotas (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de análise química do solo coletado de área de várzea.

pH água 1:1	Ca	Mg	Al	CTC efetiva	% MO	% Argila	Classe de Argila	K	P- Mehlich
	cmol _c dm ⁻³				m/v			mg dm ⁻³	
5,6	3,6	1,8	0,1	5,7	1,93	13	4	71	51,9

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (A x B), sendo o fator A composto pela salinidade na água de irrigação (A₁ salina ou A₂ não salina) e o fator B formado por quatro herbicidas e suas respectivas dosagens máximas recomendadas para a cultura do arroz irrigado. Cada tratamento constituiu-se de cinco repetições, a cultivar de arroz utilizada foi IRGA 424, na população de 15 plantas por vaso, totalizando a densidade de 300 plantas por metro quadrado.

A escolha dos herbicidas se deu em função do padrão de fitotoxicidade observado, assim como da frequência de seu uso comercial em lavouras de arroz irrigado. Todos os herbicidas utilizados foram testados na presença (A₂) ou ausência (A₁) de salinidade na água de irrigação (Tabela 2).

Tabela 2. Relação dos herbicidas utilizados conforme seus respectivos nomes comerciais, técnicos, mecanismo de ação e dose.

Nome comercial	Nome técnico	Mecanismo de ação	Dose (g.i.a. ha ⁻¹)
Aura [®] 200	profoxidim	Inibidor de ACCase	170
Clincher [®]	cialofope butílico	Inibidor de ACCase	315
Nominee 400 SC [®]	bispiribaque sódico	Inibidor de ALS	50
Gamit 360 SC [®]	clomazona	Inibidor da biossíntese de carotenoides	600

Os herbicidas foram aplicados em pós-emergência (antes do estabelecimento da lâmina de água) no estágio vegetativo V3-V4 segundo COUNCE et al. (2000), seguido de uma adubação nitrogenada em cobertura. Para a aplicação dos herbicidas, foi utilizado um pulverizador costal de precisão, pressurizado por CO₂, equipado com barra composta de quatro pontas de pulverização jato plano do tipo leque, série 110-02, espaçadas em 50 cm, calibrado para aplicar um volume de calda de 150 L ha⁻¹.

Antes do início do estabelecimento da lâmina de irrigação foi fornecida água para manter o substrato na capacidade de campo. Durante o desenvolvimento das plântulas e condução do experimento, as mesmas receberam adubação, conforme as recomendações técnicas da cultura (SOSBAI, 2012).

Um dia após a aplicação dos herbicidas foi efetuada uma aplicação de nitrogênio em cobertura, seguido da irrigação, adicionando uma lâmina de água de 2,5 cm. Essa lâmina de água foi mantida na condição salina em uma condutividade de 7,5 dS m⁻¹, para o fator A₂ (salinidade) essa por sua vez, aferida por meio de um condutímetro, e nos vasos correspondentes ao fator A₁ (não salino), foi adicionada água destilada. A cada dia foi aferida a condutividade elétrica da lâmina de irrigação dos baldes, para reposição da água na condutividade suficiente para formar a concentração inicial.

2.2 Índice de clorofila, flavonoides, antocianinas e índice de balanço do nitrogênio (NBI)

Foram avaliados aos sete, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), com auxílio de um clorofilômetro (modelo Dualex FORCE-A, Orsay, France), estimada a partir da média das leituras realizadas em duas plantas por vaso (10 por

tratamento) da quarta folha completamente expandida. O índice de clorofila é avaliado a partir da transmissão da luz. O clorofilômetro emite um comprimento de onda próximo do vermelho quantifica a clorofila e um segundo, próximo ao infravermelho, considera os efeitos da estrutura da folha. O índice de flavonoides na folha, estimado pelo índice de FLV, é deduzido a partir propriedades de absorção UV de flavonoides. Esta abordagem baseia-se na técnica de fluorescência utilizando dois comprimentos de onda de excitação: um no comprimento de onda de UV (375 nm) que é absorvida por flavonoides, localizadas principalmente na epiderme, e um comprimento de onda de referência que passam através da epiderme, sem ser absorvido antes de atingir a clorofila no mesófilo. O NBI é um parâmetro que considera a relação entre o índice de clorofila e de flavonoides, dando uma estimativa do estado nutricional do nitrogênio na planta (ABDALLAH, 2012).

2.3 Potencial osmótico

Para a obtenção do potencial osmótico foi utilizado osmômetro de pressão de vapor modelo 5600 VAPRO (Wescor, Logan, Utah, EUA). Folhas de arroz foram coletadas aos 7 e 14 DAA e armazenadas em Ultrafreezer para posterior determinação. As folhas foram maceradas em tubos *ependorf* utilizando-se para tal, um bastão de vidro, posteriormente centrifugadas a 12000 g a temperatura de 4°C. Os valores obtidos em mmol kg⁻¹ foram convertidos em potencial osmótico (Ψ_s), por meio da equação de Van't Hoff em que $\Psi_s = -C \times 2,58 \times 10^{-3}$, na qual C é o valor de osmolalidade obtido em 10 μ L de suco celular em cada medida. Foram utilizadas aproximadamente 700 mg de tecido foliar, para cada amostra, com cinco repetições por tratamento.

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância para testar as fontes de variação e suas possíveis interações. As médias foram comparadas entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro, utilizando para tal, o software estatístico WinStat (MACHADO & CONCEIÇÃO, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o índice de clorofila, aos sete DAA dos herbicidas, houve diferença significativa para o fator não salino (A_1), ao comparar os herbicidas cialofope-butílico e clomazona, o mesmo ocorreu testando estes mesmos herbicidas na presença da salinidade (A_2). Ao variar o fator salinidade para cada herbicida, observa-se que houve diferença significativa apenas para o herbicida bispiribaque-sódico (Figura 1A).

Aos 14 DAA também ocorreu diferença significativa para os herbicidas cialofope-butílico e clomazona nas mesmas condições. No entanto, ao comparar os herbicidas variando-se o fator salinidade, nota-se que a partir dos 14 DAA ocorreu diferença significativa para os herbicidas cialofope-butílico e clomazone (Figura 1 B).

Aos 21 DAA o mesmo resultado foi observado em relação as avaliações anteriores, ou seja, para o fator não salino, ocorreu diferença significativas para os herbicidas cialofope-butílico e clomazona. No entanto, para o fator salinidade de maneira isolada, também ocorreu diferença significativa para o herbicida bisiribaque-sódico. Variando-se o fator salinidade para cada herbicida, ocorreu diferença significativa para todos os tratamentos, com exceção do tratamento bispiribaque-sódico (Figura 1C).

Aos 28 DAA, ocorreu diferença significativa apenas para o herbicida clomazona na condição não salina, quando comparados com o controle. Já na condição salina, ocorreu diferença para os herbicidas profoxidim, clomazona e bispiribaque-sódico, comparando-os ao controle associado à condutividade de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl. Na variação do fator salinidade para cada herbicida, nota-se diferença significativa para todos os tratamentos, com exceção do bispiribaque-sódico (Figura 1D).

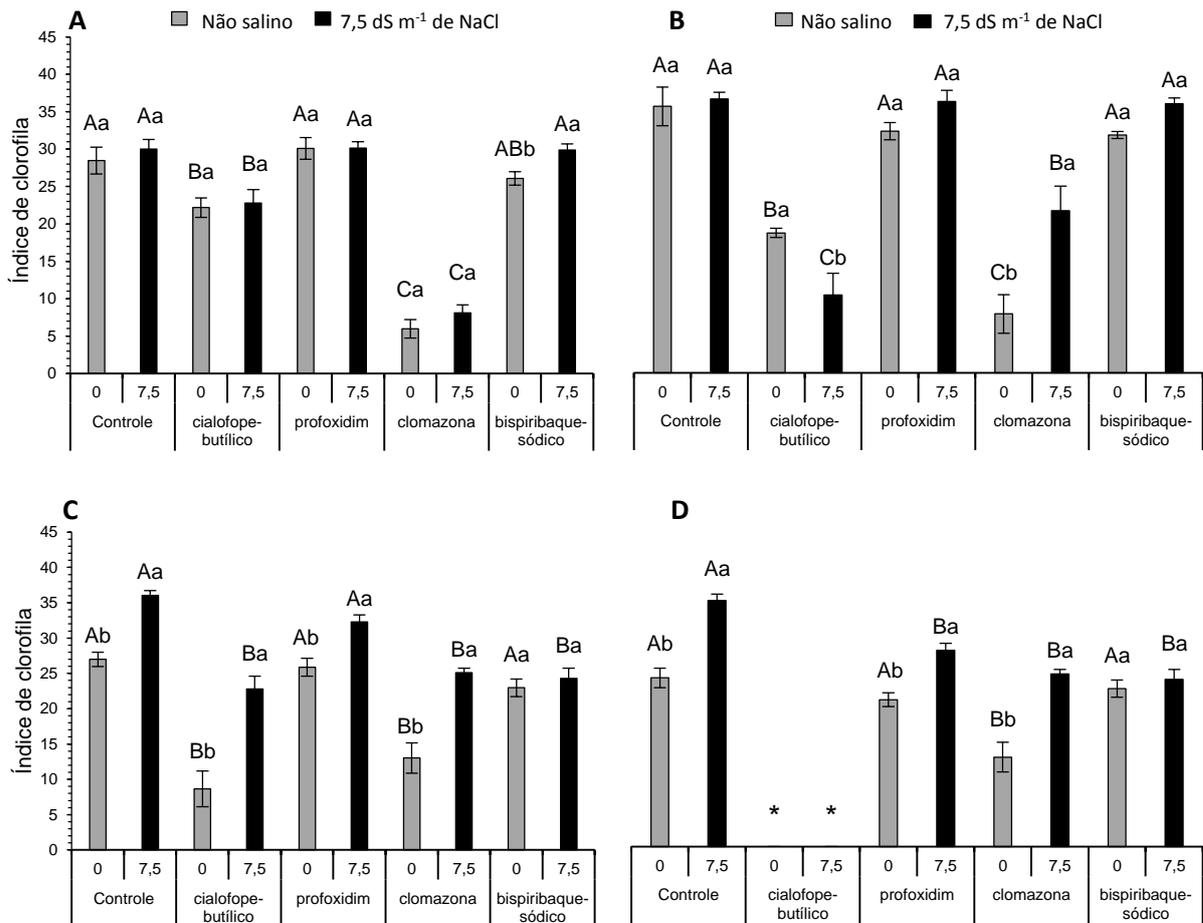


Figura 1. Índice de clorofila em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida. * Não avaliado devido a elevada supressão de biomassa vegetal.

De acordo com os dados do índice de clorofila aos sete, 14, 21 e 28 DAA dos herbicidas, pode-se observar que a diferença entre os valores se acentuaram nos tratamentos salinos a medida que se prolongou o tempo de estresse, sendo que a maior diferença ocorreu a partir dos 21 DAA (Figura 1C). A degradação da clorofila é induzida por muitos estresses, levando a mudanças na atividade de certas enzimas, no transporte de elétrons fotossintéticos, metabolismo do carbono e fotossíntese. No entanto, sob estresse salino, as plantas apresentam considerável redução de crescimento e na área foliar. O índice de clorofila na folha de arroz não estressado pode ser mais baixo do que em plantas moderadamente estressadas com sal. Este efeito pode ser devido a redução da área foliar, aumentando a quantidade de clorofila por unidade de área. Esta é uma das estratégias de adaptação das plantas sob estresse salino para reduzir a transpiração e, assim, a

absorção de sódio em folhas (AMIRJANI, 2010). Wanichananan (2003) obteve resultados que indicaram aumento gradual no índice de clorofila na linhagem de arroz do Leuang Tang Mo, durante estresse salino.

O herbicida clomazona mostrou drástica redução no índice de clorofila, sendo de 71,6 e 79% em relação ao controle, para os tratamentos com e sem a adição de sal, respectivamente (Figura 1A, Figura 2). Esse resultado já era esperado, em virtude deste herbicida atuar bloqueando a síntese de carotenoides, pela inibição da enzima deoxi-xilulose 5-fosfato sintase, enzima envolvida na via dos isoprenóides. Não havendo a produção de carotenoides, ocorre a degradação de clorofilas pela fotooxidação, sendo formados também, oxigênio singlete e clorofila triplet. Kaňa et al. (2004), observaram redução nos níveis de clorofilas (Chl *a* e Chl *b*) e de carotenoides em folhas de cevada de acordo com o aumento da concentração de clomazona, sendo que a redução da clorofila foi mais acentuada do que a diminuição dos carotenoides. Argenta & Lopes (1992), testando o mesmo herbicida em plantas de arroz aos 33 dias após a emergência, na dose de 1,6 kg i.a ha⁻¹, constataram redução de 50% de acúmulo de clorofila.

Ambos os tratamentos (salino e não salino) com o herbicida clomazona, apresentaram crescente recuperação do índice de clorofila, conforme o aumento do tempo de exposição ao estresse. No entanto, aquele que recebeu salinidade na água de irrigação mostrou recuperação mais intensa do índice de clorofila, alcançando 22,17 e 59,3% do valor encontrado no controle aos 14 e 21 DAA. Todavia aos 28 DAA, ambos os valores para estes tratamentos mantiveram-se estáveis (Figura 1D).



Figura 2. Plantas de arroz, cultivar IRGA 424, tratadas com o herbicida clomazona, sem salinidade na água de irrigação (esquerda) e com salinidade (direita), evidenciando a recuperação mais rápida para o tratamento com salinidade aos 21 DAA.

Para o herbicida bispiribaque-sódico ocorreu um incremento no índice de clorofila aos 14 DAA (30,4 e 27,5%) para o tratamento sem e com salinidade na água de irrigação, respectivamente, comparando-se aos sete DAA. Aos 21 DAA ocorreu redução para ambos, e aos 28 DAA também houve estabilização do índice de clorofila. Begum et al. (2008), testando efeito de herbicidas para o controle de *Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl. em arroz, observaram elevado índice de clorofila para o herbicida bispiribaque-sódico, obtido pelo clorofilômetro (SPAD-502, Minolta Camera Co, Osaka, Japão).

O herbicida profoxidim mostrou comportamento semelhante ao bispiribaque-sódico, ou seja, com incremento de 14,6 e 28,6% aos 14 DAA para os tratamentos sem e com a adição de sal, respectivamente. Da mesma forma, aos 21 DAA houve queda no índice de clorofila.

Para o índice de flavonoides, comparando-se os herbicidas dentro do fator não salino (A_1), observa-se que houve diferença significativa para o herbicida clomazona aos sete DAA. Ao comparar o fator salinidade (A_2) para cada herbicida, podemos observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas para o herbicida clomazona (Figura 3A). Aos 14 DAA, para o fator A_1 , nota-se que houve diferença significativa para o herbicida cialofope-butílico em relação ao controle. Para o fator A_1 , aos 21 DAA observa-se que houve diferença significativa para o herbicida cialofope-butílico, já para o fator salino (A_2), constatou-se diferença para os herbicidas clomazona e bispiribaque-sódico em relação ao tratamento que recebeu apenas $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl (Figura 3C).

Aos 28 DAA ocorreu diferença significativa no herbicida clomazona para o fator A₁, em relação aos outros herbicidas, no entanto, para o fator A₂ tanto clomazona como bispiribaque-sódico apresentaram diferença em relação ao controle. Ao variar o nível de salinidade, ocorreu diferença significativa para o herbicida profoxidim, estando de acordo com o padrão observado no controle (Figura 3D).

O herbicida clomazona mostrou redução de 9,3 e 15,9% nos tratamentos com e sem a adição de NaCl, respectivamente aos sete DAA em relação ao controle. Aos 14 DAA, houve recuperação de 7 e 8,4%, nesses mesmos tratamentos e aos 21 DAA, a recuperação foi de 31% para ambos, ocorrendo estabilização aos 28 DAA (Figura 3). Os baixos valores de flavonoides para o herbicida clomazona observados no experimento, demonstram que houve forte alocação destes para a síntese de antocianinas (Figura 4).

Ambos os herbicidas inibidores da ACCase comportaram-se de maneira semelhante aos sete DAA, ou seja, não diferindo significativamente do controle, e mostrando, inclusive, valores iguais ao variar o fator salinidade aos sete DAA. Aos 14 DAA, todos herbicidas com exceção do bispiribaque-sódico acrescido de NaCl e clomazona sem NaCl foram superiores ao controle (Figura 3B). A síntese de compostos fenólicos aumenta quando o carbono é produzido em excesso em comparação à demanda metabólica para o crescimento em um determinado ambiente (BRYANT et al., 1983; WATERMAN, ROSS & MCKEY 1984). Sua produção é constitutiva, de acordo com a economia de carbono na folha ou induzida por estresses bióticos ou abióticos. A associação destes dois estresses pode ter contribuído para a maior produção desses compostos aos 14 DAA. Chutipaijit et al. (2009), testando quatro variedades de arroz, contrastantes em sua sensibilidade a salinidade, observaram maior nível de flavonoides (3,48-1,72%) nas variedades resistentes, quando comparadas as sensíveis, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos aos 14 DAA no presente estudo, com exceção do tratamento com bispiribaque-sódico. No entanto, houve uma inversão para o herbicida profoxidim aos 21 e 28 DAA, isto sugere diferenças metabólicas conforme o mecanismo de ação herbicida e a cultivar testada.

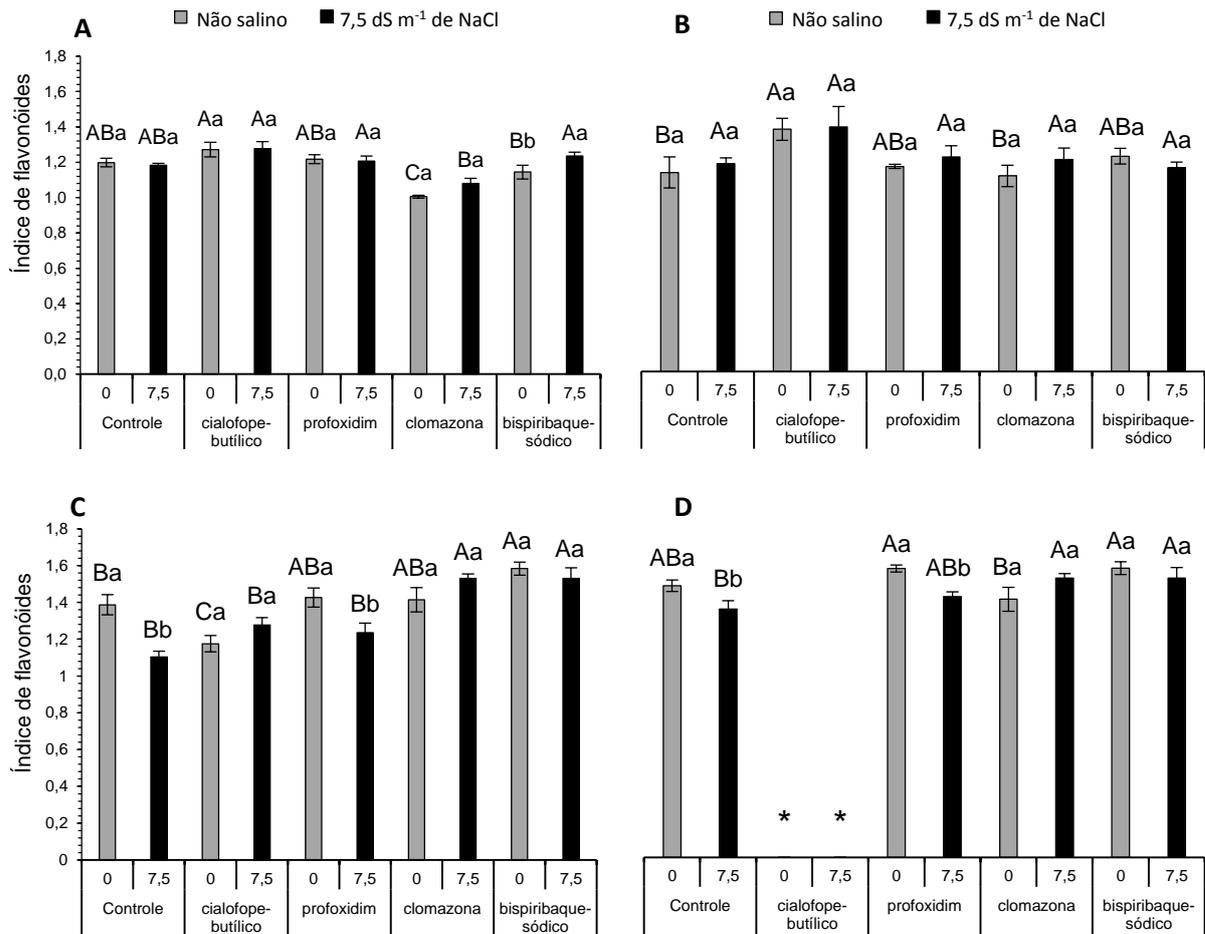


Figura 3. Índice de flavonóides em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida. * Não avaliado devido a elevada supressão de biomassa vegetal.

Para o índice de antocianinas, aos sete DAA, houve diferença significativa apenas para clomazona ($p < 0,05$), para ambas os fatores analisados A₁ e A₂ (Figura 4A). Aos 14 DAA para o fator A₁, houve diferença estatística para clomazona, no entanto para a variável A₂, a diferença se deu nos herbicidas cialofope-butílico e profoxidim. Variando o fator salinidade para cada herbicida, observa-se diferença para cialofope-butílico e clomazona (Figura 4B). Não houve diferença significativa para o fator A₂ comparando-se os diferentes herbicidas aos 21 DAA, no entanto, em comparação ao controle com 7,5 dS m⁻¹ nota-se diferença (Figura 4C). Dessa forma, constatou-se que quando houve associação da salinidade com os herbicidas, ocorreu maior produção de antocianinas, fato que não ocorreu no tratamento que recebeu apenas NaCl. Para o fator A₁, ocorreu diferença no herbicida clomazona, em

comparação ao controle (Figura 4C). Este mostrou diferença ao variar o fator salinidade. De forma semelhante, aos 28 DAA, o clomazona apresentou tanto diferença significativa para o fator A_1 , quanto para a variação no nível de salinidade neste herbicida.

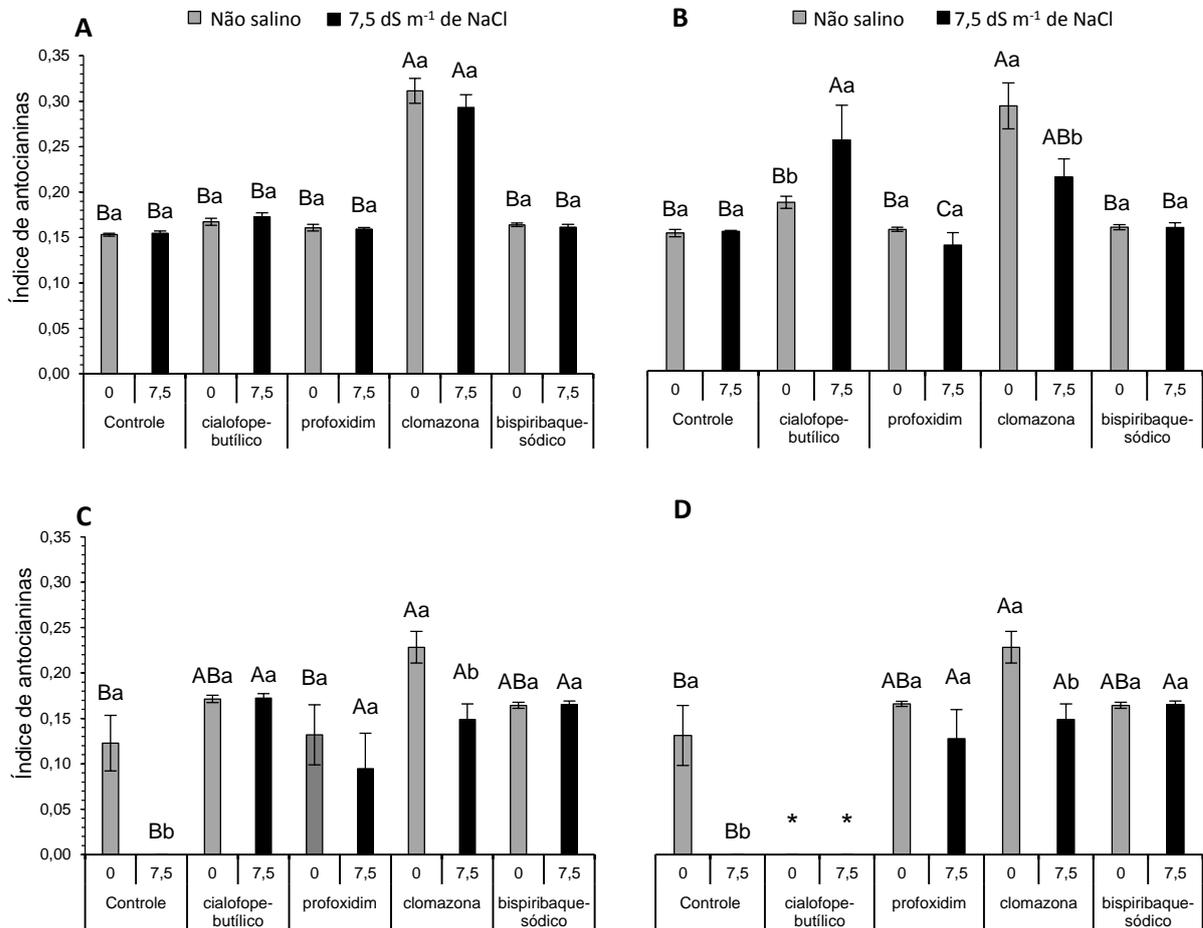


Figura 4. Índice de antocianinas em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida. * Não avaliado devido a elevada supressão de biomassa vegetal.

As antocianinas são pigmentos solúveis em água, derivados dos flavonoides através da via do ácido chiquímico, e são reconhecidas por desempenhar importante papel sob diferentes estresses ambientais. Aos sete DAA, o tratamento com clomazona mostrou forte incremento no conteúdo de antocianinas, tanto na presença ou ausência de salinidade, mostrando em ambos, um aumento de 50% em relação ao controle. Essa resposta mostrou-se vinculada, de maneira inversa, ao índice de clorofila (Figura 1A). Sem a presença de carotenoides, as plantas

poderiam responder com uma maior produção de antocianinas como forma de defesa. A degradação da clorofila, promovida pelo tratamento com clomazona, pode ter levado ao aumento na atividade da fenilalanina amônia liase (PAL, EC 4.3.1.5) que é uma enzima chave no ponto de ramificação entre a via do chiquimato e metabolismo dos fenilpropanóides, acarretando a intensa produção de antocianinas. Reiss (1983) observou que os níveis de atividade da enzima PAL, e o conseqüente acúmulo de antocianinas, foram aumentados consideravelmente pelo tratamento com um herbicida também inibidor da síntese dos carotenoides em plântulas de mostarda (*Sinapis alba* L.) cultivadas sob luz branca. Lee et al. (2003) também obtiveram aumento da atividade desta enzima para a espécie *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.), testando o herbicida paraquat, o qual inibe o fotossistema II, concluindo que as EROs podem atuar como sinalizadoras para uma maior expressão desta enzima.

Respostas diferenciais a herbicidas foram observados em plântulas tratadas com alachlor e rimsulfuron com sete DAA, os quais estimularam a produção de antocianinas, enquanto que trifluralin e fluometuron inibiram o acúmulo destes compostos (SCOTT, 1999). No entanto, os demais herbicidas mostraram-se inalterados quando ao conteúdo de antocianinas nesse mesmo período. Aos 21 e 28 DAA para ambos os tratamentos com clomazona, os valores mantiveram-se estabilizados.

Para o herbicida bispiribaque-sódico, os valores de antocianinas mantiveram-se praticamente inalterados, conforme o tempo de exposição ao estresse (Figura 4). Esse herbicida atua inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), afetando a síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina. Segundo Zabalza et al. (2007), o estresse oxidativo não está relacionado com o modo de ação dos herbicidas inibidores de ALS. O que pode ter contribuído para a manutenção dos valores de antocianinas ao nível do controle.

Aos 14 DAA o herbicida cialofope-butílico teve leve aumento para as antocianinas, no entanto logo aos 21 DAA ocorreu um decréscimo. Após os 21 DAA, este tratamento apresentou elevada supressão nas plantas de arroz, resultado este não esperado, em virtude de este herbicida apresentar alta seletividade para a cultura.

Para o índice de balanço do nitrogênio (NBI), aos sete e aos 14 DAA, houve diferença significativa para os herbicidas cialofope-butílico e clomazona, para ambas

as variáveis isoladas A_1 e A_2 em comparação ao controle (Figura 5A e 5B). Contudo, para a interação entre as variáveis, ou seja, comparando-se o fator salino e não salino para cada um desses herbicidas, não houve diferença aos sete DAA, enquanto que, aos 14 DAA para o clomazona na condição salina, houve diferença significativa.

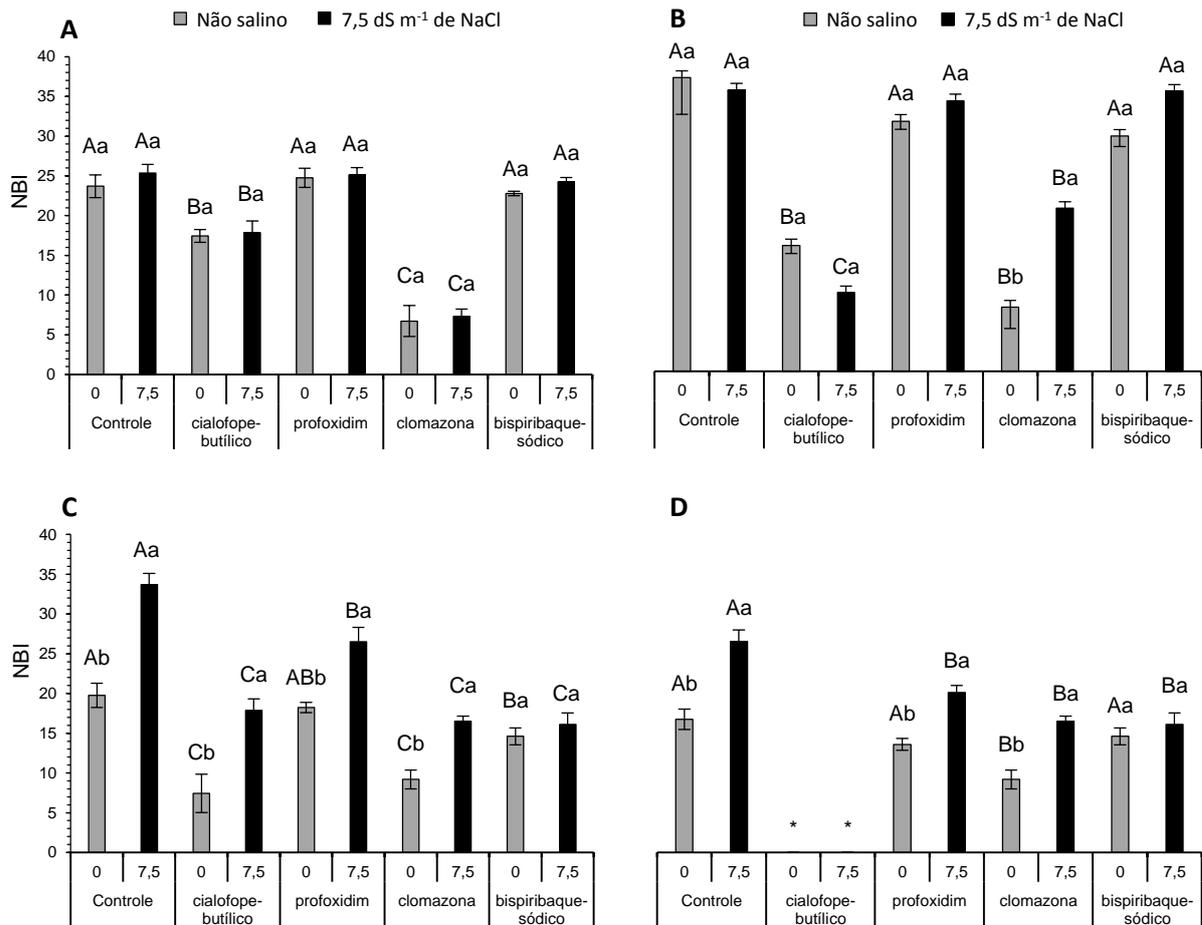


Figura 5. Índice de balanço do nitrogênio (NBI) em folhas de arroz, aos sete, 14, 21 e 28 DAA (A, B, C e D), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida. * Não avaliado devido a elevada supressão de biomassa vegetal.

Para as variáveis analisadas aos 21 DAA, houve diferença significativa para os herbicidas cialofop-butilico, clomazona e bispiribaque-sódico, em comparação com o controle para o fator A_1 . Já para o fator A_2 , houve diferença para todos os herbicidas quando comparados ao controle com 7,5 dS m⁻¹ de NaCl. Para a interação da variável herbicida com a salinidade, ocorreu diferença significativa para

todos herbicidas, com exceção do bispiribaque-sódico (Figura 5C). Aos 28 DAA, para a variável A_1 apenas clomazona se mostrou significativo, ao passo que todos herbicidas mostraram diferença significativa para o fator A_2 . Os herbicidas profoxidim e clomazona apresentaram diferença significativa para a interação entre as variáveis (Figura 5D).

O herbicida inibidor da síntese dos carotenoides apresentou uma redução de 71 % no valor de índice de balanço do nitrogênio (NBI) em relação ao controle, em ambos os tratamentos, salino e não salino aos sete DAA (Figura 5A). O índice de clorofila está intimamente relacionado com o nitrogênio da folha, pois a maquinaria fotossintética pode ser responsável por mais de metade do nitrogênio em uma folha (EVANS, 1983). O conteúdo de clorofila na folha aumenta com a oferta de nitrogênio e, em condições de escassez, é baixa (PENG et al., 1996). Esse resultado está de acordo com os dados de antocianinas, pois este herbicida apresentou elevados valores para esse pigmento (Figura 4). Sob baixa disponibilidade de N, plantas podem alocar o excesso de carbono para a síntese de compostos fenólicos. Assim, o alto teor destes, é um indicador de baixo teor de nitrogênio nos tecidos (CARTELAT et al., 2005).

Aos 14 DAA, para o herbicida clomazona, o tratamento sem a adição de NaCl mostrou recuperação de 17,9% do NBI em relação aos sete DAA, enquanto que aquele com a adição de sal mostrou recuperação mais acentuada de 173,9% superior ao valor encontrado aos sete DAA. Aos 21 DAA, o clomazona sem adição de NaCl mostrou aumento de 15% no NBI em relação aos 14 DAA, estabilizando-se aos 28 DAA. No entanto, para o tratamento com NaCl, ocorreu um decréscimo de 21,18% em relação aos 14 DAA. Esse resultado sugere que embora o NBI no tratamento clomazona acrescido de NaCl aos 14 DAA fosse 2,5 vezes maior que aquele sem aporte de salinidade, a partir deste período, o efeito do estresse salino começou a afetar este parâmetro, ao passo que aquele tratamento apenas com o herbicida manteve o padrão de elevação no NBI.

Os tratamentos com profoxidim e bispiribaque-sódico apresentaram comportamento semelhante para o NBI, ou seja, aqueles que receberam NaCl na água de irrigação tiveram valores superiores em todos os períodos de avaliação (Figura 5). Segundo Amirjani (2010), a concentração de nitrogênio por unidade de área foliar em plantas em condições de estresse salino pode ser maior do que nas

plantas não estressadas. Ambos herbicidas também mostraram incremento seguido de um decréscimo no NBI aos 14 e 21 DAA, respectivamente.

Todos os tratamentos mostraram valores de NBI significativamente menores que o tratamento que recebeu $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl na água de irrigação de maneira isolada a partir dos 21 DAA (Figura 5). A redução da área foliar promovida pelo estresse salino pode ter levado a manutenção dos níveis elevados de NBI até este período, pois valores altos no índice de clorofila influenciam diretamente este parâmetro.

O fato de o herbicidas inibidor de ALS mostrar valores de NBI inferiores ao controle com NaCl pode ser devido ao efeito desse produto na síntese de aminoácidos, e conseqüentemente, na biossíntese de proteínas necessárias para o metabolismo do nitrogênio, assim como na biossíntese de clorofilas. Scarponi et al. (1995) observaram redução da atividade da enzima nitrito redutase (NiR, EC 1.7.7.1), glutamina sintetase (GS, EC 6.3.1.21) e glutamato sintase (GOGAT, EC 1.4.1.14), assim como redução nas proteínas totais em plantas de soja tratadas com imazethapyr, herbicida inibidor da síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina.

Para a variável potencial osmótico (Ψ_s), houve diferença significativa para todos os fatores analisados aos 7 DAA (Figura 6). Comparando-se o fator A₁ isolado, nota-se que o tratamento com cialofope butílico e bispiribaque sódico diferiram significativamente do controle, o mesmo foi observado para o fator A₂. Ao variar o fator salinidade, pode-se notar diferença significativa para todos os tratamentos.

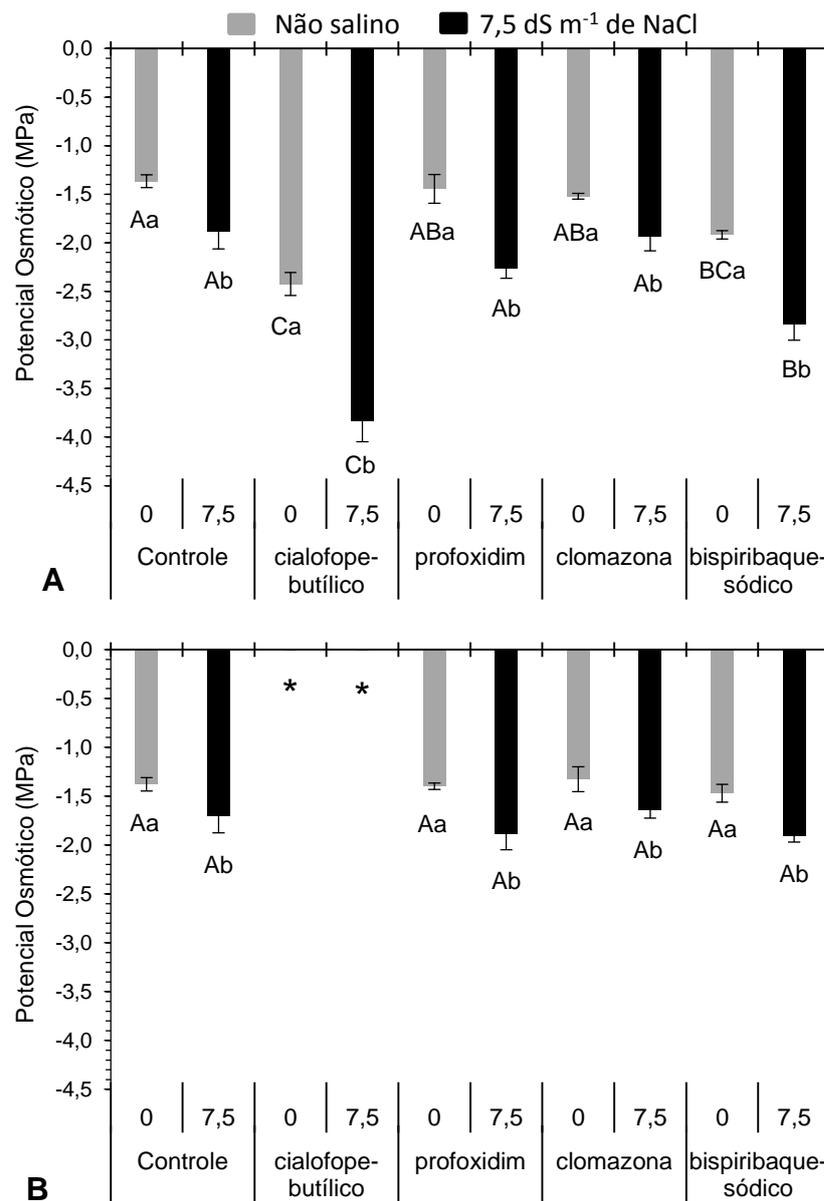


Figura 6. Potencial osmótico (MPa) em folhas de arroz, aos sete e 14 DAA (A e B), respectivamente, na cultivar IRGA 424 submetida a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência de 7,5 dS m⁻¹ de NaCl na água de irrigação. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo que, letras maiúsculas, comparam os diferentes herbicidas dentro de cada nível de salinidade, e letras minúsculas, comparam os dois níveis de salinidade para cada herbicida. *Não avaliado devido a elevada supressão de biomassa vegetal.

Aos 14 DAA pode-se observar que não houve diferença significativa para os fatores isolados, no entanto observou-se o contrário para todos os tratamentos variando-se o fator salinidade (Figura 6).

O Ψ_s considera o efeito dos solutos dissolvidos sobre o potencial hídrico, sendo portanto, uma medida do estado hídrico das plantas. Os dados obtidos neste

estudo demonstram a efetiva redução deste parâmetro no arroz irrigado, quando este foi submetido ao tratamento com $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ de NaCl (Figura 6). O ajuste osmótico promove redução do potencial osmótico pelo aumento líquido de solutos intracelulares, sendo este, um reconhecido mecanismo adaptativo de muitas culturas ao estresse hídrico. Ele permite a manutenção da turgescência, que por sua vez contribui para que as plantas mantenham processos tais como abertura estomática (THEODORE, 1984). YILDIZTUGAY (2014), observou uma diminuição no Ψ_s após 7 dias de exposição a 150 e 300 mM de NaCl trabalhando com *Sphaerophysa kotschyana*. O Ψ_s em folhas caiu de -1,1 (controle) para -1,6 MPa após 14 dias de tratamento com 300 mM de NaCl. Esses resultados estão de acordo com o presente estudo, pois todos os tratamentos com $7,5 \text{ dS m}^{-1}$ tiveram decréscimo significativo no potencial osmótico.

Os efeitos mais intensos na redução do Ψ_s para os tratamentos salinos foram cialofope butílico, bispiribaque sódico e profoxidim, com uma redução no Ψ_s de 104; 51 e 20% respectivamente, já o tratamento com clomazone mostrou a menor redução (2,65%). O resultado para o herbicida clomazone associou-se com as demais avaliações do presente experimento (Figuras 1 e 4). Isso leva a inferência de que no processo de metabolização deste herbicida, há algum mecanismo que confere a planta atenuação dos efeitos da salinidade sobre parâmetros como o IC e NBI. Quando este esteve associado a salinidade, ocorreu a menor redução no Ψ_s , sendo sua redução menor, que a dos tratamentos que não receberam a salinidade na água de irrigação aos sete DAA (Figura 6). Esse mesmo herbicida mostrou inclusive um aumento no potencial osmótico de 3,52 e 3,65% aos 14 DAA para os tratamentos com e sem a adição de sal respectivamente, e uma recuperação de 15% comparando-se dos sete aos 14 DAA, fato este também observado para os parâmetros de IC, antocianinas e NBI.

As citocromo P450 monooxigenases participam na fase de metabolismo de xenobióticos e na desintoxicação inicial de herbicidas, conduzindo muitas vezes a seletividade de culturas (RENAULT et al., 2014). O clomazone é um pré-herbicida, que deve ser metabolizado a 5-cetoclomazone, essa metabolização é feita por citocromo P450 monooxigenases, o produto desta, é o composto ativo que inibe deoxixilulose 5-fosfato sintase, enzima chave da via dos isoprenóides que catalisa o primeiro passo da rota do Metileritritol fosfato (MEP) (YASUOR, 2010). Essa rota é chave para a síntese de isoprenos, carotenóides, ácido abscísico, cadeias laterais

de clorofilas e plastoquinona. Com essa inibição poderia ocorrer menor produção de Ácido abscísico (ABA), visto ser o Isopentenil difosfato (IPP) necessário a formação deste nos plastídeos. Com menor produção de ABA poderia ocorrer menor fechamento estomático, e com isso, evitar a redução no potencial osmótico pela manutenção da turgescência celular. Estes dados estão de acordo com o conteúdo relativo de água (capítulo 1), no qual o herbicida apresentou os maiores valores, para os dois níveis de salinidade. O herbicida clomazona é normalmente utilizado como pré-emergente na cultura do arroz. Ele é absorvido por raízes e partes aéreas emergentes, sendo transportado com o fluxo de transpiração do xilema (YASUOR, 2010). Sob estresse salino, as raízes podem diminuir a absorção de água, o que e consequentemente reduziria a absorção do produto pela solução do solo, podendo, a modalidade de aplicação ter influenciado também os resultados observados.

Para os tratamentos sem o aporte da salinidade, as maiores reduções no Ψ_s verificaram-se para os herbicidas cialofope butílico, bispiribaque sódico e clomazona, com redução de 78; 40,4 e 11,7% respectivamente. Na condição não salina o herbicida que mostrou a menor redução no Ψ_s foi profoxidim (5,9%). Saladin (2003), testando o efeito do herbicida flumioxazin no crescimento de videira *in vitro* observou diminuição no potencial osmótico em folhas pelo tratamento com este herbicida em função da concentração, atingindo -1,33 MPa depois de 2 semanas de tratamento com 1 mM de flumioxazin, sendo ligeiramente aumentado em seguida na presença de 10 e 100 mM, ao passo que o controle manteve-se estável em torno de -0,6 MPa. Evidencia-se que os resultados são dependentes da particularidade de cada herbicida, pois para cialofope butílico e bispiribaque sódico tanto com ou sem o aporte de NaCl verificou-se a interferência sobre a redução do potencial osmótico aos sete DAA.

4 CONCLUSÃO

O herbicida clomazona aplicado no arroz irrigado sob condições de estresse salino apresenta recuperação dos parâmetros IC, NBI e ψ_s , constituindo-se este, uma alternativa ao controle químico de plantas daninhas nestas condições.

A aplicação dos herbicidas inibidores de ACCase em plantas de arroz irrigado sob estresse salino afeta negativamente o IC, NBI e ψ_s conforme o tempo de exposição ao estresse salino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, F. B.; GOFFART, J. P. **Potential indicators based on leaf flavonoids content for the evaluation of potato crop nitrogen status.** in: 11th ICPA Indianapolis Mi USA: pp. 1-18 **(Mx)** 2012.
- AMIRJANI, M. R.; Effect of nacl on some physiological parameters of rice. **EJBS**, 2010.
- ARGENTA, L. C.; LOPES, N. F. Pigment accumulation, photosynthetic, respiratory and growth rates in soybean, rice and watergrass as affected by clomazona doses. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 4, n. 2, p. 81-86, 1992.
- BEGUM, M.; JURAIMI, A. S.; SYED OMAR, S. R.; RAJAN, A.; AZMI, M. Effect of Herbicides for the Control of *Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl. in Rice. **Journal of Agronomy**, v. 7 p. 251-257, 2008.
- BRYANT, J. P., CHAPIN F.S. III & KLEIN D. R. Carbon/nutriente balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. **Oikos**, v. 40, p. 357–368, 1983.
- CARTELAT, A.; CEROVIC, Z. G.; GOULAS, Y.; MEYER, S.; LELARGE, C.; PRIOUL, J.-L.; BARBOTTIN, A.; JEUFFROY, M.-H.; GATE, P.; AGATI, G.; MOYA, I. Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Field Crops Research**, v.91 p. 35–49, 2005.
- CHUTIPAIJIT, S.; CHA-UM, S.; SOMPORNPAILIN, K. Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity. **Pak. J. Bot.**, v. 41 p. 2497-2506, 2009.
- COUNCE, P. A. et al. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.
- CRONIN G, LODGE D. Effects of light and nutrient availability on the growth, allocation, carbon/nitrogen balance, phenolic chemistry, and resistance to herbivory of two freshwater macrophytes. **Oecologia**, v. 137, p. 32-41. 2003.
- EVANS, J. R. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Physiol**, v. 72, p. 297–302, 1983.
- KAŇA, R.; ŠPUNDOVÁ, M.; ILÍK, P.; LAZÁR, D.; KLEM, K.; TOMEK, P.; NAUŠ, J.; PRÁŠIL, O. Effect of herbicide clomazone on photosynthetic processes in primary barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 78 p. 161–170, 2004.
- KOVINICH, N. et. al. Not all anthocyanins are born equal: distinct patterns induced by stress in *Arabidopsis*. **Planta**, v. 240, p. 931–940, 2014.

LEE, B. K.; PARK, M. R.; SRINIVAS, B.; CHUN, J. C.; KWON, I. S.; CHUNG, I.M.; YOO, N. H.; CHOI, K. G.; YUN, S. J. Induction of Phenylalanine Ammonia-Lyase Gene Expression by Paraquat and Stress-related Hormones in *Rehmannia glutinosa*. **Mol. Cells**, vol. 16, p. 34-39, 2003.

LOBOS, G. A.; RETAMALES, J. B.; HANCOCK, J. F. FLORE, J. A.; COBO, N.; DEL POZO, A. Spectral irradiance, gas exchange characteristics and leaf traits of *Vaccinium corymbosum* L. "Elliott" grown under photo selective nets. **Environ Exp Bot**, vol. 75, p. 142–149, 2012.

MACHADO, A. de A.; CONCEIÇÃO, A.R. **WinStat: sistema de análise estatística para Windows**. Versão 2.0. Pelotas: UFPel/NIA, 2003.

PATAKAS, A.; NIKOLAOU, N; ZIOZIOU, E.; RADOGLU, K.; NOITSAKIS, B. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. **Plant Science**, v.163, p.361-367, 2002.

PENG, S.; GARCIA, F. V.; LAZA, R. C.; SANICO, A. L.; VISPERAS, R. M.; CASSMAN, K.G. Increased N use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice **Field Crops Res**, v. 47, p. 243–252, 1996.

PETRUSSA, E. et. al. Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. **Int. J. Mol. Sci.**, p. 14950-14973, 2013.

REISS, T.; BERGFELD, R.; LINK, G.; THIEN, W.; MOHR, H. Photooxidative destruction of chloroplasts and its consequences for cytosolic enzyme levels and plant development. **Planta**, v. 159 p. 518-28, 1983.

RENAULT, H.; BASSARD, J. E.; HAMBERGER, B. REICHHART, D. W. Cytochrome P450-mediated metabolic engineering: current progress and future challenges. **Current Opinion in Plant Biology**. v. 19, p. 27–34, 2014.

SALADIN, G.; CLÉMENT, C.; MAGNÉ, C. Stress effects of flumioxazin herbicide on grapevine (*Vitis vinifera* L.) grown in vitro. **Plant Cell Rep**, v. 21, p. 1221–1227, 2003.

SCARPONI, L.; ALA, M. M. N.; MARTINETTI, L. Consequences on Nitrogen Metabolism in Soybean (*Glycine max* L.) as a Result of Imazethapyr Action on Acetohydroxy Acid Synthase. **J. Agric. Food Chem**, vol. 43, n. 3, 1995.

SCOTT, L. C. Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses **Photochemistry and Photobiology**, v. 70 p. 1-9, 1999.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI) Arroz Irrigado: **recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre, RS: SOSBAI, 179p. 2012.

SWEETLOVE, L. J.; BEARD, K. F. M.; NUNES-NESE, A.; FERNIE, A. R.; RATCLIFFE, R.G.; Not just a circle: flux modes in the plant TCA cycle. **Trends in Plant Science**, p. 462-470, 2010.

TAYLOR, N. L.; DAY, D. A.; MILLAR, A. H. Targets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 1-10, 2004.

WANICHANANAN, P.; KIRDMANEE, C.; VUTIYANO, C. Effect of salinity on biochemical and physiological characteristics in correlation to selection of salt tolerance in aromatic rice (*Oryza sativa* L.). **ScienceAsia**, v. 29, p. 333-339, 2003.

WANG, Y.; ZHANG, L.; NAFISAH, A.; ZHU, L.; XU, J.; LI, Z. Selection efficiencies for improving drought/salt tolerances and yield using introgression breeding in rice (*Oryza sativa* L.). **The Crop Journal**, v. 1, p. 134–142, 2013.

YASUOR, H. et al. Differential Oxidative Metabolism and 5-Ketoclozaron Accumulation Are Involved in *Echinochloa phyllopogon* Resistance to Clomazone. **Plant Physiology**, vol. 153, p. 319–326, 2010.

ZABALZA, A.; GASTON, S.; SANDALIO, L. M.; DEL RÍO, L. A.; ROYUELA, M. Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. **Environmental and Experimental Botany**, v.59 p.150-159, 2007.