

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

EFEITO RESIDUAL DO DIURON NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SORGO

Charlene Raquel de Almeida Viana¹; Edgar Itiro Takada²; Ronaldo da Silva Viana³; Fabiana Manarelli⁴; Ana Paula Flávio da Silva⁵;

RESUMO

o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito residual do diuron no solo sobre germinação de sementes de sorgo, plantadas em área de cana de açúcar. O experimento foi instalado no laboratório de tecnologia de sementes da Faculdade de Tecnologia de Araçatuba e no laboratório de bioquímica da Unesp/Foa Araçatuba-SP, no ano de 2011. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Cada repetição foi colocada em substrato umedecido com solução dos produtos, onde permaneceu durante 1 hora. A variedade utilizada foi biomatrix 525. Os tratamentos utilizados foram com doses de diuron: 12,5 g i.a./ha⁻¹, 25 g i.a./ha⁻¹, 50 g i.a./ha⁻¹, 100 g i.a./ha⁻¹, 200 g i.a./ha⁻¹, 400 g i.a./ha⁻¹, 800 g i.a./ha⁻¹, testemunha e 800 mL de fosfito/ha⁻¹. As amostragens foram realizadas ao terceiro dia após germinação para a determinação da atividade enzimática. Foi determinada a atividade antioxidante das enzimas: catalase (CAT) e peroxidase. Conclui-se que as enzimas catalase e peroxidase analisadas, se mostraram mais eficientes no combate ao estresse oxidativo causado pelo herbicida diuron no solo, sobre a germinação de sementes de sorgo.

Palavras-chave: Diuron, Sorgo, Germinação, Cana de Açúcar, Antioxidante

ABSTRACT

In order to evaluate the residual effect of diuron in soil on germination of sorghum, planted in the area of sugar cane. The experiment was installed on seed technology laboratory of the Faculty of Technology Araçatuba and biochemistry laboratory of UNESP / Foa Araçatuba-SP, in 2011. The experimental design was completely randomized with four replications. Each replicate was placed in a substrate containing

¹ Graduanda em Tecnologia de B combustíveis, Fatec Araçatuba, Av. Prestes maia, 1764, Jd. Ipanema, Araçatuba – SP. E-mail: charleneraquel@hotmail.com

² Graduando em Tecnologia de B combustíveis, Fatec Araçatuba, Av. Prestes maia, 1764, Jd. Ipanema, Araçatuba – SP. E-mail: charleneraquel@hotmail.com

³ Dr. , Eng. Agrônomo, Fatec Araçatuba , Av. Prestes maia,1764, Jd. Ipanema Araçatuba – SP. E-mail: ronaldodsv@hotmail.com

⁴ Tecnóloga em B combustíveis, Fatec Araçatuba, Av. Prestes maia, 1764, Jd. Ipanema, Araçatuba – SP. E-mail:

⁵ Graduanda em Tecnologia de B combustíveis, Fatec Araçatuba, Av. Prestes maia, 1764, Jd. Ipanema, Araçatuba – SP. E-mail:anapaulaflaviodasilva@hotmail.com

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

solution of the product, where it remained for one hour, where they were made by a variety Biomatrix. The treatments were used with doses of diuron: 12.5 g iaha-1, 25 g ai / ha-1, 50 g ai / ha-1, 100 g ai / ha-1, 200 g ai / ha-1, 400 g ai / ha-1, 800 g ai / ha-1, a witness of phosphite and 800 mL / ha-1. The samples were taken on the third day after germination for the determination of enzymatic activity. We determined the activity of antioxidant enzyme: catalase (CAT) e ascorbate peroxidase (APX).

Keywords: Diuron, sorghum, germination, Sugar Cane, Antioxidant

INTRODUÇÃO

O sorgo é uma extraordinária fábrica de energia, de enorme utilidade em regiões muito quentes e muito secas, onde o homem não consegue boas produtividades de grãos ou de forragem cultivando outras espécies. Sua reconhecida versatilidade se estende desde o uso de seus grãos como alimento humano e animal, como matéria prima para produção de álcool anidro, bebidas alcoólicas, colas e tintas; o uso de suas panículas para produção de vassoura; extração de açúcar de seus colmos; até inúmeras aplicações de sua forragem na nutrição de ruminantes (EMBRAPA,2011).

Segundo Lorenzi (2000) as plantas daninhas afetam diretamente a produção das culturas, pela competição por luz, umidade e nutrientes minerais, ou indiretamente, pelo aumento de inóculo ou pela manutenção de organismos patogênicos. As plantas daninhas, além da competição pela umidade do solo e por nutrientes essenciais, interferem em práticas culturais, como controle de pragas, fertilização e colheita.

O Diuron é um herbicida sistêmico utilizado em diversas culturas e inibidor de fotossíntese, quando usado pré e pós emergente no controle das ervas daninhas, pode ser deslocado pelo xilema ou floema e atingir todas as partes da planta (ROSA, 2008).Um herbicida do grupo das uréias substituídas que apresenta ação de inibição da fotossíntese, atuando no fotossistema II, pertence aos Grupos C1 (triazinas e triazonas), Grupo C2 (uréias substituídas e amidas) e Grupo C3 (benzotiadiazoles). O local de ação destes herbicidas é membrana do cloroplasto, onde ocorre a fase luminosa da fotossíntese, mais especificamente no transporte de elétrons (CHISTOFFOLETI, *et al*, 1997).

Pode-se também incluir a cana-de-açúcar como cultura que antecede ao sorgo, pois além de ser prática comum o uso da cultura em áreas de reforma de canavial alguns herbicidas do grupo triazinas e imidazolinonas também são utilizados em cana-de-açúcar. LEITE et al. (2007) comentaram que não é recomendável o cultivo de sorgo em áreas previamente tratadas com diurom e tebutiurom, devido à sensibilidade da cultura. Entretanto, esses herbicidas são amplamente utilizados em cana-de-açúcar, em função do ataque de pragas, ocorrência de doenças e convivência com plantas daninhas, sob determinadas condições edafoclimáticas (Carvalho et al., 2000), indicando que os produtores devem realmente tomar cuidados ao implantar a cultura em sucessão ao canavial, na ocasião da reforma do canavial.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito residual do diuron no solo sobre germinação de sementes de sorgo.

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido no laboratório de tecnologia de sementes da Faculdade de Tecnologia de Araçatuba e no laboratório de bioquímica da Unesp/Foa Araçatuba-SP, em câmara de germinação com temperatura controlada de 25°C. Para realização do experimento foi utilizada cultivar de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor*), biomatrix 535. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com 4 repetições de 50 sementes. Cada repetição foi colocada em substrato umedecido com solução dos produtos, onde permaneceu durante 1 hora. Transcorrido o período estabelecido, foram transferidas para substrato umedecido com água destilada (oito sub-amostras de 25 sementes) elevadas ao germinador à temperatura de 25°C, os tratamentos utilizados estão dispostos no quadro abaixo.

Quadro 1 - Diferentes doses de diuron aplicada em sorgo.

TRATAMENTOS	DIURON
T1	12.5 g i.a/ha ⁻¹
T2	25 g i.a/ha ⁻¹
T3	50 g i.a/ha ⁻¹
T4	100 g i.a/ha ⁻¹
T5	200 g i.a/ha ⁻¹
T6	400 g i.a/ha ⁻¹
T7	800 g i.a /ha ⁻¹
T8	800 mL de fosfito/ha
T9	TESTEMUNHA

Foram realizadas duas coletas de plântulas de sorgo para análise de enzima, uma ao terceiro dia e a outra no décimo dia respectivamente após a germinação. Após a germinação as amostras, foram encaminhadas para o laboratório de bioquímica, onde foram congeladas -80°C para posterior análise. As amostras foram coletadas processadas uma a uma, com o auxílio de almofariz e pistilo, e a adição de N₂ líquido à amostra. Depois de triturado, o extrato vegetal foi transferido para tubos *ependorf* com tampa e armazenados em N₂ líquido para posterior obtenção do extrato bruto (EB), sendo este, através da ressuspensão do material vegetal (300 mg), adicionando-se 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, suplementado com 1mM de ascorbato. Após centrifugação por 20 min. a 10.000 x g em centrífuga refrigerada (+/- 5°C), o sobrenadante foi coletado e realizado 4 alíquotas em tubos *ependorf* e armazenado em N₂ líquido para determinações das atividades enzimáticas específicas de: peroxidase e catalase.

A atividade de PO foi determinada através da diluição (1:25) de 100 µL de EB, adicionando-se 4,9 mL de solução tampão fosfato de potássio 25 mM pH 6,8 contendo 20 mM de pyrogallol e 20 mM de H₂O₂ (Peróxido de Hidrogênio). Após a incubação por 1 min., paralisou-se a reação com 0,5 mL de H₂SO₄ e a leitura de absorbância feita a 420 nm. A atividade específica da enzima é calculada usando-se o coeficiente extinção molar: 2,47 mM/cm (Peixoto *et al.*, 1999).

A CAT foi determinada espectrofotometricamente a 25°C, contendo no meio

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

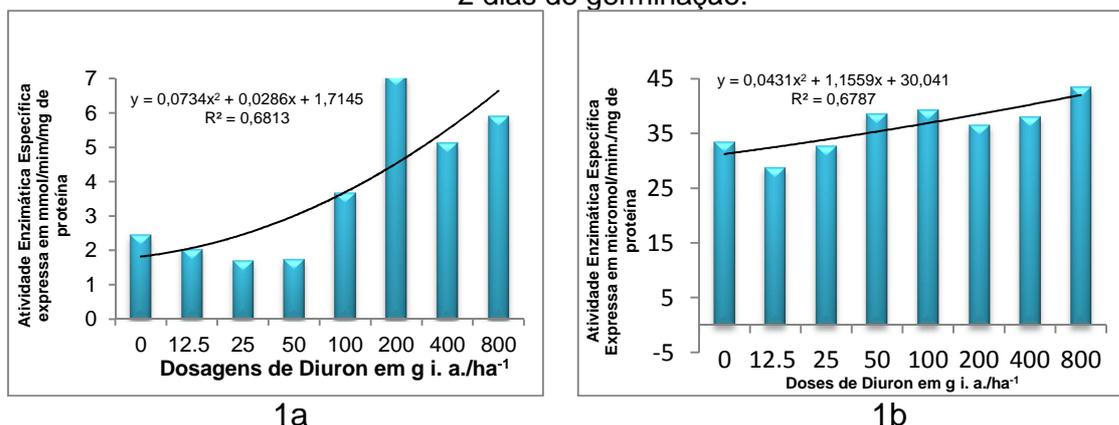
de reação 1 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5 e adicionando-se 3,0 μL de H_2O_2 a 30%, preparado imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada pela adição de 12,5 μL de EB e seguindo a decomposição de H_2O_2 por 1 min., fazendo a leitura em 30" e 60", por alterações na absorbância a 240 nm. A atividade específica da enzima é calculada usando-se o coeficiente extinção molar: $39,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto aos resultados apresentados na figura 1a) referente a primeira coleta, observa-se que a atividade enzimática da catalase teve uma relação positiva com as doses de diuron, onde em função do aumento da quantidade desse produto, a atividade enzimática também aumentou em comparação com a testemunha, tendo seu ápice na dosagem de $200 \text{ g i.a./ha}^{-1}$. Segundo SCANDALIOS(1993), foi observado que, as plantas de soja pré-tratadas com SNP (solução de nitroprussiato de sódio) apresentaram menor atividade da CAT. Quando se aplicou SNP na dose de 100 mol.L^{-1} em pré-tratamento, as plantas apresentaram baixa atividade da CAT às 24 e 120 HAAL (após a aplicação de lactofen), períodos nos quais foram detectados baixos teores de lipoperóxidos e elevados teores de clorofilas e carotenóides. Uma possível explicação seria que a CAT estaria removendo parte do H_2O_2 gerado, contribuindo para a defesa antioxidante das plantas contra o estresse oxidativo induzido pelo lactofen.

Para os resultados apresentados na figura 1b, observa-se um comportamento crescente, relacionando a atividade peroxidase em função da dosagem de diuron.

Figura 1a, 2b. Atividade enzimática específica das enzimas catalase (figura 1a) e peroxidase (figura 1b) em plantas de sorgo tratadas com diferentes dosagens de Diuron coletadas após 2 dias de germinação.



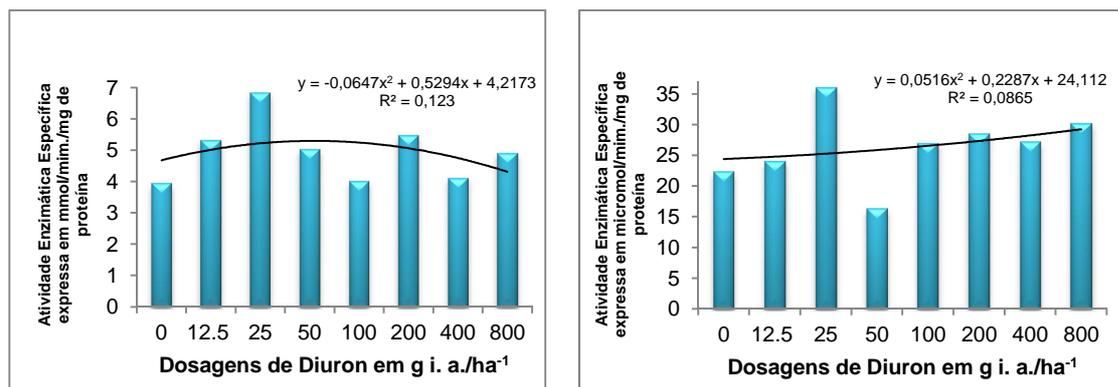
Pesquisas relatam aumentos de atividade da APX em presença do herbicida oxyfluorfen em células de soja (Knörzer et al., 1996). Nesse caso, foi considerado que a APX desempenhou importante papel na eliminação do H_2O_2 durante as referidas condições geradoras de estresse oxidativo. Nos momentos iniciais da avaliação, até 72 HAAL, as plantas pré-tratadas com 50 mol.L^{-1} de SNP apresentaram aumento de atividade da APX, seguido de redução nos períodos posteriores, semelhante ao observado em relação às atividades da SOD e da CAT.

Carbonari et al, (2010) também realizaram um experimento onde dois herbicidas (amicarbazone e diuron) aplicados isoladamente demonstraram que a taxa de

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

transporte de elétrons reduziu de maneira mais rápida para o amicarbazone que o diuron, mesmo os dois herbicidas serem inibidores do fotossistema II. A mistura do amicarbazone + diuron demonstrou que foi mais eficiente comparando com a aplicação de diuron isolado, mas não foi mais eficiente que o amicarbazone aplicado sem mistura (GIROTTO, 2001).

Figura 2a e 2b. Atividade enzimática específica das enzimas catalase (figura 2a) e peroxidase (figura 2b) em plantas de sorgo tratadas com diferentes dosagens de Diuron coletadas após 10 dias de germinação.



2A

2b

Na figura 2a referente a segunda coleta, mostra a relação da atividade enzimática em função da dosagem de diuron, onde na dosagem de 25 g i.a./ha⁻¹ está expresso uma maior atividade de catalase em relação a testemunha e demais dosagens. Como descrito no trabalho de Chagas (2007), que evidencia a sensibilidade da APX, pois, na concentração inicial de herbicida paraquat, aplicados em cana de açúcar, houve um aumento inicial desta enzima, e em seguida a atividade sofre uma redução brusca com o aumento das concentrações.

Já nos resultados da atividade específica da peroxidase na figura 2b observa-se uma tendência a um comportamento constante de seus valores, tendo seu ápice na dosagem de 25 g i.a./ha⁻¹.

CONCLUSÃO

As enzimas catalase e peroxidase, se mostraram mais eficientes no combate ao estresse oxidativo causado pelo herbicida diuron no solo, sobre a germinação de sementes de sorgo.

REFERÊNCIAS

CHRISTOFFOLETI, P. J.; ZAMBON, S.; BIAZOTTO, I. L. Avaliação do herbicida isoxaflutole aplicado isolado ou em mistura de tanque no controle pré-emergente de plantas daninhas em soqueira de cana-de-açúcar. CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 21, 1997, Caxambu.

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

Resumos... Caxambu: SBCPD, 1997. p.255.

CHAGAS, R. M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) tratadas com paraquat.** 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

CARBONARI, C. A. et al. Eficácia do amicarbazone aplicado em associação com outros herbicidas no controle de plantas daninhas em cana crua. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 2010, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: SBCPD. 2010. p.1936.

CARVALHO, F.T., GALBIATTI JUNIOR, W., CAVAZZANA, M.A. Eficiência do herbicida sulfentrazone no controle, em pré-emergência, de plantas daninhas em soja. **Rev. Bras. Herbic.**, v.1, p.33-7, 2000.

EMBRAPA, 2011. Disponível em:<<http://www.cnpms.embrapa.br/>>. Acesso em: 20/04/2012.

GIROTTO, M. Influência do Amicarbazone no Fotossistema II de Plantas Daninhas e Cana-de-Açúcar. Dissertação(Mestrado) –Universidade Estadual Paulista , Faculdade de Ciências Agrárias, Botucatu, 2011.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**,2000. 379 p. OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Mecanismos de ação de herbicidas. cap 7, p.1-36.

LEITE, R. M. V. B. C.; CASTRO C.; BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, F. A.; CARVALHO, C. G. P. ; OLIVEIRA, A. C. B. **Indicações para o cultivo de girassol nos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Roraima.**, Londrina: Embrapa Soja, 2007. p. 1-5. (Comunicado Técnico, 78).

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, Rockwille, v. 101, p. 7-12, 1993.

PEIXOTO, P. H. P. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum, *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Campinas, V.11, N.3, P. 137-143, 1999.

SANCADALIOS, S. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v.38, n.7, p. 995-1014, jul. 2005.

SEVERINO, L. S. et al. Herbicida Diuron aplicado em pré-emergência e sobre as folhas da mamoneira. 2º Congresso Brasileiro de Mamona. Disponível em:

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP
<http://www.cnpa.embrapa.br/produtos/mamona/publicacoes/trabalhos_cbm2/075.pdf>. Acesso em: 27/04/2012.

ROSA, E. D. S. Remoção dos herbicidas diuron e hexazinona de água superficial do tratamento em ciclo completo com adsorção em carvão ativado granular. Universidade de Ribeirão Preto- SP, p.10, 2008.