

METODOLOGIA DA IMERSÃO EM SOLUÇÃO NA IDENTIFICAÇÃO DE SEMENTES DE ARROZ MUTANTE TOLERANTE AO HERBICIDA IMAZETHAPYR

Márcio Pacheco da Silva⁽¹⁾, Francisco Amaral Villela⁽²⁾, [Ariano de Magalhães Jr.](mailto:ariano@cpact.embrapa.br)⁽¹⁾, Luciana Bica Dode⁽²⁾, Ângela Tilmman⁽²⁾. 1 EMBRAPA-Clima Temperado, Cx. Postal 406, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS. e-mail: ariano@cpact.embrapa.br 2 UFPel-FAEM, Campos Universitário, Cx. Postal 354, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS.

Palavras-chave: arroz, sementes, herbicida

O arroz constitui-se no principal alimento para cerca de 40% da população mundial. O Brasil destaca-se como maior produtor sul americano. O Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) que, juntamente, respondem por quase 60% da produção nacional em lavouras irrigadas e tecnificadas, sendo que somente o RS contribui com aproximadamente 50%. A produtividade de arroz irrigado nas últimas décadas tem uma trajetória ascendente no RS, em virtude do uso de variedades com alto potencial produtivo, uso apropriado de insumos e tecnologias modernas.

Uma das estratégias para ultrapassar o atual patamar de produtividade das modernas cultivares de arroz irrigado é a utilização de linhagens resistentes ou tolerantes a herbicidas. Culturas modificadas para resistência a herbicidas podem favorecer a utilização de herbicidas de amplo espectro de atuação e possibilitar o uso de produtos menos tóxicos e mais facilmente degradáveis no solo, aumentando as opções no combate a plantas daninhas.

O desenvolvimento de linhagens mutantes tolerantes a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), pode ser uma alternativa para o controle do arroz vermelho. O Imazethapyr é um herbicida do grupo das imidazolinonas, sistêmico e seletivo para soja, mas não seletivo para o arroz. O mecanismo de ação deste grupo de herbicidas é a inibição não-competitiva da enzima acetolactato sintetase ou acetohydroxi sintetase (AHAS) na rota de síntese dos aminoácidos ramificados valina, leucina e isoleucina. Os sintomas das plantas sob efeito dos herbicidas inibidores da ALS incluem paralisação do crescimento, amarelecimento dos meristemas e redução do sistema radical (Vargas et al, 1999). Uma única substituição do amino-ácido no gene da AHAS, é suficiente para alterar o local obrigatório para imidazolinonas, tal que o herbicida imazetahapyr não iniba mais a AHAS, resultando em um fenótipo tolerante ao herbicida (CFIA, 2002).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia com base no teste de germinação, em análise de rotina, capaz de identificar sementes da Linhagem THI, tolerante ao herbicida Imazethapyr, com utilização de quantidade reduzida de herbicida para minimizar os riscos de contaminação de analistas e do meio ambiente.

Foram utilizadas sementes da linhagem tolerante ao herbicida Imazethapyr (THI) e das cultivares BRS 6 - Chui, BRS 7 - Taim, BRS Pelota, BRS Ligeirinho, BR-IRGA 410, IRGA 417. O trabalho realizado com base no teste de germinação, foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa, as sementes da cultivar BRS 6 - Chui e da linhagem THI foram hidratadas em solução com nove concentrações diferentes do herbicida, 0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 e 5,0% (v/v), diluídas em água destilada, contendo 106 g/l do principio ativo (2-(4,5-dihidro-4-metil-4-(1-metiletil)-5-oxo-1H-imidazol-2-ilo)-5-etil-3-piridinacarboxílico – Imazethapyr por quatro horas a 25° C. A seguir, as sementes foram lavadas em água corrente, submetidas à germinação em papel toalha umedecido com água e avaliadas no quarto e sétimo dias após a

semeadura. Na segunda etapa, as sementes da linhagem THI e das cultivares BRS 7 - Taim, BRS Pelota, BRS Ligeirinho, BR-IRGA 410 e IRGA 417 foram hidratadas por 4 horas em solução com concentração de 0,5% (v/v), diluída em água destilada. Após este tempo, as sementes foram lavadas em água corrente e submetidas à germinação em papel toalha umedecido com água e avaliadas no quarto dia após a semeadura.

Para cada concentração e/ou cultivar foram utilizadas quatro amostras de 50 sementes. O substrato foi umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 seu peso seco e os rolos acondicionados em sacos plásticos abertos na extremidade superior para facilitar a ventilação, evitar a contaminação do germinador e o contato entre rolos contendo a solução em diferentes concentrações. O germinador foi regulado à temperatura constante de 30°C. Todas as sementes foram submetidas a tratamento de superação de dormência utilizando pré-secagem a 50°C, durante 96 horas, em estufa com circulação de ar (BRASIL,1992).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial A x B (cultivar x concentração do herbicida). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Diferenças significativas foram observadas na avaliação aos 4 dias nas respostas da cultivar BRS 6 - Chui e Linhagem THI quando as sementes foram expostas a concentração 0,5 (v/v) do herbicida, onde nota-se que a Linhagem THI foi capaz de suportar a presença do herbicida, mantendo a percentagem de germinação semelhante à testemunha, mas com crescimento reduzido (Figura 1), e a cultivar BRS 6 -Chui teve germinação zero (Tabela 1). Concentrações abaixo de 0,5% (v/v), tanto a linhagem THI como a cultivar BRS 6 Chui suportaram a presença do herbicida, embora a concentração 0,1% tenha afetado a germinação da cultivar BRS Chui. Todavia, as concentrações acima de 0,5% afetaram tanto THI como BRS 6 –Chui.

Tabela 1- Dados médios da germinação (%) aos quatro e sete dias, de sementes de arroz, cultivar BRS 6 - Chui e Linhagem THI, após hidratação por 4 horas a 25°C, em soluções sem e com diferentes concentrações herbicida Imazethapyr (v/v).

CONCENTRAÇÃO (%)	GERMINAÇÃO			
	Análise 1 (4 dias)		Análise 2 (7 dias)	
	LINHAGEM THI	BRS CHUI	LINHAGEM THI	BRS CHUI
0,0	80 a A	84 a A	82 a A	89 a A
0,001	80 a A	74 a A	81 a A	83 a AB
0,005	80 a A	68 a A	79 a AB	79 a AB
0,01	80 a A	65 a A	78 a AB	69 a BC
0,05	75 a A	47 b B	74 a AB	54 a C
0,1	79 a A	26 b B	72 a AB	26 b D
0,5	79 a A	0 b C	65 a B	0 b E
1,0	10 a B	0 b C		
5,0	0 a C	0 a C		
	CV=11,86%		CV= 10,6%	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade (em cada análise).

Aos 7 dias as avaliações devem ser feitas com muito cuidado (Tabela 1), pois a cultivar BRS 6 - Chui foi afetada por todas as concentrações do herbicida, embora podendo até formar plântulas normais. A Linhagem THI apresentou diminuição de germinação na solução com concentração de 0,5% do herbicida imazethapyr diluído em água (v/v), evidenciando que foi afetada pelo herbicida. Outro aspecto a salientar, é que, a cultivar BRS 6 Chui aos 7 dias pode apresentar crescimento acentuado,

principalmente de raízes, podendo até formar plântulas normais, o que dificulta a avaliação nesta data.

Na segunda etapa do trabalho é possível observar o comportamento das cultivares BRS Pelota, BRS Ligeirinho, BRS 7 - Taim, BR-IRGA 410 e IRGA 417 em relação a concentração indicada na etapa anterior (Tabela 1). Constata-se que essa concentração inibiu a germinação das sementes das cultivares, com ocorrência de germinação, embora muito baixa, na cultivar BRS Pelota. Todavia, também é importante salientar que as cultivares aos 7 dias podem formar plântulas mais desenvolvidas, dificultando as avaliações, o que evidencia que as avaliações devem ser realizadas efetivamente com quatro dias após a semeadura em rolo.

Tabela 2 - Dados médios de germinação (%) aos quatro dias de sementes de arroz, de diferentes cultivares, após hidratação por 4 horas a 25°C em soluções sem e com 0,5% do herbicida Imazethapyr (v/v).

CULTIVAR	GERMINAÇÃO	
	COM HERBICIDA	SEM HERBICIDA
LTH	77 a A	80 a A
BRS PELOTA	1 b B	73 a A
BRS 7 - TAIM	0 b B	92 a B
BRS LIGEIRINHO	0 b B	64 a B
BR-IRGA 410	0 b B	87 a B
IRGA 417	0 b B	74 a C

CV= 8,2%

Médias seguidas da mesma letra minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Neste sentido, pode-se concluir que a concentração adequada para a identificação de sementes de arroz mutante tolerante é de 0,5 % (v/v) do herbicida imazethapyr diluído em água e avaliação aos quatro dias após a semeadura em rolo e germinador a 30 °C.

A metodologia da imersão pode ser adotada desde que a identificação seja realizada no momento recomendado e avaliação das plântulas normais conforme o teste de germinação de arroz (14 dias), pois estas plântulas avaliadas podem formar plantas normais posteriormente.

Porém, estudos sobre tempo de embebição da semente, temperatura do germinador e temperatura de embebição da semente devem ser realizados para uma melhor adequação da metodologia.

Referências Bibliográficas

- BRASIL, Ministério da agricultura do abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992, 365p.
- CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY, **Decision Document DD2002-40 Determination of the Safety of BASF's Imazethapyr Tolerant (CLEARFIELD™) Rice**. <http://www.inspection.gc.ca>
- DUKE, S.O. **Herbicide resistant crops**. Boca Raton. Flórida, Lewis Publishers. 1996. 420p.
- MAGALHÃES JR., A. M. de; FRANCO, D. F.; ANDRES, A.; ANTUNES, P.; LUZZARDI, R.; DODE, L. B.; TILLMANN, M. A. A.; SILVA, M. P. Método para identificação de semente de arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio. **Agropecuária Clima Temperado**, Pelotas: v. 3, n.1, p.31-38. 2000.
- NEDEL, J. L.; ASSIS, F. N. de; CARMONA, P. S.; Planta de arroz: morfologia e fisiologia. In: PESKE, S.T.; NEDEL, J. L.; BARROS, A. C. S. A. Ed. **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. p. 11- 66. 1998.

AVALIAÇÃO DAS METODOLOGIAS DE IDENTIFICAÇÃO DE SEMENTES TOLERANTE AO HERBICIDA IMAZETHAPYR, PAPEL UMEDECIDO E IMERSÃO EM SOLUÇÃO NA PRESENÇA DE ARROZ VERMELHO E PRETO

Márcio Pacheco da Silva⁽¹⁾, Francisco Amaral Villela⁽²⁾, [Ariano de Magalhães Jr.](mailto:ariano@cpact.embrapa.br)⁽¹⁾, Luciana Bica Dode⁽²⁾, Ângela Tilmman⁽²⁾. 1 EMBRAPA-Clima Temperado, Cx. Postal 406, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS. e-mail: ariano@cpact.embrapa.br 2 UFPel-FAEM, Campos Universitário, Cx. Postal 354, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS.

Palavras-chave: arroz, sementes, herbicida

As lavouras de arroz irrigado no Estado do Rio Grande do Sul apresentam-se altamente infestadas de plantas daninhas. A interferência destas plantas é um dos principais fatores de estagnação no patamar produtivo das lavouras no estado, afetando consideravelmente a rentabilidade da cultura. Neste contexto o arroz vermelho merece o principal destaque, pois está presente em quase toda área cultivada com arroz. A grande dificuldade para o controle do arroz vermelho está em ele pertencer a mesma espécie botânica do arroz cultivado e não existir nenhum produto seletivo capaz de controlar esta “planta daninha”. Os cruzamentos naturais, que ocorrem com grande frequência, tornam impossível tipificar essas plantas daninhas quanto a suas características morfológicas, sendo que o pericarpo vermelho das sementes é o que da maior segurança de identificação do arroz vermelho e, a cor preta das glumelas e presença de arista, sempre presente, a do arroz preto.

O desenvolvimento de linhagens mutantes tolerantes a herbicidas inibidores da enzima ALS, podem ser uma grande alternativa para o controle do arroz vermelho, o Imazethapyr é um herbicida do grupo das imidazolinonas, sistêmico e seletivo para soja, e não seletivo para o arroz, o mecanismo de ação deste grupo de herbicidas é a inibição não-competitiva da enzima acetolactato sintetase ou acetohydroxi sintetase (AHAS) na rota de síntese dos aminoácidos ramificados valina, leucina e isoleucina, os sintomas das plantas das plantas sob efeito dos herbicidas inibidores da ALS incluem paralisação do crescimento, amarelecimento dos meristemas e redução do sistema radical (VARGAS, 1999). Uma única substituição do amino-ácido no gene da AHAS, é suficiente para alterar o local obrigatório para imidazolinonas, tal que o herbicida imazetahapyr não iniba mais a AHAS, resultando em um fenótipo tolerante ao herbicida (CFIA, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar as duas metodologias desenvolvidas de identificação de sementes tolerante ao herbicida Imazethapyr, papel umedecido e imersão em solução na presença de arroz vermelho e preto.

Foram utilizadas sementes da linhagem tolerante ao herbicida Imazethapyr (THI) e das cultivares BRS 7 - Taim, BR-IRGA 410, IRGA 417, e arroz selvagem vermelho e Preto. As sementes foram submetidas ao tratamento de superação de dormência utilizando pré-secagem a 50° C, por 96 horas em estufa com circulação de ar (BRASIL, 1992). O método do papel umedecido foi o primeiro a ser avaliado, onde as sementes foram submeidas a germinação em papel toalha umedecido na solução com concentração do herbicida Imazethapyr contendo 106 g/l do principio ativo (2-(4,5-dihidro-4-metil-4-(1-metiletil)-5-oxo-1H-imidazol-2-ilo)-5-etil-3-piridinacarboxílico - Imazethapyr a 0,001 % (v/v) diluída em água destilada. As avaliações foram feitas aos 7 dias após a semeadura.

O segundo método avaliado foi da imersão em solução, onde as sementes foram colocadas em solução com concentração do herbicida Imazethapyr a 0,5 %