**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Bioativador em culturas monocotiledôneas: avaliações bioquímicas, fisiológicas e da
produção**

Willian Rodrigues Macedo

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de
Plantas

**Piracicaba
2012**

Willian Rodrigues Macedo
Engenheiro Agrônomo

Bioativador em culturas monocotiledôneas: avaliações bioquímicas, fisiológicas e da produção

Orientador:
Prof. Dr. **PAULO ROBERTO DE CAMARGO E CASTRO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Macedo, Willian Rodrigues

Bioativador em culturas monocotiledôneas: avaliações bioquímicas, fisiológicas e da produção / Willian Rodrigues Macedo.- - Piracicaba, 2012.
79 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Bioquímica vegetal 2. Cereais 3. Desenvolvimento vegetal 4. Fisiologia vegetal
5. Forragem 6. Inseticidas sistêmicos 7. Metabolismo vegetal 8. Sementes I. Título

CDD 633
M141b

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais, Edilson e Érica, pelo incondicional apoio nas minhas escolhas; ao meu irmão Davi por tudo o que representa como indivíduo; e a Gisele por compartilhar de seu amor, companheirismo e amizade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao professor Paulo Roberto de Camargo e Castro, pelo apoio, orientação, confiança e significativa contribuição em minha formação.

Aos colegas e amigos de pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, da Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, que me auxiliaram ou compartilharam a árdua tarefa de fazer Ciência.

Ao Programa de Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela oportunidade concedida para a realização do curso de Doutorado.

Aos professores do referido programa, pela participação ativa na minha formação.

Aos professores, amigos e alunos da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná.

À Solizete, secretária do programa, por todo o auxílio prestado durante o curso.

À Universidade de São Paulo (USP), representada pelo Campus da Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, meus sinceros agradecimentos.

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

"... Minha vida é andar por esse país
Pra ver se um dia descanso feliz
Guardando as recordações
Das terras onde passei
Andando pelos sertões
E dos amigos que lá deixei
Mar e terra, inverno e verão
Mostro o sorriso
Mostro alegria, mas eu mesmo não
E a saudade no coração ..."

Luíz Gonzaga

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Bioativadores	15
1.1.1 Efeitos fisiológicos do tiametoxam	17
1.1.2 Efeitos bioquímicos do tiametoxam	17
1.1.3 Efeitos produtivos do tiametoxam	19
1.2 Justificativa e Objetivos	20
Referências	20
2 TIAMETOXAM: MOLÉCULA MODERADORA DO CRESCIMENTO, METABOLISMO E PRODUÇÃO DE TRIGO	23
Resumo	23
Abstract	23
2.1 Introdução	23
2.2 Desenvolvimento	25
2.2.1 Material e Métodos	25
2.2.2 Resultados e Discussão	28
2.3 Conclusões	33
Referências	34
3 RESPOSTAS NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR, METABOLISMO DO NITROGÊNIO E QUALIDADE NUTRICIONAL DE BRAQUIÁRIA, COM O USO DE TIAMETOXAM	37
Resumo	37
Abstract	37
3.1 Introdução	37
3.2 Desenvolvimento	39
3.2.1 Material e métodos	39
3.2.2 Resultados e Discussão	42
3.3 Conclusões	46

Referências	46
4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL, FISIOLÓGICA, BIOQUÍMICA E PRODUTIVA DE PLANTAS DE ARROZ SUBMETIDAS AO TIAMETOXAM.....	50
Resumo	50
Abstract	50
4.1 Introdução	50
4.2 Desenvolvimento	52
4.2.1 Material e Métodos.....	52
4.2.2 Resultados e Discussão.....	54
4.3 Conclusões	57
Referências	57
5 TIAMETOXAM NO CULTIVO DO MILHO: AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM AMBIENTE CONTROLADO E NO CAMPO	60
Resumo	60
Abstract	60
5.1 Introdução	60
5.2 Desenvolvimento	61
5.2.1 Material e Métodos.....	61
5.2.2 Resultados e Discussão.....	64
5.3 Conclusões	67
Referências	67
ANEXOS.....	69

RESUMO

Bioativador em culturas monocotiledôneas: avaliações bioquímicas, fisiológicas e de produção

Estudos sobre agroquímico geralmente reportam sobre sua eficiência no controle de pragas. Como no caso do tiametoxam, um inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides que atua inibindo a ação do receptor nicotínico acetilcolina (nAChR) dos insetos levando-os à morte. Porém, essa molécula apresenta ações fisiológicas nas plantas capazes de influenciar o desenvolvimento das culturas, e quando um agroquímico apresenta essa atividade é comumente chamado de bioativador, devido ao aumento do vigor e da produtividade das plantas tratadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos bioquímicos, fisiológicos e produtivos de doses crescentes do tiametoxam, aplicado via tratamento de sementes, nos cultivos de trigo, braquiária, arroz e milho. Experimentos com trigo, braquiária e arroz foram conduzidos em vasos, sob casa-de-vegetação, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, Piracicaba, SP. Enquanto a condução da cultura do milho ocorreu em casa-de-vegetação, do Departamento de Agronomia no CEDETEG/UNICENTRO, e em área de plantio comercial, ambos no município de Guarapuava, PR. Durante a realização dos experimentos foram mensuradas características biométricas de: índice de emergência; altura de plantas; índice de clorofilas (SPAD); massa seca da parte aérea; comprimento, área e volume radicular. Parâmetros bioquímicos como: atividade de nitrato redutase; fenilalanina amônia-liase; conteúdo de proteína total; pigmentos fotossintéticos e conteúdo de nutrientes foliares. Parâmetros sobre a qualidade nutricional da braquiária também foram analisadas. E ao final do ciclo reprodutivo dos cereais foram determinados alguns parâmetros relacionados à produção. Foi constatado que o tiametoxam interferiu sobre diversos parâmetros bioquímicos, em todas as culturas testadas, com destaque para a potencial ação dessa molécula sobre atividades de nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase, bem como sobre o conteúdo de proteína total em trigo e braquiária, além de alterar o teor de pigmentos fotossintéticos foliares em arroz e milho. Para as culturas do trigo e da braquiária foram notadas modificações severas sobre a fisiologia e produção. Concluiu-se que a aplicação de tiametoxam, via tratamento de sementes, foi responsável por moderar o metabolismo e o desenvolvimento vegetal, até o final do ciclo da planta, de maneira que as plantas submetidas a essa molécula expressaram maior vigor e, conseqüentemente, apresentaram maior aptidão para incrementar sua produção.

Palavras-chave: Tiametoxam; Metabolismo; Cereais; Forragem

ABSTRACT

Bioactivator in monocot crops: biochemical, physiological and production analysis

Studies on agrochemicals generally report on their effectiveness in pests control. As with thiamethoxam, a systemic insecticide of the neonicotinoid group that acts by inhibiting the action of acetylcholine nicotinic receptor (nAChR) of insects, leading to death. But this molecule which has physiological effect in plants, can influence crop development; and when an agrochemical presents this activity, it is commonly called bioactivator due to increased vigor and productivity of the treated plants. The aim of this study was to evaluate: biochemical, physiological and productive effects of increasing doses of thiamethoxam applied as seed treatment in wheat, Brachiaria, rice and corn crops. Experiments with wheat, rice and Brachiaria were conducted in pots under greenhouse, in the Horto Experimental of Biological Sciences Department of ESALQ/USP, Piracicaba, SP. While one corn crop was conducted in a greenhouse of the Department of Agronomy at CEDETEG / UNICENTRO, the other one was conducted in the field, both in Guarapuava, PR. We measure the biometric characteristics: emergence index, plant height, chlorophyll index (SPAD), shoot dry weight, length, root area and volume. Biochemical parameters such as: nitrate reductase activity, phenylalanine ammonia-lyase, total protein content, photosynthetic pigments and leaf nutrient content. Parameters on the nutritional quality of Brachiaria were also analyzed. And at the end of the reproductive cycle of cereals some parameters related to production were determined. It was found that thiamethoxam interfered in various biochemical parameters in all tested crops, highlighting the potential action of this molecule on activities of nitrate reductase and phenylalanine ammonia-lyase, as well as the total protein content in wheat and pasture, besides changing the content of photosynthetic pigments in rice and corn leaves. For wheat and Brachiaria crops severe changes were noted on the plant physiology and production. It is concluded that the application of thiamethoxam, via seed treatment, was responsible for moderating metabolism and plant development, until the end of the life cycle of the plant, so that the plants under this molecule expressed greater vigor and thus had higher ability to increase production.

Keywords: Thiamethoxam; Metabolism; Cereal; Grass

1 INTRODUÇÃO

O modelo de produção agrícola atual exige cada vez mais a utilização de ferramentas tecnológicas para fomentar a produtividade, promover uma agricultura com respeito à saúde e ao ambiente e que propicie incremento de renda ao produtor rural e garantia de segurança alimentar à população. Neste contexto a utilização de agroquímicos em cultivos tropicais caracteriza-se como uma ferramenta auxiliar, mas essencial, para alcançar tais objetivos, e a busca de princípios ativos com maior eficácia são de extrema relevância ao futuro agrícola (TIERRA FÉRTIL, 2006).

Os agroquímicos normalmente são avaliados com relação a sua eficiência no controle de pragas e doenças, entretanto alguns produtos podem promover efeitos, ainda pouco conhecidos, capazes de modificar a fisiologia, o metabolismo e a morfologia vegetal, que irão influenciar no crescimento e rendimento das plantas. De acordo com Castro (2006) os agroquímicos de controle hormonal podem ser classificados em três principais grupos: os biorreguladores, compostos orgânicos, não nutrientes, que aplicados na planta a baixas concentrações, promovem, inibem ou modificam processos morfológicos e fisiológicos do vegetal, pertencem a este grupo as auxinas, giberelinas, citocininas, retardadores e etileno; os bioestimulantes, compostos originados da mistura entre biorreguladores, ou combinação entre biorregulador e outros compostos de natureza química diferente (aminoácidos, vitaminas, sais minerais); e os bioativadores, substâncias orgânicas complexas modificadoras do crescimento capazes de atuar indiretamente na síntese de precursores de hormônios vegetais que levam à síntese hormonal e a aumentos na produção.

1.1 Bioativadores

Alguns resultados de pesquisa demonstram respostas expressivas do uso de agroquímicos sobre a fisiologia e bioquímica vegetal, como Barbosa et al. (2002) em avaliação de sementes de feijão tratadas com os inseticidas imidacloprid e tiametoxam, constataram melhorias nas características agrônômicas e consequentemente, incrementos na produtividade. Dash e Patnaik (2007) em cultivos de arroz, com a dose de 400g do inseticida triazophos por hectare, aplicado aos 30 e 60 dias após transplante, observaram aumentos na produção de grãos em 23,15 e 39,65% para os cultivares Surendra e Jaya, respectivamente, quando comparados ao

controle. Enquanto Gonias et al. (2008) sugerem que plantas de algodoeiro tratadas com 52,3 g de imidaclopride por hectare, sofreram menos estresse quando submetidas a altas temperaturas.

Porém, dentre os agroquímicos já pesquisados, com potencial ação bioativadora, destacam-se dois potentes inseticidas sistêmicos, o aldicarb e o tiametoxam (CASTRO, 2006). O aldicarb (2-metil-2-(metilthio) propionaldeído-O-metilcarbamoiloxime) pertence ao grupo químico do metilcarbamato de oxima (ANVISA, 2008a) é o bioativador mais difundido e estudado. Nas décadas de 60-70 em algodoeiro, verificaram-se efeitos deletérios deste inseticida sobre o desenvolvimento das plantas (REDDY; WANG; REDDY, 1997). Porém, em trabalhos posteriores, foram relatados efeitos positivos no crescimento, produtividade e qualidade da fibra de algodão, quando a planta não se encontrava sob pressão de ataque dos insetos (REDDY; WANG; REDDY, 1997; REDDY; REDDY; WANG, 1997).

No Brasil, em feijoeiro ‘Carioca’, aldicarb aumentou significativamente a altura das plantas, o número de flores, o número e massa de vagens e de sementes (CASTRO et al., 1995). Já em sementes de soja ‘BRS 184’ após aplicação de 9,5 kg ha⁻¹ do inseticida aldicarb, não foi observado efeito fisiológico significativo sobre o sistema radicular das plântulas (CASTRO et al., 2008).

Ademais, a síntese de novas moléculas mais eficazes e menos agressivas ao meio ambiente, levam a análises sobre os potenciais efeitos fisiológicos sobre cultivos de interesse agrícola, como no caso do tiametoxam, um inseticida do grupo dos neonicotinóides (ANVISA, 2008b), que apresenta escassez de informações sobre seu modo de ação fisiológica nas plantas.

O tiametoxam [3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine] foi sintetizado em 1991 e comercializado a partir de 1998, tem como principais características físico-químicas: solução cristalina, de baixo peso molecular e elevada solubilidade em água (MAIENFISCH et al., 2001a; MAIENFISCH et al. 2001b) conferindo-lhe elevada disponibilidade no solo com eficiente absorção pelas raízes e rápido transporte no sistema vascular vegetal (CLAVIJO, 2008b)

É utilizado comercialmente no controle de pragas iniciais, insetos sugadores e alguns mastigadores, com ação nos receptores nicotínicos da acetilcolina (MAIENFISCH et al., 2001a), interrompe as sinapses neurais e impede a transmissão dos impulsos nervosos (CLAVIJO, 2008a). Tem como vantagens em relação ao aldicarb: menor toxicidade e maior espectro de ação bioativadora, observado para culturas de arroz, feijão, citros, café, cana-de-açúcar e soja

(CALAFIORI; BARBIERI, 2001; DINARDO-MIRANDA; FERREIRA, 2004; TAVARES et al., 2007; ACEVEDO; CLAVIJO, 2008; PEREIRA, 2010).

1.1.1 Efeitos fisiológicos do tiametoxam

Avaliações fisiológicas de tiametoxam sobre as plantas têm por intuito determinar possíveis alterações no crescimento vegetal, levando posteriormente a incrementos na produção. Sendo as fases iniciais de desenvolvimento dos cultivos essenciais para o sucesso da lavoura, neste contexto, o tratamento de sementes é uma prática que favorece um bom desenvolvimento inicial das plantas (ELBERT et al., 2008). Ao ponto de evitar o decréscimo na porcentagem de germinação, aumento da emergência de plântulas anormais e redução no vigor das plântulas.

Trabalhos com tratamento de sementes utilizando tiametoxam em diversas culturas, têm demonstrado incrementos no vigor das plântulas tratadas, com relação ao controle não tratado. Em soja, Tavares et al. (2007) ao aplicarem este inseticida, obtiveram como resposta aumentos na área foliar e radicular, resultado que corrobora pesquisa de Acevedo e Clavijo (2008) que observaram, em sementes de soja, 24 horas após aplicação de tiametoxam (2 g kg^{-1} de sementes), germinação 6% superior ao tratamento controle.

Para cana-de-açúcar, Dinardo-Miranda e Ferreira (2004), ao aplicarem tiametoxam, verificaram aumentos significativos na massa do colmo e na produção de açúcar, respectivamente, em 19,4% e 32,2%, quando comparados ao controle.

Os resultados dispostos acima servem como parâmetro para aferir alguns mecanismos que justifiquem esses incrementos, tendo os ganhos do desenvolvimento radicular fator responsável pelas maiores absorções hídricas e nutricionais das plantas (CASTRO, 2006).

Porém, avaliações em culturas economicamente relevantes são necessárias, para observar suas respostas fisiológicas e bioquímicas quando submetidas a este bioativador, de modo a caracterizar sua atividade nas plantas e verificar seu potencial uso na agricultura.

1.1.2 Efeitos bioquímicos do tiametoxam

A análise do metabolismo vegetal é uma ferramenta útil para determinação do comportamento vegetal, para uma determinada via de desenvolvimento, seja para compreender seus mecanismos de crescimento ou de defesa. Sendo que o entendimento da cinética enzimática, para determinadas proteínas, permite quantificar e qualificar as taxas de reações bioquímicas, de

maneira a prover todos os processos vitais das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2009). Aplicando-se esse conhecimento na prática agrícola, precisamente na compreensão de efeitos dos agroquímicos em cultivos, pode-se gerar novas informações que otimizam o uso dos mesmos.

O tratamento de sementes com agroquímicos de controle hormonal pode aumentar a atividade metabólica das sementes, fato este de grande interesse agrônomo, pois permitirá uma homogeneização nos índices de germinação e levará a um melhor estande na lavoura.

Estudos atuais têm revelado efeitos significativos do tiametoxam sobre atividade enzimática durante o processo de germinação (HORII; McCUE; SHETTY, 2007). Porém, poucas referências apresentam relações entre o metabolismo enzimático das plantas com as alterações fisiológicas e as variáveis produtivas. Torna-se essencial integrar análises metabólicas, fisiológicas e produtivas, como: nutrição mineral, metabolismos primário e secundário, e índices de colheita.

Com relação à nutrição vegetal, sabe-se que a assimilação do nitrogênio é um processo fundamental, pois controla o crescimento e desenvolvimento das plantas, e apresenta efeitos marcantes sobre a fitomassa e produtividade final das culturas (FERREIRA et al., 2002). Em condições naturais, o nitrogênio é fixado pelas plantas através do amônio e do nitrato, preferencialmente pelo segundo, sendo este reduzido a nitrito e em seguida convertido a amônia e transformado em aminoácido para ser utilizado pelas plantas, como constituinte de diversos compostos vegetais, tendo a enzima nitrato redutase (NR) como primeira catalisadora deste processo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Já com relação ao metabolismo secundário, destaque para os compostos fenólicos, um grupo heterogêneo de compostos com função de defesa vegetal, onde se destaca a fenilalanina, tendo a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) agindo num ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário, com atividade relevante na formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Acevedo et al. (2008) avaliaram a atividade de enzimas relacionadas a germinação: glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), guaiacol peroxidase (GPX) e α -amilase, nas culturas do algodão, arroz, feijão, milho e soja, onde observaram incrementos na atividade destas após embebição das sementes em tiametoxam. Horii et al. (2007) também verificou efeitos favoráveis, com o uso de tiametoxam, para o conteúdo fenólico, atividade antioxidante, atividade de

glucose-6-fosfato desidrogenase, e atividade de guaiacol peroxidase, em plantas ervilha, milho e soja.

1.1.3 Efeitos produtivos do tiametoxam

Após visualizar alguns mecanismos de atuação da molécula do tiametoxam sobre a fisiologia e bioquímica das plantas, pode-se considerar que a melhoria nos índices produtivos das culturas seria uma resposta em cadeia, promovida durante seu desenvolvimento (Figura 1).

Figura 1.1 – Representação esquemática do mecanismo de ação do tiametoxam (CASTRO, 2006)

Onde se constata que, em plantas, o tiametoxam induz maior atividade enzimática, aumenta o teor de alguns hormônios vegetais, que por sua vez incrementam a taxa de germinação de sementes, induzindo o desenvolvimento radicular, e consequentemente, maior vigor em plântulas. Esse sistema radicular mais desenvolvido proporciona aumento no teor de citocinina, em função do aumento dos locais de síntese e também induz o aumento de absorção de nutrientes e água, promove maior resistência estomática, maior atividade do metabolismo primário, ocasionando aumento no desenvolvimento vegetal, e maior atividade do metabolismo secundário, proporcionando maior resistência aos estresses. A interação desses eventos com espécies,

cultivares e condições edafoclimáticas, favorecem aumentos na produtividade das plantas (CASTRO, 2006).

1.2 Justificativa e Objetivos

Esse trabalho justifica-se pelo fato de haver grande utilização do inseticida tiametoxam na agricultura brasileira, e análises específicas desse inseticida, no sentido de alterar o metabolismo e o desenvolvimento de plantas. Constituindo-se de grande importância para a caracterização da ação bioativadora dessa molécula, a fim de possibilitar a criação de uma nova tecnologia aplicável à agricultura.

Objetivamos com esse trabalho avaliar o efeito de doses crescentes do tiametoxam em plantas trigo, braquiária, arroz e milho, sobre parâmetros metabólicos, fisiológicos e produtivos, de cada cultura.

Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronómica en Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: um nuevo concepto em vigor e produtividade. Bogotá: Syngenta, 2008. p.43-92.

ACEVEDO, J.C.; ZAMORA, H.; CLAVIJO, J. Investigación bíoquímica en Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: um nuevo concepto em vigor e produtividade. Bogotá: Syngenta, 2008. p.93-122.

ANVISA. **Monografias de Produtos Agrotóxicos (Aldicarb)**. Brasília. 2008a. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/a07.pdf>>. Acesso em: 31 mar 2010.

ANVISA. **Monografias de Produtos Agrotóxicos (Tiametoxam)**. Brasília. 2008b. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/t048.pdf>>. Acesso em: 31 mar 2010.

BARBOSA, F.R.; SIQUEIRA, K.M.M.; SOUZA, E.A.; MOREIRA, W.A.; HAJI, F.N.P.; ALENCAR, J.A. de. Efeito do controle químico da mosca-branca na incidência do vírus-do-mosaico-dourado e na produtividade do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n.6, p. 879-883, 2002.

CALAFIORI, M.H.; BARBIEIRI, A.A. Effects of seed treatment with insecticide on the germination, nutrients, nodulation, yield and pest control in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) culture. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 26, n. 1, p. 97-104, 2001.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CASTRO, G.S.A.; BOGIANI, J.C.; SILVA, M G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C.A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 43, n.10, p. 1311-1318, 2008.

CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical**. Piracicaba: Série Produtor Rural, ESALQ – DIBD, 2006. 46p.

CASTRO, P.R.C.; SOARES, F.C.; ZAMBON, S.; MARTINS, A.N. Efeito do Aldicarb no desenvolvimento do feijoeiro cultivar carioca. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 20, p. 63-68, 1995.

CLAVIJO, J. Descripción del producto Cruiser®. In: _____. **Tiametoxam: um nuevo concepto em vigor e produtividade**. Bogotá: Syngenta, 2008a. p.11-15.

CLAVIJO, J. Mecanismos de acción fisiológica de Cruiser®. In: _____. **Tiametoxam: um nuevo concepto em vigor e produtividade**. Bogotá: Syngenta, 2008b. p.139-149.

DASH, D.; PATNAIK, P. Effect of insecticide on grain yield in rice as influenced by varieties and graded nutrient levels under field condition. **Journal of Plant Protection and Environment**, Bhubaneswar, v. 4, n. 2, p. 70-73, 2007.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FERREIRA, J.M.G. Efficacy of inseticides to control root froghopper, *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera: Cercopidae), in sugarcane. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 22, n. 3, p. 35-39, 2004.

ELBERT, A.; HASS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, p. 1099-1105, 2008.

FERREIRA, V.M.; MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M.; OLIVEIRA, L.E.M.; PURCINO, A.A.C. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

GONIAS, E.D.; OOSTERHUIS, D.M.; BIBI, A.C. Physiologic response of cotton to the insecticide imidacloprid under high-temperature stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 27, p. 77-82, 2008.

HORII, A.; MCCUE, P.; SHETTY, K. Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 3, p. 623-632, 2007.

MAIENFISCH, P.; ANGST, M.; BRANDL, F.; FISCHER, W.; HOFER, D.; KAYSER, H.; KOBEL, W.; RINDLISBACHER, A.; SENN, R.; STEINE-MANN, A.; WIDMER, H. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, p. 906–913, 2001a.

MAIENFISCH, P., HUERLIMANN, H.; RINDLISBACHER, A. GSELL, L.; DETTWILLER, H.; HAETTENSCHWILER, J.; SIEGER, E.; WALTI, M. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, p. 165–176, 2001b.

PEREIRA, M.A. **Tiametoxam em plantas de cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e café:** parâmetros de desenvolvimento e aspectos bioquímicos. 2010. 124p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

RAIJ, B.van. **Fertilidade do solo e adubação.** Campinas: Agronômica Ceres; Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato, 1991. 343p.

REDDY, V.R.; WANG, Z.; REDDY, K.R. Growth responses of cotton to aldicarb and temperature. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 38, p. 39-48. 1997a.

REDDY, V.R.; REDDY, K.R.; WANG, Z. Temperature and aldicarb effects on cotton root growth and development. **Biotronics**, Fukuoka, v. 26, p. 1-11. 1997b.

RIBEIRO, A.S. Tratamento de sementes com fungicidas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.4, p. 381-409, 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Trad. Santarém, E.R. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TAVARES, S.; CASTRO, P.R.C.; RIBEIRO, R.V.; ARAMAKI, P.H. Avaliação dos efeitos fisiológicos de tiametoxam no tratamento de sementes de soja. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 82, n. 1, p.47-54. 2007.

TIERRA FÉRTIL, El futuro de la agricultura y los agroquímicos. **Boletín Informativo.** Miami: CropLife Latin America, 2006. 3p.

2 TIAMETOXAM: MOLÉCULA MODERADORA DO CRESCIMENTO, METABOLISMO E PRODUÇÃO DE TRIGO

Resumo

O tratamento de sementes com pesticidas é uma prática agrícola que provê as plântulas de proteção contra pragas e doenças, entretanto poucas comunicações científicas se referem aos efeitos fisiológicos proporcionados por estes produtos durante o ciclo de vida da planta. Há indícios de que o tiametoxam promova maior vigor às plantas que levam a incrementos na produção vegetal, para tal, em casa de vegetação, foram testadas as doses: 0; 8,75; 17,50, 35,00 e 70,00 g i.a. de Cruiser® 350 FS por 100 kg de sementes de trigo, com posterior avaliação de variáveis biométricas, metabólicas e de produção. Observamos que o tiametoxam influenciou o crescimento inicial das plantas, por incrementar o desenvolvimento radicular, alterou a distribuição de fotoassimilados, aumentou a concentração de proteína total solúvel, reduziu a atividade de nitrato redutase e elevou a atividade da fenilalanina amônia-liase, até certa dose. Com relação aos parâmetros produtivos, o inseticida aumentou linearmente a massa seca da espiga, o número de perfilhos férteis, resultando em ganhos no índice de colheita. Esse trabalho sugere que a molécula do tiametoxam apresenta ação bioativadora por alterar a fisiologia vegetal e expressar maior potencial de produção.

Palavras-chave: Inseticida; Vigor; Bioativador; Índice de colheita

Abstract

Treating seeds with pesticides is a practice that confers seedlings protection against pests and diseases, however little research has been carried out on the physiological effects generated by these products during the life cycle of the plant. There is evidence that thiamethoxam promotes greater vigor to plants yielding, greater crop production, therefore, in a greenhouse, doses of Cruiser® 350 FS (0; 8.75; 17.50; 35.00 and 70.00 g a.i. per 100 kg wheat seeds) were tested, with subsequent evaluation of biometric, metabolic and production variables. The use of thiamethoxam influenced the early growth of plants by increasing root development, altered the distribution of photoassimilates, increased the concentration of total soluble protein, reduced the nitrate reductase activity and increased the phenylalanine ammonia-lyase activity, to a certain dose. With respect to production, the insecticide increased linearly the spike dry weight, the number of fertile tillers, resulting in gains in harvest. This work suggests that the molecule of thiamethoxam plays the role of a bioactivator by altering plant physiology and showing potential to increase production.

Keywords: Insecticide; Vigor; Bioactivator; Harvest index

2.1 Introdução

Os pesticidas normalmente são estudados com relação a sua eficácia no controle de pragas e doenças, entretanto moléculas recentemente sintetizadas têm levado a efeitos fisiológicos nas plantas, capazes de modificar seu metabolismo e morfologia, de modo a influenciar o seu

crescimento e rendimento (CASTRO et al., 2008; CASTRO et al., 2009), quando o agroquímico apresenta essa atividade pode ser classificado como bioativador (CASTRO et al., 2009). Entre essas moléculas, há destaque para o tiametoxam [3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine], um inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides com grande espectro de ação a baixas concentrações (MAIENFISH, et al., 2001a; MAIENFISH, et al., 2001b; SIRCHIO; SUTTON, 2007; PYNEBURG; SIKKEMA; GILLARD, 2011), para controle de insetos sugadores e alguns mastigadores, por apresentar excelente absorção e translocação nas plantas (MAIENFISH, et al., 2001a; MAIENFISH, et al., 2001b), é comercializado no Brasil sob marcas Actara[®] (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP) para aplicação foliar e no solo, e Cruiser[®] (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP) para tratamento de sementes.

O uso de pesticidas no tratamento de sementes é uma agrotecnologia que apresenta diversos benefícios, como: controle de doenças e pragas iniciais da cultura, mitigação dos impactos ambientais e redução de exposição do operador aos produtos (SIRCHIO; SUTTON, 2007; ELBERT et al., 2008). Além de sua ação inseticida o tiametoxam é capaz de potencializar a produção agrícola (SIRCHIO; SUTTON, 2007; CASTRO et al., 2009; PYNEBURG; SIKKEMA; GILLARD, 2011), atualmente é referenciado na literatura que o uso desta molécula tem promovido possíveis ganhos de vigor em plântulas de ervilha, milho e soja (HORII; McCUE; SHETTY, 2007), maior germinação, produção de grãos e produção de nódulos viáveis em feijoeiro (CALAFIORI; BARBIERI, 2001), além de proteger plântulas de soja contra condições de estresse abiótico (seca), quando aplicada via tratamento de sementes (CATANEO et al., 2010). Castro et al. (2007) reportaram que este aumento em vigor na planta, promovido pelo pesticida, não se dá diretamente por ação hormonal, tendo em vista que o mesmo não apresentou atividade de giberelina, auxina ou citocinina sobre as plantas, portanto o tiametoxam não pode ser classificado como um biorregulador.

Porém, existem controvérsias, na literatura, sobre os efeitos fisiológicos de inseticidas em plantas. Tendo em vista que não houve variabilidade no crescimento e produção de milho, quando submetido a doses de tiametoxam e clothianidin (WILDE et al., 2007), como também não ocorreram alterações na germinação, crescimento de parte aérea e de raiz, em plantas de soja (CASTRO et al., 2008).

Dos escassos trabalhos publicados sobre efeitos do tiametoxam no vigor das plantas, é restrita a informação do seu uso em espécies monocotiledôneas. Mas já foi reportado que o inseticida triazofós (organofosforado), associado a sulfato de zinco, promoveu ganhos de produção na cultura do arroz (DASH; PATNAIK, 2007), e que o inseticida imidacloprid, um neonicotinóide, aumentou significativamente o crescimento foliar em cevada, após as plantas passarem por um curto período de seca (THIELERT, 2006). Já para a cultura do trigo, tem-se a informação de que a resposta fisiológica de pesticidas sobre as plantas é dependente do produto utilizado, bem como da variedade estudada (KHALEEQ; KLATT, 1986).

O trabalho teve por objetivo verificar os efeitos de doses crescentes do inseticida Cruiser® 350 FS, sobre: emergência (%); altura (cm) e massa seca da parte aérea (g); comprimento (cm), área (cm²) e volume (cm³) de raiz; teor de clorofila (SPAD); massa seca de espigas (g), número de perfilhos férteis (planta), massa de 1000 grãos (g) e índice de colheita (%), além de análise da concentração de proteína total solúvel e atividades enzimáticas da nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase na cultura do trigo ‘IAC-370’.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” em Piracicaba, SP, Brasil (22° 42' S e 47° 38' W), durante os meses de maio a setembro de 2010. A semeadura foi realizada em vasos plásticos, com capacidade para 20 dm³, preenchidos com uma mistura de argila, silte e areia, respectivamente na proporção: 267, 113, 620 g kg⁻¹, e com as seguintes características químicas: pH (CaCl₂): 6,3; Matéria Orgânica: 12 g dm⁻³; P: 31 mg dm⁻³; K: 2,6 mmol dm⁻³; Ca: 32 mmol dm⁻³ e Mg: 7 mmol dm⁻³. Este solo foi previamente tratado com corretivos de acidez até atingir saturação de base de 60% e adubado de acordo com recomendação para a cultura (RAIJ et al., 1996). A temperatura dentro da casa-de-vegetação durante o experimento variou entre 13,4 °C e 29,6 °C. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado com aplicação de 5 doses do tiametoxam (TMX), com 10 repetições.

As sementes de trigo (*Triticum aestivum* L. cv. IAC 370 – Armageddon) foram tratadas com doses crescentes de Cruiser 350FS®, empregando-se um controle, sem aplicação do produto, 8,75; 17,50; 35,00 e 70,00 g i.a. de TMX, diluídas em 800 mL de água para 100 kg de sementes.

Em cada vaso (unidade experimental) foram plantadas 10 sementes de trigo, a fim de se avaliar o índice de emergência sete dias após o plantio (DAP) e aos 14 DAP, foi realizado um desbaste homogêneo para manter em cada vaso somente 4 plântulas, os vasos foram constantemente irrigados, mantendo-se a umidade do solo em aproximadamente $\frac{3}{4}$ da capacidade de campo, utilizando o método da pesagem (GHELFILHO, 1988). Todo o desenvolvimento das plantas ocorreu na ausência de pragas, para maior controle experimental do ensaio.

Foram utilizados 20 mini-rizotrons, tubos de PVC com diâmetro de 0,26 m e altura de 0,60 m cortados ao meio no sentido longitudinal, que apresentam em sua face plana uma lâmina de vidro com 5 mm de espessura, preenchidos com 16 dm³ de areia (CASTRO et al., 2008), permitindo a visualização e análise do desenvolvimento radicular. Para cada tratamento havia quatro repetições, todos foram inclinados em 20° para favorecer o geotropismo radicular junto ao vidro, e para evitar inibição do crescimento radicular pela luz, e acúmulo de algas, foram justapostas ao vidro placas de laminado escuro. Os mesmos foram irrigados em sua capacidade de campo para em seguida proceder-se a semeadura, cresceram duas plântulas por mini-rizotron, as quais tiveram medições diárias até a primeira raiz atingir a base do mesmo. Ao final de 12 dias após a emergência da primeira radícula, encerraram-se as medições e foi utilizado o software Safira[®] para aferições do comprimento total, área e volume radicular aparente (JORGE; RODRIGUES, 2008).

Medições da altura (cm) foram realizadas dos 14 aos 42 DAP, tempo que compreendeu o crescimento inicial, desde o início do perfilhamento (estádio 1) até a fase de espiga totalmente desenvolvida, porém ainda envolta na bainha (estádio 10) (LARGE, 1954), as medidas foram tomadas da superfície do solo até a extremidade da folha mais longa do colmo principal. Aferições do teor de clorofila foliar foram realizadas no estágio 10 de desenvolvimento da cultura (LARGE, 1954), com auxílio do clorofilômetro (SPAD 502, Minolta Co. Ltd., Osaka, Japan), as medidas foram obtidas na região mediana do limbo foliar da 1ª folha totalmente expandida, com média de 4 leituras por vaso para determinar o valor SPAD (LOPEZ-BELLIDO; SHEPHERD; BARRACLOUGH, 2004). No final do ciclo aos, 108 DAP, todo o material da parte aérea da planta, com exceção das espigas, foi seco em estufa por 72 h a 60 °C, obtendo-se a massa seca da parte aérea (g).

As análises bioquímicas de proteína total solúvel (PTS), atividade de nitrato redutase (NR) e fenilalanina amônia-liase (PAL) ocorreram no estágio 10 de Feekes (LARGE, 1954). A coleta

das folhas frescas foi realizada entre 8:00h e 9:00 h, em seguida o material foi acondicionado em caixas térmicas preenchidas com gelo e transportadas até o laboratório, primeiramente o material foi superficialmente higienizado com água deionizada e seco com papel toalha, em seguida iniciaram-se as análises da atividade de NR e o material vegetal não utilizado foi acondicionado em frascos de vidro e congelado a -80°C para posterior análise da atividade da PAL e do conteúdo de PTS.

A atividade de nitrato redutase (EC 1.6.6.1) *in vivo* foi determinada de acordo com procedimento, modificado, descrito por Radin (1974), onde 100 mg de discos do tecido vegetal foram transferidos para tubos de ensaios contendo 3 mL de tampão fosfato, pH 7,4 + 200 mM de KNO_3 . Esses foram envoltos em papel alumínio, para evitar a passagem de luz, e posteriormente foram incubados em banho maria a 37°C , por 30 min. A reação foi paralisada pela adição de 1 mL de sulfanilamida (58 mM) a 1% em solução de HCl (2 mol L^{-1}), em seguida foi adicionado 1 mL de N- α -naftilenodiamina (1,3 mM), para reagir e colorir o nitrito. O nitrito (NO_2^-) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando-se a curva padrão de nitrito. A atividade enzimática foi diretamente relacionada a quantidade de NO_2^- e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1}$ de matéria fresca h^{-1} .

Análise da atividade de fenilalanina amônia-liase (EC 4.3.1.24), foi realizada segundo metodologia adaptada de Redmann et al. (1999), onde amostras de 100 mg das folhas foram maceradas com nitrogênio líquido em gral de porcelana, este macerado foi acondicionado em tubos eppendorf de 1,5 mL e centrifugados com 1 mL de tampão fosfato (pH 8,0) a 10000 rpm, por 10 min a 4°C . A reação ocorreu em tubos de ensaio incubados a 37°C por 1 h, com retirada de 400 μL desse extrato, e adição de 800 μL de tampão TRIS-HCL 0,5 M (pH 8,8) e 800 μL de L-phenylalanine (6 μM), a reação foi paralisada com a adição de 100 μL de HCl (5 N), em seguida as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 290 nm. Os resultados foram expressos em μg de ácido *trans*-cinâmico $\text{h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ matéria fresca.

A concentração de proteína total solúvel foi determinada de acordo com a metodologia de Bradford (1976) tendo o soro de albumina bovina como padrão e os resultados expressos em mg g^{-1} de matéria fresca.

Aos 108 DAP procedeu-se a contagem do número de perfilhos férteis para em seguida realizar-se a colheita das espigas, em seguida essas foram acondicionadas em sacos de papel Kraft® e levadas a estufa por 72 h a 60°C , para secagem, obtendo-se os valores de massa seca das

espigas (g) e número de 1000 grãos, sendo que posteriormente estimou-se o índice de colheita (%), através da divisão entre a massa seca de grãos (g) pela produção de fitomassa seca total aérea (MOREIRA; ANGULO FILHO; RUDORFF, 1999).

Após a obtenção dos resultados foi realizada a análise de variância, sendo que as médias dos tratamentos foram submetidas à análise de regressão pela programação PROC REG (SAS, 2009), com transformação de dados em $\log^{10}$ para a variável emergência. Comprovaram-se os modelos matemáticos mais adequados quando a análise do teste F para a regressão foi significativo ($P < 0.05$) e o coeficiente de determinação (R^2) apresentou maior precisão, elegendo o modelo linear ($\hat{y} = a_0 + a_1x + \varepsilon$), polinomial quadrático ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \varepsilon$) ou polinomial cúbico ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + a_3x^3 + \varepsilon$) quando mais ajustado. Os gráficos foram plotados através do software Microsoft Excel 2007® para Windows.

2.2.2 Resultados e Discussão

O uso de doses crescentes de tiametoxam, em tratamento de sementes não interferiu sobre o índice de emergência das plântulas de trigo, quando comparado ao controle em casa de vegetação pela tabela 2.1 (ANEXOS), supõe-se que sob circunstâncias adequadas de luz, temperatura, água e nutrientes o tiametoxam apresenta comportamento mais estável, não interferindo sobre a germinação. Resultado similar foi encontrado em pesquisas com soja (CASTRO et al., 2008) e milho (WILDE et al., 2007), onde não se observaram melhorias na germinação com uso de tiametoxam, e divergente de pesquisa com trigo que mostrou maiores efeitos fitotóxicos de inseticidas em relação a outros pesticidas (KHALEEQ; KLATT, 1986). No entanto, trabalhos mais recentes, relatam que o tiametoxam incrementa o vigor das plântulas, quando essas se encontram sob condição de estresse abiótico (CALAFIORI; BARBIERI, 2001; CATANEO, et al., 2010).

Com relação ao crescimento inicial das plantas, o modelo polinomial quadrático foi o que apresentou melhor ajuste para 14 DAP (Figura 1.1A) e 21DAP (Figura 1.1B), observamos uma redução inicial na altura das plantas de trigo com o aumento das doses do tiametoxam, até determinada dose sob a qual a planta tem uma retomada no crescimento da parte aérea, este padrão de desenvolvimento permite inferir que doses elevadas do tiametoxam não induzem a fitotoxidez nas plântulas, resposta divergente de Dan et al. (2010) os quais em ensaios com soja, relataram que o tiametoxam não interferiu sobre a altura das plântulas em relação ao controle. Já

para as demais medidas aos 28, 35 e 42 DAP, as alturas não foram influenciadas pelo uso do tiametoxam, como mostra a tabela 2.1 (ANEXOS).

Figura 2.1 – Altura das plantas de trigo aos 14 (A) e 21 (A) dias após o plantio submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $*P<0.05$)

Também visualizamos que doses crescentes do tiametoxam alteraram a translocação de carboidratos, visto que as mesmas proporcionaram ganhos lineares na massa seca da parte aérea da planta (Figura 1.2), em estágio final da produção, no entanto reportou-se na literatura que no início do desenvolvimento de ervilha (HORII; McCUE; SHETTY, 2007), milho (HORII; McCUE; SHETTY, 2007; WILDE et al., 2007) e cana-de-açúcar (PEREIRA; FERNANDES; VELOSO, 2010) o teor de matéria seca não sofreu alteração após aplicação do tiametoxam, esses resultados indicam que o processo do acúmulo de carboidratos nas plantas se dê a médio e longo prazo.

Figura 2.2 – Massa seca das plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $**P<0.01$)

Ainda na Tabela 1 (ANEXOS) não foi possível constatar alterações no teor de clorofilas nas folhas de trigo, após tratamento com TMX, verificado através do índice SPAD, essa resposta

se deve potencialmente pelo fato de uma baixa absorção, ou direcionamento de nitrogênio pela planta, não a suprimindo adequadamente e conseqüentemente, prejudicando a síntese de clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Em análises do sistema radicular das plântulas de trigo, através de mini-rizotrons, constatamos que o comprimento total da raiz, doze dias após a sua emergência, não sofreu alteração em função do efeito do tiametoxam quando comparado ao controle, conforme tabela 2.2 (ANEXOS), resposta similar ocorreu com sementes de soja (CASTRO et al., 2008), e toletes de cana-de-açúcar (PEREIRA; FERNANDES; VELOSO, 2010) tratadas com tiametoxam. Em contrapartida, a área (Figura 1.3A) e o volume (Figura 1.3B) radicular nos mini-rizotrons, doze dias após emergência da raiz, apresentaram o modelo linear como o mais adequado para expressar essas variáveis após aplicação de doses crescentes do tiametoxam. Ponderamos que em detrimento do crescimento vertical das raízes, ocorreram alterações bioquímicas que beneficiaram maior ramificação das raízes adventícias a partir do eixo caulinar do embrião, o que promoveu maior absorção hídrica e de nutrientes pela planta, e levou a ganhos em vigor no início do seu crescimento (PEREIRA; FERNANDES; VELOSO, 2010).

Figura 2.3 – Área (A) e volume (B) radicular das plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $*P<0.05$)

Nossos dados demonstraram que, para todas as análises bioquímicas, houve uma significância estatística para análise de regressão, como consta na tabela 2.3(ANEXOS) durante o início do estágio de espigamento (LARGE, 1954), com o modelo linear crescente mais adequado para o conteúdo de proteína total solúvel presente nas folhas de trigo (Figura 1.4A) em função das crescentes doses de tiametoxam, ou seja, esse inseticida potencializa a disponibilidade proteica nos tecidos vegetais para utilização nos processos de desenvolvimento reprodutivo.

Resultado divergente ao apresentado por Gonias et al. (2008) que ao aplicar o inseticida imidacloprid, um pesticida com ação fisiológica em plantas, não observaram alterações no conteúdo proteico foliar de algodão, indicando que essa atividade bioativadora dos pesticidas pode variar de acordo com a espécie estudada.

A enzima nitrato redutase é a primeira que atua no processo de assimilação do nitrogênio pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2009), trata-se de uma proteína com curto período de vida, mas com elevada capacidade de resintetização, sendo estimulada por diversos fatores do ambiente (luz, carboidratos e nitrato), e reguladores da expressão gênica (HELDT; PIECHULLA, 2011). Nossos resultados demonstram que doses crescentes do tiametoxam levam a uma redução linear na atividade dessa enzima (Figura 1.4B), portanto, consideramos que a médio-longo prazo esse inseticida torna-se um cofator na regulação negativa da nitrato redutase, ainda sugerimos que a planta apresenta um mecanismo eficaz de absorção amoniacal do solo, ao invés da utilização de somente nitrato como fonte de compostos nitrogenados, pelo fato de existir uma relação inversa entre o conteúdo proteico e a atividade da nitrato redutase durante a fase de espigamento, quando aplicou-se o pesticida no início da cultura.

Figura 2.4 – Proteína total solúvel (A) e atividade de nitrato redutase (B) em folhas de plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $*P<0.05$ e $**P<0.01$)

A fenilalanina amônia-liase (PAL), enzima responsável por diversas funções no metabolismo vegetal, como: proteção contra estresse abiótico e biótico, síntese de lignina e até como atrativa à polinizadores (antocianinas) (McDONALD; D'CUNHA, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009), é a primeira proteína a agir na rota do fenilpropanóide, e tem por função desaminar a fenilalanina à ácido trans-cinâmico (McDONALD; D'CUNHA, 2007; HELDT; PIECHULLA, 2011). E após aplicação do tiametoxam observamos que o modelo quadrático foi o de melhor

ajuste para indução da atividade da PAL (Figura 1.5), durante o início da fase de maturação das espigas. Resultado já notado por Ford et al. (2010), os quais reportaram que os inseticidas neonicotinóides são capazes de induzir mecanismos de defesa em plantas, quando utilizados via tratamento de sementes.

Figura 2.5 – Atividade de fenilalanina amônia-liase em folhas de plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $**P<0.01$)

No que concerne aos parâmetros de produção do trigo, notamos que o inseticida não apresentou efeito sobre a massa de 1000 grãos do trigo, conforme a Tabela 2.4 (ANEXOS), mas para massa seca da espiga (Figura 1.6A) e número de perfilhos férteis (Figura 1.6B) o ajuste linear foi o mais adequado para ambos, ou seja, a aplicação de doses crescentes deste pesticida leva a ganhos significativos para a produção, sendo que a dose de 70 g do tiametoxam por 100 kg de sementes apresentou as maiores médias para ambas as variáveis, de acordo com a Tabela 1.4 (ANEXOS).

Figura 2.6 – Massa seca de espigas (A) e número de perfilhos férteis (B) de plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $**P<0.01$)

Enquanto para o índice de colheita (IC) o modelo cúbico (Figura 1.7), foi o que demonstrou o melhor ajuste, com um gradativo aumento nesse índice até a dose de 35 g de tiametoxam por 100 kg de sementes, após, o modelo apresenta uma drástica redução no índice de colheita, até atingir o nível mais baixo com a dose de 70 g de tiametoxam por 100 kg de sementes.

Figura 2.7 – Índice de colheita de plantas de trigo submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão ($n=10$, $*P<0.05$)

Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos com milho nos Estados Unidos (WILDE et al., 2007) e com feijão no Brasil (CALAFIORI; BARBIERI, 2001) onde observaram-se que Cruiser[®], aplicado no tratamento de sementes, aumentou a produção dessas culturas em comparação ao controle. Pynenburg et al. (2011) comentam que a resposta deste inseticida é melhor visualizada em cultivos de dicotiledôneas do que em monocotiledôneas. O que nos permite prognosticar que a resposta dos bioativadores sobre os cultivos é influenciada por fatores como: espécies e cultivares utilizados, condições ambientais a que os mesmos são submetidos e o método de aplicação dos pesticidas.

2.3 Conclusões

Aplicações de tiametoxam, via tratamento de sementes, promove incrementos lineares no desenvolvimento radicular, conteúdo proteico, massa seca da parte aérea e na massa seca da espiga, além de estimular o metabolismo secundário, aspectos relevantes para atestar seu efeito bioativador na cultura do trigo.

Referências

- BRADFORD, M.M. A rapid sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976.
- CALAFIORI, M.H.; BARBIEIRI, A.A. Effects of seed treatment with insecticide on the germination, nutrients, nodulation, yield and pest control in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) culture. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 26, n. 1, p. 97-104, 2001.
- CASTRO, G.S.A.; BOGIANI, J.C.; SILVA, M G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C.A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 43, n.10, p. 1311-1318, 2008.
- CASTRO, P.R.C.; PITELLI, A.C.M.; PERES, L.E.P.; ARAMAKI, P.H. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiametoxam através de biotestes. **Publicatio UEPG. Ciência exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, Ponta Grossa, v. 13, n. 3, p.25-29, 2007.
- CASTRO, P.R.C.; SERCILOTO, C.M.; PEREIRA, M.A.; RODRIGUES, J.L.M.; ROSSI, G. **Agroquímicos de controle hormonal, fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: Série Produtor Rural, ESALQ – DIBD, 2009. 46p.
- CATANEO, A.C.; FERREIRA, L.C.; CARVALHO, J.C.; ANDRÉO-SOUZA, Y.; CORNIANI, N.; MISCHAN, M.M.; NUNES, J.C. Improved germination of soybean seed treated with thiamethoxam under drought conditions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 38, p. 248-251, 2010.
- DAN, L.G.M.; DAN, H.A.; BARROSO, A.L.L.; CÂMARA, A.C.F.; GUADANIN, E.C. Efeito de diferentes inseticidas sobre a qualidade fisiológica de sementes de soja. **Global Science and Technology**, Rio Verde v. 3, n. 1, p. 50-57, 2010.
- DASH, D.; PATNAIK, H.P. Effect of insecticide on grain yield in rice as influenced by varieties and graded nutrient levels under field condition. **Journal of Plant Protection and Environment**, Bhubaneswar, v. 4, n. 2, p. 70-73, 2007.
- ELBERT, A.; HASS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64 p. 1099-1105, 2008.
- FORD, K.A.; CASIDA, J.E.; CHANDRAN, D.; GULEVICH, A.G.; OKRENT, R.A.; DURKIN, K.A.; SARPONG, A.; BUNNELLE, E.M.; WILDERMUTH, M.C. Neonicotinoid insecticides induce salicylate-associated plant defense responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 107, p. 17527-17535, 2010.
- GHELFI FILHO, H. Estudo comparativo do método das pesagens e método gravimétrico padrão para determinação do teor de umidade do solo. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 45, n.1, p. 99-108, 1988.

GONIAS, E.D.; OOSTERHUIS, D.M.; BIBI, A.C. Physiologic response of cotton to the insecticide imidacloprid under high-temperature stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 27, n. 1, p. 77-82, 2008.

HELDT, H.W.; PIECHULLA, B. **Plant biochemistry**. 4th San Diego: Elsevier Academic Press, 2011. 656p.

HORII, A.; MCCUE, P.; SHETTY, K. Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 3, p. 623-632, 2007.

JORGE, L.A.C.; RODRIGUES, A.F.R. **Safira**: Sistema de análise de fibras e raízes. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária - Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2008. 20p.

KHALEEQ, B.; KLATT, A. Effects of various fungicides and insecticides on emergence of three wheat cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v.78, p. 967-970, 1986.

LARGE, E.G. Growth stages in cereals: Illustration of the Feeke's scale. **Plant Pathology**, Harpenden, v. 3, n. 4, p. 128-129, 1954.

LOPEZ-BELLIDO, R.J.; SHEPHERD, C.E.; BARRACLOUGH, P.B. Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. **European Journal of Agronomy**, Montpellier, v. 20, n. 3, p. 313-320, 2004.

MAIENFISCH, P.; ANGST, M.; BRANDL, F.; FISCHER, W.; HOFER, D.; KAYSER, H.; KOBEL, W.; RINDLISBACHER, A.; SENN, R.; STEINE-MANN, A.; WIDMER, H. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, p. 906-913, 2001a.

MAIENFISCH, P.; HUERLIMANN, H.; RINDLISBACHER, A. GSELL, L.; DETTWILLER, H.; HAETTENSCHWILER, J.; SIEGER, E.; WALTI, M. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pest Management Science**, Sussex, v. 57, p. 165-176, 2001b.

MCDONALD, M.J.; D'CUNHA, G. B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. **Biochemistry and Cell Biology**, Ottawa, v. 85, n. 3, p. 273-282, 2007.

MOREIRA, M.A.; ANGULO FILHO, R.; RUDORFF, B.F.T. Eficiência do uso da radiação e índice de colheita em trigo submetido a estresse hídrico em diferentes estádios de desenvolvimento. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 597-603, 1999.

PEREIRA, J.M.; FERNANDES, P.M.; VELOSO, V.R.S. Efeito fisiológico do inseticida thiamethoxam na cultura da cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 159-164, 2010.

PYNENBURG, G.M.; SIKKEMA, P.H.; GILLARD, C.L. Agronomic and economic assessment of intensive pest management of dry bean (*Phaseolus vulgaris*). **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 340-348, 2011.

RADIN, J.W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 53, n. 3 p. 458-463, 1974.

RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico, 1996. 285p. (Boletim Técnico 100).

REDMAN, R.S.; FREEMAN, S.; CLIFTON, D.R.; MORREL, J.; BROWN, G.; RODRIGUES, R.J. Biochemical analysis of plant protection afforded by nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 119, n. 2, p. 795-804, 1999.

SAS Institute Inc., **SAS/STAT® version 9.2 User's Guide**, 2nd ed., Cary: SAS Institute, 2009. 7869p.

SIRCHIO, K.; SUTTON, A. Syngenta professional products focuses chemical technology on new applications to enhance the quality of life. **Chimia**, Zurich, v. 67, n. 1/2, p. 17-22, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. Santarém, E.R. 4th. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

THIELERT, W. A unique product: the story of the imidacloprid stress shield. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, Leverkusen, v. 59, p. 73-86, 2006.

WILDE, G.; ROOZEBOOM, K.; AHMAD, A.; CLAASSEN, M.; GORDON, B.; HEER, W.; MADDUX, L.; MARTIN, V.; EVANS, P.; KOFOID, K.; LONG, J.; SCHLEGEL, A.; WITT, M. Seed treatment effects on early-season pests of corn and on corn growth and yield in the absence of insect pests. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Clemson, v. 24, n. 4, p. 177-192, 2007.

3 RESPOSTAS NO DESENVOLVIMENTO RADICULAR, METABOLISMO DO NITROGÊNIO E QUALIDADE NUTRICIONAL DE BRAQUIÁRIA, COM O USO DE TIAMETOXAM

Resumo

Este trabalho investigou o efeito do uso de doses crescentes de tiametoxam, inseticida do grupo dos neonicotinóides, aplicado via tratamento de sementes, sobre o comportamento fisiológico, bioquímico e composição nutricional de *Brachiaria brizantha* cv Piatã, em casa de vegetação, na ausência de insetos. Realizamos dois experimentos com *B. brizantha*, no primeiro avaliaram-se os parâmetros biométricos e de composição nutricional e digestibilidade, no segundo realizamos análise do sistema radicular e da atividade de nitrato redutase. Em ambos os experimentos foram utilizadas doses do tiametoxam (0; 17,5; 35,0; 70,0 e 140,0 g por 100 kg de sementes). Verificamos que o tratamento das sementes com o inseticida tiametoxam resultou em leve decréscimo no desenvolvimento da parte aérea, mas proporcionou o desenvolvimento radicular, e esse levou ao aumento na atividade de nitrato redutase e culminou no maior conteúdo de proteína bruta na parte aérea. Nossos dados demonstram que o tiametoxam tem propriedades de alterar o metabolismo e a fisiologia da *B. brizantha*, e que resulta em ganhos qualitativos da forragem, tornando-se mais uma ferramenta tecnológica aplicável à cultura.

Palavras-chave: Tiametoxam; Bioativador; Gramíneas; Vigor

Abstract

This study investigated the effects of using increasing doses of thiamethoxam, an neonicotinoid insecticide, applied as seed treatment, on the physiological, biochemical and nutritional composition of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã. We conducted two experiments with *B. brizantha*. in a greenhouse, in the absence of insects. Biometric parameters and nutritional quality, for feed, were measured in the first experiment, and the root system and the leaf nitrate reductase activity, were analyzed in the second experiment. In both experiments were applied the rates of thiamethoxam (0; 17.5; 35.0; 70.0 and 140.0 g per 100 kg of seeds). The results showed that the seed treatment with thiamethoxam resulted in a slight decrease in shoot development, but provided root growth, which led to an increase in the nitrate reductase activity that resulted in the higher crude protein content in the shoot. Our data indicate that thiamethoxam alter the metabolism and physiology of *B. brizantha*, and improving of feed quality, becoming a technological tool to be applied to the crop.

Keywords: Thiamethoxam; Bioactivator; Grass; Vigor

3.1 Introdução

Na agricultura moderna é imprescindível o uso de tecnologias que promovam a qualidade e quantidade produtiva de espécies vegetais para alimentação humana e animal, e de combustíveis renováveis, de modo a garantir as demandas presentes e futuras (SPIERTZ; EWERT, 2009). Uma

tecnologia de sucesso difundida na agricultura mundial é a aplicação dos agroquímicos via tratamento de sementes, visto que fornecem melhores mecanismos de defesa e consequentemente um melhor desenvolvimento inicial à cultura (CASTRO et al., 2008), mas quando o agroquímico ativa expressões gênicas que favorecem a maior absorção hídrica e transporte iônico, ou ativam o metabolismo primário e secundário, culminando em ganhos no vigor e consequentemente maior crescimento e rendimentos na produção, esse é classificado como bioativador (CASTRO et al., 2009).

Na literatura recente, têm-se reportado que a molécula do tiametoxam (TMX) [3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine], um inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides com grande espectro de ação a baixas concentrações (MAIENFISCH et al., 2001a; MAIENFISCH et al., 2001b), apresenta as características de bioativador. Esta molécula é utilizada no controle de insetos sugadores e mastigadores, pela excelente absorção e translocação nos tecidos vegetais (MAIENFISCH et al., 2001b), levando a um efeito persistente na planta (MAIENFISCH et al., 2001a), o que favorece sua ação bioativadora, desencadeando as respostas fisiológicas e metabólicas durante o ciclo do vegetal.

No Brasil, o pesticida TMX é registrado sob a marca Cruiser[®] (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP), para tratamento de sementes no cultivo da *Brachiaria* sp., nas doses compreendidas entre 100-300 mL/100 kg de sementes para o controle de *Cornitermes cumulans* (MAPA, 2011). Mundialmente, seu registro é para 115 culturas, em pelo menos 64 países, sendo o segundo neonicotinóide mais comercializado (ELBERT et al., 2008).

Atribui-se a essa molécula ação moderadora do metabolismo em plantas de ervilha, milho e soja (HORII; McCUE; SHETTY, 2007), capaz de incrementar a produção de grãos, nódulos viáveis (CALAFIORI; BARBIERI, 2001) e índice de emergência (PYNENBURG et al., 2011) em feijoeiro. Além de estimular a síntese de enzimas antioxidantes em plântulas de soja submetidas à condição de seca (CATANEO et al., 2010) e de impulsionar o crescimento (PERELLÓ; DAL BELLO, 2011), o metabolismo e a produção (MACEDO; CASTRO, 2011) de plantas de trigo.

Há grande escassez de informações que concerne aos efeitos fisiológicos dos pesticidas acerca das espécies forrageiras tropicais, tendo em vista a grande demanda dessas plantas para utilização na alimentação animal. No Brasil, as áreas de pastagens ocupam cerca de 172.333.073 hectares, representando aproximadamente 48,56% da área agrícola do país (IBGE, 2006). Dentro

dessa grande área de pastagem, o gênero *Brachiaria*, de origem africana, se destaca, pois é uma espécie cultivada com características de resistência a solos ácidos e pobres em nutrientes, apresenta facilidade de propagação via semente, possui grande vantagem competitiva com invasoras e resulta em bom desempenho para o animal quando comparado às pastagens nativas (VALLE et al., 2010). Esses fatos justificam a rápida expansão desta espécie nas regiões de savanas tropicais do mundo (GUENNI; MARÍN; BARUCH, 2002).

A partir do início do século XXI, houve crescente demanda por material vegetal forrageiro de qualidade, essa necessidade de mercado tem feito com que empresas do ramo de sementes busquem novas tecnologias agrícolas para incorporar nas sementes (TEODORO et al., 2011), onde o TMX se apresenta como excelente ferramenta tecnológica a ser desenvolvida para a cultura em questão.

O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos de doses crescentes do TMX sobre parâmetros biométricos, metabólicos, fisiológicos e bromatológicos de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e métodos

Dois experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação, com temperatura variando entre 20 e 40 °C, na ausência de insetos, com plantas de *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf. cv. Piatã, no município de Piracicaba, SP, Brasil, (22° 42' S and 47° 38' W). As sementes da forrageira foram tratadas com as doses: 0,0; 17,5; 35,0; 70,0 e 140,0 de tiametoxam (produto comercial Cruiser[®] 350 FS), diluídas em 2000 mL de H₂O, para aplicação em 100 kg de sementes. Em ambos os experimentos, os vasos foram preenchidos com substrato composto por: argila, silte e areia, respectivamente, na proporção: 267, 113, 620 g kg⁻¹, e com as seguintes características químicas: pH (CaCl₂): 5,0; Matéria Orgânica: 14,0 g dm⁻³; P: 89,0 mg dm⁻³; K: 1,4 mmol dm⁻³; Ca: 42 mmol dm⁻³ e Mg: 7 mmol dm⁻³. Este solo apresentava saturação de base igual a 66%, valor adequado para a cultura em questão, a adubação seguiu as recomendações para a formação da cultura, correspondendo a: 40 kg ha⁻¹ de N; 30 kg ha⁻¹ de K₂O e 20 kg ha⁻¹ de S (RAIJ et al., 1996).

Primeiro experimento

As plantas cresceram em vasos com capacidade para 20 dm³, onde foram analisados parâmetros de crescimento e desenvolvimento da parte aérea, e a qualidade da forragem, utilizando a média de duas plantas por vaso, seu plantio foi realizado no dia 30 de abril de 2011, com coleta do material no dia 09 de junho de 2011 (perfazendo um ciclo de 40 dias). O delineamento experimental foi aleatorizado em blocos, constituído da aplicação de 5 doses do TMX, com 8 repetições para as análises biométricas e 4 repetições para análises de composição nutricional e digestibilidade.

O índice de emergência (%) das plantas foi mensurado aos 14 DAP, através do plantio de 10 sementes por vaso e posterior contagem das plântulas, em seguida foi realizado o raleio das plantas, com a manutenção de apenas duas plantas por vaso para estudo das demais variáveis. Medições da altura (cm) ocorreram entre 21 e 35 DAP, essas medidas foram tomadas entre o colo da planta até a extremidade da folha mais longa do colmo principal. Ao final de 40 DAP foi realizada a contagem do número de perfilhos, bem como o corte da parte aérea da planta, com separação entre folhas e colmos, imediatamente as folhas foram submetidas à análise da área foliar (cm²) através do equipamento LI-3100 (LI-COR Biosciences, Lincoln, USA). As folhas e os colmos foram pesados em balança de precisão para aferir sua massa fresca (g), em seguida todo material foi seco em estufa por 72 h a 60 °C, obtendo-se a biomassa seca das folhas (g) e colmos (g).

Os teores de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) foram determinados segundo a AOAC (1995). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi estabelecido pelo método proposto por Van Soest (1994), essas variáveis foram expressas em porcentagem (%) do total da matéria seca à 105 °C.

A avaliação da digestibilidade *in vitro* (DIV) foi realizada segundo metodologia de Tilley e Terry (1963), sendo que o método consiste, no primeiro estágio, em incubar 500 mg das amostras do material vegetal em solução contendo 10 mL do fluido ruminal e 40 mL da solução tampão de McDougall, no interior dos tubos de vidro com rolhas de borracha e válvulas tipo Bunsen para escape de gás, durante 48 horas em banho-maria a 38 °C. No segundo estágio, as amostras foram submetidas à incubação ácida por 46 horas com ácido clorídrico 20% e pepsina 5%. O resíduo insolúvel foi pesado e filtrado sob vácuo, por duas horas, e levado a 105 °C por 24 horas, as

amostras foram pesadas novamente e a diferença entre os pesos determinou o valor da DIV, tendo o resultado expresso em porcentagem (%).

Segundo experimento

O segundo ensaio objetivou estudar o crescimento radicular e a atividade enzimática nas folhas. As sementes foram semeadas em vasos longos com capacidade para 3 dm³, de maneira a permitir um melhor desenvolvimento de raiz, além de tornar o processo de extração das raízes mais prático. Foram plantadas 5 sementes por vaso e após 7 DAP efetuou-se um raleio com a permanência de 1 planta por vaso. O plantio se deu no dia 05 de maio de 2011 com coleta dos materiais no dia 14 de junho de 2011, perfazendo um ciclo de 40 dias. O delineamento experimental foi inteiramente aleatorizado, constituído da aplicação de 5 doses do TMX, com 5 repetições para análise de desenvolvimento radicular e de 3 repetições para a análise de atividade da nitrato redutase.

Aos 40 DAP as raízes foram lavadas em água corrente, para retirada do excesso de solo agregado, e secas em papel toalha, no momento da digitalização as raízes foram espalhadas sobre uma bandeja de vidro disposta diretamente sobre o scanner de mesa HP Scanjet 2400, com resolução de 200 dpi, e inundada com uma fina camada de água, posteriormente as imagens digitalizadas foram submetidas ao software SAFIRA[®] para mensuração de área e volume radicular (JORGE; SILVA, 2010).

A análise da atividade de nitrato redutase (ANR) foi realizada aos 40 DAP, tendo a coleta das folhas frescas ocorrida entre 8:00 h e 9:00 h, em seguida o material foi acondicionado em caixas térmicas preenchidas com gelo e transportadas até o laboratório, onde houve a higienização do material com água deionizada e imediatamente secos em papel toalha. A metodologia foi adaptada de Radin (1974), 100 mg de discos do tecido vegetal foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de tampão fosfato, pH 7,4 + 200 mM de KNO₃. Esses foram envoltos em papel alumínio, para evitar a passagem de luz, e posteriormente foram incubados em banho maria a 37 °C, por 30 min. A reação foi paralisada pela adição de 1 mL de sulfanilamida (58 mM) a 1% em solução de HCl (2 mol L⁻¹), em seguida foi adicionado 1 mL de N- α -naftilenodiamina (1,3 mM), para reagir e colorir o nitrito. O nitrito (NO₂⁻) produzido foi medido em espectrofotômetro a 540 nm, utilizando a curva padrão de nitrito. A atividade enzimática foi diretamente relacionada com a quantidade de NO₂⁻ e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol NO}_2^- \text{ g}^{-1}$ de matéria fresca h⁻¹.

Análise estatística

Os dados foram analisados no software SAS 9.2 (SAS, 2009), submetidos a análise da variância (ANOVA) e, em seguida, submetidos a análise da regressão. Comprovaram-se os modelos matemáticos mais adequados quando a análise do teste F para a regressão foi significativo ($P < 0.10$; $P < 0.05$; $P < 0.01$) e o coeficiente de determinação (R^2) apresentou maior precisão, elegendo o modelo linear ($\hat{y} = a_0 + a_1x + \varepsilon$) ou polinomial quadrático ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \varepsilon$) quando mais ajustado. Os dados de área e volume radicular foram transformados em $\log^{10}$, seguindo pressuposições da ferramenta Guided Data Analysis (SAS, 2009).

3.2.2 Resultados e Discussão

Na literatura científica há relatos sobre a promoção de crescimento em culturas de interesse agrônomo com o uso de agroquímicos (COOSEMANS; Van ASSCHE, 1981; REDDY; WANG; REDDY, 1997; REDDY; REDDY; WANG, 1997), bem como trabalhos que reportam efeitos negativos desses sobre a biologia dos cultivos (ÇAVUŞOĞLU et al., 2010; DIAS, 2012), porém Khaleeq e Klatt (1986) afirmam que as respostas fisiológicas aos agroquímicos sobre as plantas é dependente do produto utilizado, bem como da variedade estudada.

Para a cultura da braquiária constatamos que aos catorze dias após a semeadura não foram observadas diferenças para os índices de emergência, bem como não notamos efeitos sobre a altura (cm) das plantas, com relação ao uso de doses do pesticida aos 21, 28 e 35 DAP, conforme a Tabela 3.1 (ANEXOS). Consideramos que o ambiente controlado, onde as plantas cresceram sob condições favoráveis, o TMX não demonstrou ação bioativadora representativa, essa observação corrobora com estudos de Calafiori e Barbieri (2001) e Cataneo (2010) os quais afirmam existir maior expressão da atividade do bioativador em plantas submetidas a condições de estresse abiótico.

Não visualizamos diferenças entre as doses do TMX para variável número de perfilhos por planta, mas constatamos posteriormente que as doses crescentes do tiametoxam reduziram a área foliar, medida em cm^2 , (Figura 3.1), esse parâmetro apresentou uma fraca evidência estatística para a variável área foliar, nos diferentes níveis de tratamento ($P < 0,10$), sendo constatado um alto valor no coeficiente de variação, de acordo com a Tabela 3.1(ANEXOS). Resultado esse antagônico ao reportado por Teodoro et al. (2011) que não verificaram diferenças entre o tratamento controle e o inseticida fipronil, sobre a porcentagem de lâmina foliar em *B. brizantha*.

Figura 3.1 – Área foliar (cm²) de *Brachiaria brizantha* aos 40 DAP submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=10$, $^{\#}P<0,10$)

Também não foram observadas diferenças entre as massas fresca e seca das folhas e dos colmos das plantas quando submetidas a doses do TMX, mas esses parâmetros apresentaram um elevado índice de variabilidade entre os dados observados, resultado esse expresso pelo alto valor do coeficiente de variação dos parâmetros biométricos, conforme a Tabela 3.2 (ANEXOS). O que possibilita ponderar que, a curto prazo, esse inseticida torna-se um cofator negativo na regulação do crescimento da parte aérea, resposta essa desfavorável, pois a redução da área foliar leva a diminuição de material vegetal utilizado para a alimentação animal.

O uso de doses crescentes do TMX incrementou linearmente o teor de proteína bruta, sendo que o teste F ($P=0,17$) não identificou diferenças entre as médias absolutas, de acordo com a Tabela 3.2 (ANEXOS), no entanto, aplicando-se a análise da regressão foram encontrados efeitos significativos para regressão linear (Figura 3.2A). Os dados sugerem que há uma relação funcional entre níveis de TMX e proteína bruta, essa interpretação gera informações consistentes sobre a interferência dos tratamentos sobre a variável analisada (PIMENTEL-GOMES; GARCIA, 2002).

Em contrapartida, as doses crescentes do TMX reduziram linearmente o teor de matéria seca ($P<0,01$), ambos expressos em porcentagem (Figura 3.2B), respectivamente, ou seja, a diminuição da área foliar não ocasionou prejuízos na qualidade nutricional da forragem, conforme a Tabela 3.2 (ANEXOS), tendo em vista o ganho no teor de proteína bruta (%) da parte aérea. Essa alteração no teor de compostos nitrogenados nos tecidos da planta, reflete o bom estado do suprimento de nitrogênio (MILLER et al., 2007), o qual incrementará a qualidade nutricional da forragem, que posteriormente afetará o desempenho do animal, suplementado com

esse material vegetal (WARAMIT; MOORE; FALES, 2012). Avaliamos que o alto teor de proteína bruta observado, em todos os tratamentos, ocorreu em função da data do corte ter ocorrido próxima à adubação nitrogenada.

Figura 3.2 – Proteína bruta (%) (A) e matéria seca (%) (B) de *Brachiaria brizantha* aos 40 DAP submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=10$, $^*P<0,05$ e $^{**}P<0,01$)

Já os resultados observados para MS (%) foram condizentes com aqueles apresentados para área foliar, sendo reduzida com o aumento das doses de TMX, no entanto, esses valores ficaram dentro do esperado para forrageiras, que é em torno de 90%. Para os parâmetros qualitativos de fibra em detergente neutro e digestibilidade *in vitro*, o pesticida não demonstrou ação de melhoria ou de degeneração do material vegetal em análise, conforme a Tabela 3.2 (ANEXOS).

A avaliação do sistema radicular apresentou efeitos lineares crescentes, altamente significativos ($P<0,01$) para o teste de regressão, conforme a Tabela 3.3 (ANEXOS), onde a área (cm^2) e o volume (cm^3) radicular foram incrementados linearmente, com o uso de doses crescentes do tiametoxam (Figuras 3.3A e 3.3B), respectivamente. Respostas similares já foram reportadas para raízes presentes em: toletes de cana-de-açúcar (PEREIRA; FERNANDES; VELOSO, 2010), plantas de soja (CATANEO et al., 2010) e de trigo (MACEDO; CASTRO, 2011), quando utilizou-se o TMX. Essa modificação na arquitetura radicular é fator determinante para melhor exploração do solo pelas plantas (LYNCH, 2007) e, por conseguinte, fornece a ela melhores condições de absorção hídrica e nutricional (CASTRO et al., 2009), fatores esses considerados críticos para a agricultura moderna (LYNCH, 2007).

Figura 3.3 – Área radicular (cm²) (A) e volume radicular (cm³) (B) de *Brachiaria brizantha* aos 40 DAP submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=10$, $** P<0,01$)

Para a análise foliar da ANR foi observada uma regressão quadrática, altamente significativa ($P<0,01$), de acordo com a Tabela 3.3 (ANEXOS), em função do aumento das doses do inseticida constatamos um incremento da ANR, até um ponto ótimo, com o uso de doses mais altas essa atividade foi gradativamente reduzida, possivelmente pelo efeito fitotóxico do produto (Figura 3.4). Resultado similar foi encontrado por Glaab e Kaiser (1999) que ao aplicarem o fungicida kresoxim-methyl em folhas de espinafre, observaram ganhos lineares no conteúdo de nitrato e na ANR.

Figura 3.4 – Atividade de nitrato redutase (μmol NO₂⁻ g⁻¹ de MF h⁻¹) em *Brachiaria brizantha* aos 40 DAP submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=10$, $** P<0,01$)

Essas observações já foram discutidas por Castro et al. (2009), os quais alegaram que alterações metabólicas, fisiológicas e anatômicas no processo inicial de crescimento das plantas, culminam em maior atividade enzimática na planta durante todo seu ciclo. E comprovamos essa hipótese ao mensurar a atividade de nitrato redutase. Essa é a primeira enzima a atuar no processo

de assimilação do nitrogênio pelas plantas, responsável por converter o nitrato, absorvido do solo, em nitrito, dando início a síntese de aminoácidos no vegetal (HELDT; PIECHULLA, 2010).

Com o aumento da disponibilidade de nitrogênio, foram verificados incrementos de conteúdo de proteína (%) na parte aérea da planta, essa resposta relacionada ao metabolismo do nitrogênio corrobora pesquisa realizada por Parven et al. (2011) que, na cultura do feijão mungo, ao utilizarem baixa dosagem (0,3 mM) do inseticida chorpyrifos, observaram acréscimos no comprimento de raiz, ANR, teores de açúcar e conteúdo de proteína solúvel. Enfatizamos assim, que alguns agroquímicos têm potencial de ação bioativadora sobre cultivos de interesse agrícola, com necessidade da realização de maiores estudos para comprovação dessa ação em outras espécies vegetais.

3.3 Conclusões

Constatamos que o tiametoxam é uma molécula com propriedade de alterar o metabolismo e a fisiologia da *Brachiaria brizantha*, quando aplicado em sementes, capaz de modificar o desenvolvimento radicular e a absorção de nitrogênio, culminando em ganhos qualitativos da forragem.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. Washington: AOAC International, 1995. 1025p.

CALAFIORI, M.H.; BARBIERI, A.A. Effects of seed treatment with insecticide on the germination, nutrients, nodulation, yield and pest control in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) culture. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 26, n. 1, p. 97-104, 2001.

CASTRO, G.S.A.; BOGIANI, J.C.; SILVA, M.G.; GAZOLA, E.; ROSOLEM, C.A. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.10, p. 1311-1318, 2008.

CASTRO, P.R.C.; SERCILOTO, C.M.; PEREIRA, M.A.; RODRIGUES, J.L.M.; ROSSI, G. **Agroquímicos de controle hormonal, fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: Série Produtor Rural, ESALQ – DIBD, 2009. 46p.

CATANEO, A.C.; FERREIRA, L.C.; CARVALHO, J.C.; ANDRÉO-SOUZA, Y.; CORNIANI, N.; MISCHAN, M.M.; NUNES, J.C. Improved germination of soybean seed treated with thiamethoxam under drought conditions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 38, p. 248-251, 2010.

ÇAVUŞOĞLU, K.; YALÇIN, E.; TÜRKMEN, Z.; YAPAR, K.; SAĞIR, S. Physiological, anatomical, biochemical, and cytogenic effects of thiamethoxam treatment on *Allium cepa* (Amaryllidaceae) L. **Environmental Toxicology**, New York, v.26, 2011. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/tox.20680/pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2011.

COOSEMANS, J.; Van ASSCHE, C. Comparative study of growth-promoting capacity of some insecticides/nematicides. **Plant and Soil**, The Hague, v. 63, p. 251-259, 1981.

DIAS, M.C. Phytotoxicity: An overview of the physiological responses of plants exposed to fungicides. **Journal of Botany**, New York, v. 2012, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/jb/2012/135479/>>. Acesso em: 04 mar 2012.

ELBERT, A.; HASS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, p.1099-1105, 2008.

GLAAB, J.; KAISER, W.M. Increased nitrate reductase activity in leaf tissue after application of the fungicide Kremsoxim-methyl. **Planta**, Berlin, v. 207, p. 442-448, 1999.

GUENNI, O.; MARÍN, D.; BARUCH, Z. Responses to drought of five *Brachiaria* species. I. Biomass production, leaf growth, root distribution, water use and forage quality. **Plant and Soil**, The Hague, v. 243, p. 229-241, 2002.

HELDT, H.W.; PIECHULLA, B. **Plant biochemistry**. London:Academic Press, 2010. 656p.

HORII, A.; MCCUE, P.; SHETTY, K. Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 3, p. 623-632, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>>. Acesso em: 27 mar 2012.

JORGE, L.A.C.; SILVA, D.J.C.B. **SAFIRA**: manual de utilização. São Carlos: EMBRAPA, 2010.29p.

KHALEEQ, B.; KLATT, A. Effects of various fungicides and insecticides on emergence of three wheat cultivars. **Agronomy Journal**, Madison, v. 78, n. 6, p. 967-970, 1986.

LYNCH, J. Roots of the second green revolution. **Australian Journal of Botany**, Melbourne v. 55, n.5, p. 493-451, 2007.

MACEDO, W.R.; CASTRO, P.R.C. Thiamethoxam: molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 100, p. 299-304, 2011.

MAIENFISCH, P.; HUERLIMANN, H.; RINDLISBACHER, A.; GSELL, L.; DETTWILLER, H.; HAETTENSCHWILER, J.; SIEGER, E.; WALTI, M. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. **Pesticide Management Science**, Sussex, v. 57, p. 165–176, 2001a.

MAIENFISCH, P.; ANGST, M.; BRANDL, F.; FISCHER, W.; HOFER, D.; KAYSER, H.; KOBEL, W.; RINDLISBACHER, A.; SENN, R.; STEINE-MANN, A.; WIDMER, H. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. **Pesticide Management Science**, Sussex, v. 57, p. 906–913, 2001b.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. 2011. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 mar 2012.

MILLER, A.J.; FAN, X.; SHEN, Q.; SMITH, S.J. Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 111-119, 2007.

MOORE, M.T.; KRÖGER, R. Effect of three insecticides and two herbicides on rice (*Oryza sativa*) seedling germination and growth. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 59, n. 4, p. 574-581, 2010.

PARWEEN, T.; JAN, S.; MAHMOODUZZAAR; FATMA, T. Alteration in nitrogen metabolism and plant growth during different developmental stages of green gram (*Vigna radiata* L.) in response to chlorpyrifos. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 33, n. 6, p. 2321-2328, 2011.

PERELLÓ, A.E.; DAL BELLO, G.M. Suppression of tan spot and plant growth promotion of wheat by synthetic and biological inducers under field conditions. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 158, n. 3, p. 267-274, 2011.

PEREIRA, J.M.; FERNANDES, P.M.; VELOSO, V.R.S. Efeito fisiológico do inseticida thiamethoxam na cultura da cana-de-açúcar. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 159-164, 2010.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C.H. **Estatística aplicada a experimentos agronômicos e florestais**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 309p.

PYNENBURG, G.M.; SIKKEMA, P.H.; ROBINSON, D.E.; GILLARD, C.L. The interaction of annual weed and white mold management systems for dry bean production in Canada. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 91, n. 3, p. 587-598, 2011.

RADIN, J.W. Distribution and development of nitrate reductase activity in germinating cotton seedlings. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 53, n. 3, p. 458-463, 1974.

RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: 1996.(Boletim Técnico 100).

REDDY, V.R.; WANG, Z.; REDDY, K.R. Growth responses of cotton to aldicarb and temperature. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 38, p. 39-48. 1997a.

REDDY, V.R.; REDDY, K.R.; WANG, Z. Temperature and aldicarb effects on cotton root growth and development. **Biotronics**, Fukuoka, v. 26, p. 1-11, 1997b.

SAS. **SAS/STAT® 9.2 User's Guide**. 2nd ed. Cary: SAS Institute ., 2009.

SPIERTZ, J.H.J.; EWERT, E. Crop production and resource use to meet the growing demand for food, feed and fuel: opportunities and constraints. **NJAS Wageningen Journal of Life Sciences**, cidade, v. 56, n.4, p. 281-300, 2009.

TEODORO, A.L.; OLIVEIRA, M.V.M.; LONGO, M.L.; JUNIOR, J.R.; JUNIOR, F.M.V.J.; LUZ, D.F. Influência do revestimento de sementes e tratamento com inseticida no desenvolvimento e características nutricionais da *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 Vitória. **Revista Agrarian**, Dourados, v. 4, n. 13, p. 213-221, 2011.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Grass and Forage Sciences**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.

VALLE, C.B.; MACEDO, M.C.M.; EUCLIDES, V.P.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. Gênero *Brachiaria*. In: Fonseca, D.M; Martuscello, J.A. (Ed.). **Plantas forrageiras**. Viçosa: UFV, 2010. p.30-77.

Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 460p.

WARAMIT, N.; MOORE, K.J.; FALES, S.L. Forage quality of native warm-season grasses in response to nitrogen fertilization and harvest date. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 174, n. 1/2, p. 46-59, 2012.

4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL, FISIOLÓGICA, BIOQUÍMICA E PRODUTIVA DE PLANTAS DE ARROZ SUBMETIDAS AO TIAMETOXAM

Resumo

Esse trabalho buscou investigar alguns efeitos fisiológicos e bioquímicos promovidos pelo inseticida tiametoxam sobre a cultura do arroz. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com tratamento de sementes de arroz, utilizando tiametoxam nas doses de: 0; 17,5; 35,0; 70,0 e 105,0 g de i.a. por 100 kg de sementes, onde foram verificados parâmetros nutricionais, fisiológicos, bioquímicos e de produção. O tiametoxam incrementou o teor dos pigmentos fotossintetizantes, bem como a atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase, porém não apresentou efeito sobre o crescimento das plantas, os teores de nutrientes nas folhas e nem sobre os índices de produção. Consideramos que a molécula do tiametoxam tem potencial de alterar o metabolismo primário e secundário das plantas de arroz, mas existe a necessidade de outros experimentos para verificar a atividade bioativadora desse inseticida na espécie em questão.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; Bioativador; Pigmentos foliares; Fenilalanina amônia-liase

Abstract

This study investigated some physiological and biochemical effects promoted by the insecticide thiamethoxam on rice crops. The experiment was conducted in a greenhouse, with seed treatment of rice, with thiamethoxam at doses of: 0, 17.5, 35.0, 70.0 and 105.0 g a.i. per 100 kg of seeds, where verified the: nutritional, physiological, biochemical and production parameters. Thiamethoxam increased the content of photosynthetic pigments, as well as the enzymatic activity of phenylalanine ammonia-lyase, but had no effect on plant growth, nutrient levels in leaves and on production rates. We believe that the molecule of thiamethoxam has potential to alter the primary and secondary metabolism of rice plants, but there is a need further experiments to verify the bioactivator activity of this insecticide in rice crop.

Keywords: *Oryza sativa* L.; Bioactivator; Leaf pigments; Phenylalanine ammonia-lyase

4.1 Introdução

O cultivo da espécie *Oryza sativa* L. encontra-se por todas as regiões do país, diferindo as condições de cultivo e os sistemas de produção, onde em terras altas têm-se o controle ou não do sistema de irrigação, e em regiões de várzea se dá ou não a utilização de irrigação por inundação (ALVAREZ et al., 2006). A produção de arroz em terras altas corresponde a aproximadamente 62,5% da área total cultivada, mas contribui com apenas 40,9% da produção do país (YOKOYAMA, 2002). Esse panorama pode ser explicado pelas adversidades, principalmente a má distribuição pluvial e pouca utilização de fertilizantes (ALVAREZ et al., 2006).

Uma solução viável para enfrentar essas condições seria aumentar a expressão do vigor inicial das plântulas, para que essas consigam suportar as intempéries, como: baixa temperatura, excesso de vento e escassez hídrica, as quais por ventura, possam ocorrer durante o desenvolvimento (GROHS et al., 2012), e que levam a perdas significativas na produtividade.

Na literatura científica atual têm-se reportado que os inseticidas sistêmicos, tiametoxam, imidaclopride e clotianidín, pertencentes ao grupo dos neonicotinóides, tem promovido vigor e proteção contra estresses abióticos em plantas (CASIDA, 2011). Foi verificado que para as culturas do algodão e do quiabo, o uso de inseticidas do grupo dos neonicotinóides (imidacloprid, tiametoxam, acetamiprid e tiacloprid) incrementou a altura das plantas e o conteúdo de proteínas solúveis (PREETHA; STANLEY, 2012).

Dentre esses inseticidas há destaque para o tiametoxam, molécula que vem sendo constantemente analisada por agir diretamente sobre a fisiologia e bioquímica das plantas (MACEDO; CASTRO, 2011; GROHS et al., 2012), levando-as a obter maior vigor no início de desenvolvimento e potencializando a tolerância aos estresses abióticos (CALAFIORI; BARBIERI, 2001; CATANEO, et al., 2010), além de favorecer um estande adequado e consequentemente, incrementos em produtividade.

Entre as culturas que foram analisadas para determinar a ação bioativadora do tiametoxam, podemos destacar incrementos no índice de emergência em feijoeiro (PYNENBURG et al., 2011); aumentos na altura de planta, comprimento de raiz e da parte aérea em trigo (PERELLÓ; DAL BELLO, 2011); aumento na altura das plantas e na atividade enzimática da nitrato redutase, fenilalanina amônia-liase e conteúdo de proteína foliar em trigo (MACEDO; CASTRO, 2011) o desenvolvimento radicular, germinação, emergência, comprimento radicular e da parte aérea das plântulas de trigo e cevada (ALMEIDA et al., 2012).

Mas pouca informação sobre a ação fisiológica dessa molécula é reportada sobre o cultivo do arroz, sendo que seu uso via tratamento das sementes no Brasil é autorizado para o controle de: *Oryzophagus oryzae*, *Procornitermes triacifer*, *Elasmopalpus lignosellus* e *Deois flavopicta*, entre as doses de 200 e 400 mL do produto comercial (Cruiser 350 FS), conforme o inseto observado e a infestação da lavoura (MAPA, 2011).

Objetivamos com essa pesquisa determinar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos promovidos pelo bioativador, durante o desenvolvimento e produção da cultura do arroz.

4.2 Desenvolvimento

4.2.1 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, entre 11/10/2011 e 24/02/2012, em delineamento de blocos aleatorizados. As plantas de arroz foram cultivadas em vasos com capacidade para 20 litros, preenchidos com um substrato, que apresentava como características químicas: $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ 5,7; M.O.: 47 g dm^{-3} ; P: 163 mg dm^{-3} ; K: $2,8 \text{ mmol dm}^{-3}$; Ca: 62 mmol dm^{-3} e Mg: 20 mmol dm^{-3} , sendo que houve adubação de cobertura seguindo a recomendação de Raij, et al. (1996).

Os tratamentos consistiram da aplicação de tiametoxam nas doses de 0; 17,5; 35,0; 70,0 e 105,0 g de i.a., por 100 kg de sementes, com o plantio de dez sementes por vaso, sendo que aos 7 e 14 dias após o plantio (DAP) efetuaram-se mensurações no índice de emergência (%), e posteriormente a última contagem de emergência ocorreu um desbaste, com a manutenção de três plantas por vaso. A partir dos 21 DAP até 49 DAP, semanalmente, foram realizadas medidas na altura das plantas (cm), com auxílio de uma trena, tendo sido tomadas medidas da superfície do solo até a folha mais alta estendida.

Quando as plantas encontravam-se no estágio V6 de desenvolvimento (COUNCE; KEISLING; MITCHELL, 2000), houve a coleta de duas folhas completamente expandidas em cada vaso, uma folha foi utilizada para determinação do conteúdo de pigmentos foliares fotossinteticamente ativos, com quatro repetições, através da metodologia de extração por solvente (80% acetona), com leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645, 652 e 663 nm para as clorofilas a, b e total (WITHAM et al., 1971), e de 470 nm para os carotenóides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983), e modificado de acordo com Scopel et al. (2011) sem o processo de maceração dos tecidos vegetais.

Com os valores obtidos nessas leituras, aplicaram-se as seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila a} = [(12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}) * \frac{V}{1000 * W}]$$

$$\text{Clorofila b} = [(22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}]$$

$$\text{Clorofila total} = [(20,2 * A_{645} + 8,02 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}]$$

$$\text{Carotenóides} = \frac{[(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl\ a - 104 * Cl\ b)/229]}{1000 * W}$$

Onde: A = absorvância em determinado comprimento de onda; V = volume; W = peso da amostra. Os resultados foram expressos em miligrama do pigmento por grama de peso fresco de tecido foliar (mg g⁻¹).

A outra folha coletada em estágio V6, foi utilizada para análise de diagnose nutricional foliar, com três repetições, essas amostras foram acondicionadas em sacos de papel kraft® e encaminhadas ao Laboratório de Tecidos Vegetais, do Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP, onde foram determinados os teores dos macronutrientes: nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, com os valores expressos em g kg⁻¹.

Para o ensaio da atividade foliar de fenilalanina amônia-liase (PAL) (EC 4.3.1.24), o material foi coletado no estágio reprodutivo, entre R2-R3, fase de enchimento da panícula na folha bandeira e aparecimento da panícula abaixo da folha bandeira (COUNCE; KEISLING; MITCHELL, 2000).

Utilizou-se a metodologia adaptada de Redmann et al. (1999), as amostras de 100 mg das folhas foram maceradas com nitrogênio líquido em gral de porcelana, e posteriormente acondicionadas em tubos eppendorf de 1,5 mL e centrifugadas com 1 mL de tampão fosfato (pH 8,0) a 10000 rpm, por 10 min a 4°C. A reação ocorreu em tubos de ensaio incubados a 37 °C por 1 h, com retirada de 400 µL desse extrato, e adição de 800 µL de tampão TRIS-HCL 0,5 M (pH 8,8) e 800 µL de L-fenilalanina (6µM), a reação foi paralisada com a adição de 100 µL de HCl (5 N), em seguida as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 290 nm. Os resultados foram expressos em µg de ácido *trans*-cinâmico h⁻¹ g⁻¹ matéria fresca.

Ao final do ciclo das plantas foram analisados os parâmetros produtivos, com verificação do: número de perfilhos férteis, número de panículas por planta, número de ramificações secundárias por panícula, número de espiguetas por panícula, número de grãos por panícula, fertilidade de espiguetas (%), massa seca das panículas (g), massa seca de 100 grãos (g), massa seca total de grãos (g) e índice de colheita (pela relação entre a massa seca de grãos e a produção de fitomassa seca total aérea).

Após a obtenção dos resultados foi realizada a análise de variância, sendo que as médias dos tratamentos foram submetidas à análise de regressão pela programação PROC REG (SAS, 2009). Comprovaram-se os modelos matemáticos mais adequados quando a análise do teste F

para a regressão foi significativo ($P < 0.05$) e o coeficiente de determinação (R^2) apresentou maior precisão, elegendo-se o modelo polinomial quadrático ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \varepsilon$), para todas as variáveis que apresentaram significância.

4.2.2 Resultados e Discussão

As sementes tratadas com o bioativador não apresentaram alterações significativas para os parâmetros de emergência aos 7 DAP e 14 DAP, ou seja, o uso de doses crescentes do tiametoxam não beneficiou e tampouco prejudicou a germinação das sementes, segundo a Tabela 4.1 (ANEXOS). O mesmo comportamento foi observado para altura das plantas aos 21, 28, 35, 42 e 49 DAP, conforme a Tabela 4.1 (ANEXOS), esses resultados corroboram pesquisa anterior de Macedo e Castro (2011), os quais consideram que esse inseticida, em sementes de trigo, não modifica o desenvolvimento inicial das plântulas cultivadas em ambiente protegido, e que as doses mais elevadas do tiametoxam não promovem fitotoxidez.

Com relação ao conteúdo de pigmentos foliares fotossinteticamente ativos, foram observados efeitos significativos de segunda ordem para análise da regressão, de acordo com a Tabela 4.2 (ANEXOS), para os seguintes parâmetros: clorofila a, clorofila b, clorofila total e carotenóides (Figura 4.1), resultado similar foi observado para plantas de grão-de-bico, onde a dose de 5 ppm dos inseticidas: aldicarbe, carbofuran, phorato, fensulfothion e fenamiphos, promoveu incremento do conteúdo total de clorofilas, e a dose de 25 ppm, dos mesmos inseticidas, levou a decréscimos significativos para essa variável (TIYAGI; AJAZ; AZAM, 2004). Enquanto para o conteúdo de carotenóides observamos comportamento muito similar à atividade da fenilalanina amônia-liase (Figura 4.2), a qual é considerada a enzima chave do metabolismo secundário, percussora da síntese de pigmentos acessórios, ou compostos relacionados ao mecanismo de defesa das plantas, como é o caso dos carotenóides (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Figura 4.1 – Conteúdo de clorofila a (A), clorofila b (B), clorofila total (C) e carotenoides (D) em plantas de arroz, no estágio V6, submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=3$, * $P<0,05$)

A partir de nossos resultados anteriores, com plantas de trigo e braquiária, é possível ponderar que o uso do tiametoxam influencia diretamente o metabolismo do nitrogênio, por favorecer maior absorção radicular desse nutriente (MACEDO; CASTRO, 2011; MACEDO et al., 2012), que é o maior constituinte da síntese de aminoácidos, tendo o glutamato (GLU) como o primeiro aminoácido sintetizado (HELDT; PIECHULLA, 2011), sendo esse aminoácido o precursor da síntese do anel tetrapirrólico, o principal componente estrutural dos pigmentos clorofilados, que têm seu anabolismo a partir da conversão do GLU em alanina (ALA), posteriormente duas moléculas de ALA se condensam para formar uma molécula de porfobilinogen (PBG), e a condensação de 4 PBG forma um tetrapirrol linear, que necessita ser modificado em anel para sintetizar a protoclorofila e posteriormente as clorofilas a e b (SHOEFS; BERTRAND, 2005).

Com relação a atividade da enzima PAL foi constatado um efeito de segunda ordem para esse parâmetro, conforme a Tabela 4.2 (ANEXOS), de modo que a dose de 70 g i.a. para 100 kg de sementes proporcionou incremento de 46,82%, em relação ao controle (Figura 4.2). Essa enzima é uma proteína chave entre o metabolismo primário e secundário (TAIZ; ZEIGER, 2009),

pois apresenta multifuncionalidade no metabolismo vegetal, regula a planta contra estresses abiótico e biótico, sendo ainda responsável por sintetizar lignina e pigmentos (antocianinas) (McDONALD; D'CUNHA, 2007). Os inseticidas neonicotinóides apresentam potencial indutor de mecanismos de defesa em plantas (FORD et al., 2010), características já reportadas para a cultura do trigo (MACEDO; CASTRO, 2011; PERELLÓ; DAL BELLO, 2011).

Figura 4.2 – Atividade de fenilalanina amônia-liase em folhas em plantas de arroz, entre os estádios R2-R3, submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. ($n=3$, * $P<0,05$)

Para os teores de nutrientes foliares não foram constatadas diferenças entre o controle e as doses crescentes do tiametoxam, de acordo com a Tabela 4.3 (ANEXOS), sendo que os níveis de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, mantiveram-se constantes até a fase vegetativa, resultado esse divergente do conceito elaborado por Castro et al. (2009), os quais alegam que o bioativador tem potencial de expressar genes para síntese de proteínas de membrana, facilitando o transporte iônico e incrementando a nutrição mineral das plantas.

Doses crescentes do tiametoxam não interferiram sobre os parâmetros produtivos: número de perfilhos férteis, número de panículas por planta, número de ramificações secundárias por panícula, número de espiguetas por panícula, número de grãos por panícula e fertilidade de espiguetas (%), conforme indica a Tabela 4.4 (ANEXOS), bem como as variáveis de massa seca das panículas (g), massa seca de 100 grãos (g), massa seca total de grãos (g) e índice de colheita, conforme a Tabela 4.5 (ANEXOS). Esses resultados apontam que o uso do tiametoxam não promoveu e nem prejudicou a produção das plantas de arroz, de modo que sua ação sobre o conteúdo de pigmentos e a atividade da PAL, não propiciou respostas de ganho na produção dessa cultura.

4.3 Conclusões

O uso do tiametoxam em sementes de arroz, em ambiente protegido, apresentou modificações no teor de pigmentos fotossinteticamente ativos e na atividade de fenilalanina amônia-liase, porém esses resultados não promoveram ganhos na produção dos grãos.

Referências

- ALMEIDA, A.S.; LAUXEN, L.R.; VILLELA, F.A.; MENEGHELLO, G.E.; TILLMANN, M.A. Physiological performance of wheat and barley seeds treated with bioactivator. **American Journal of Experimental Agriculture**, New York, v. 2, n. 1, p. 90-101, 2012.
- ALVAREZ, R.C.F.; CRUSCIOL, C.A.C.; RODRIGUES, J.D.; ALVAREZ, A.C.C. Marcha de absorção de nitrogênio de cultivares de terras altas com diferentes tipos de plantas. **Científica**. Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 162-169, 2006.
- CALAFIORI, M.H.; BARBIEIRI, A.A. Effects of seed treatment with insecticide on the germination, nutrients, nodulation, yield and pest control in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) culture. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 26, n. 1, p. 97-104, 2001.
- CATANEO, A.C.; FERREIRA, L.C.; CARVALHO, J.C.; ANDRÉO-SOUZA, Y.; CORNIANI, N.; MISCHAN, M.M.; NUNES, J.C. Improved germination of soybean seed treated with thiamethoxam under drought conditions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 38, p. 248-251, 2010.
- CASIDA, J.E. Neonicotinoid metabolism: compounds, substituents, pathways, enzymes, organisms, and relevance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 59, p. 2923-2931, 2011.
- CASTRO, P.R.C.; SERCILOTO, C.M.; PEREIRA, M.A.; RODRIGUES, J.L.M.; ROSSI, G. **Agroquímicos de controle hormonal, fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: Série Produtor Rural, ESALQ – DIBD, 2009. 46p.
- COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.
- GROHS, M.; MARCHESAN, E.; ROSO, R.; FORMENTINI, T.C.; OLIVEIRA, M.L. Desempenho de cultivares de arroz com uso de reguladores de crescimento, em diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 6, p. 776-783, 2012.
- HELDT, H.W.; PIECHULLA, B. **Plant biochemistry**, 4th ed. , San Diego: Elsevier Academic Press, 2011. 656p.
- LICHTENTHALER, H.; WELLBURN, A. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, London, n. 603, p. 591-592, 1983.

MACEDO, W.; CASTRO, P.R.C. Thiamethoxam: molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, n. 100, 299-304, 2011.

MACEDO, W.R.; FERNANDES, G.M.; POSSENTI, R.A.; LAMBAIS, G.R.; CASTRO, P.R.C. Responses in root growth, nitrogen metabolism, and nutritional quality in *Brachiaria* with the use of thiamethoxam. **Acta Physiologiae Plantarum**. Kraków. In print. Disponível em: <DOI:10.1007/s11738-012-1064-1>. Acesso em: 05 set. 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. 2011. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 04 set 2012.

McDONALD, M.J.; D'CUNHA, G.B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. **Biochemistry and Cell Biology**, Ottawa, v. 85, n. 3, p. 273-282, 2007.

PERELLÓ, A.E.; DAL BELLO, G.M. Suppression of tan spot and plant growth promotion of wheat by synthetic and biological inducers under field conditions. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 158, n. 3, p. 267-274, 2011.

PREETHA, G.; STANLEY, J. Influence of neonicotinoid insecticides on the plant growth attributes of cotton and okra. **Journal of Plant Nutrition**. New York, v. 35, p. 1234-1245, 2012.

PYNENBURG, G.M.; SIKKEMA, P.H.; GILLARD, C.L. Agronomic and economic assessment of intensive pest management of dry bean (*Phaseolus vulgaris*). **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 340-348, 2011.

RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.C. **Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo**. Campinas: Boletim Técnico 100, 1996.

REDMAN, R.S.; FREEMAN, S.; CLIFTON, D. R.; MORREL, J.; BROWN, G.; RODRIGUES, R.J. Biochemical analysis of plant protection afforded by nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 119, n. 2, p. 795-804, 1999.

YOKOYAMA, L.P. O arroz no Brasil de 1985/86 a 1999/00: aspectos conjunturais. In: CONGRESSO DA CADEIA PRODUTIVA DE ARROZ, 1., REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ, 7., 2002. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. p.96-99.

SCOPEL, W.; BARBOSA, J. Z.; VIEIRA, L. M. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência – ACET**. Concórdia, n. 2, 87-94, 2011.

SHOEFS, B.; BERTRAND, M. Chlorophyll biosynthesis – a review. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of Photosynthesis**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.37-54.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. Santarém, E.R. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

TIYAGI, S.A.; AJAZ, S.; AZAM, M.F. Effect of some pesticides on plant growth, root nodulation and chlorophyll content of chickpea. **Archives of Agronomy and Soil Science**, London, v. 50, n. 6, p. 529-533, 2004.

WITHAM, F.H.; BLAYDES, D.F.; DEVLIN, R.M. **Experiments in plant physiology**. New York: D. Van Nostrand, 1971. p. 55-58.

5 TIAMETOXAM NO CULTIVO DO MILHO: AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM AMBIENTE CONTROLADO E NO CAMPO

Resumo

O tratamento de sementes com pesticidas é uma prática agrícola que confere às plântulas proteção contra ataque de pragas e doenças, entretanto poucos estudos referem-se aos efeitos metabólicos e fisiológicos proporcionados por esses produtos na cultura do milho. Entre as moléculas que apresentam este efeito destaca-se o tiametoxam, inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides. O trabalho objetivou verificar o efeito das doses 0; 17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g i.a. do tiametoxam, via tratamento de sementes, em ambiente controlado e no campo. Observou-se que o tiametoxam alterou a concentração de pigmentos fotossintetizantes foliares em ambas condições de crescimento, bem como promoveu aumentos na massa seca da parte aérea das plantas cultivadas em casa-de-vegetação, porém não influenciou os índices produtivos no campo. Esses resultados permitem concluir que o produto em questão altera o metabolismo vegetal, mas há necessidade de confirmar sua atividade bioativadora para a cultura do milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Inseticida; Bioativador; Pigmentos fotossintéticos

Abstract

Treating seeds with pesticides is a practice that confers seedlings protection against pests and diseases, however little research has been carried out on the physiological effects generated by these products on corn crop. The study aimed to determine the effect of doses 0; 17.5, 35.0, 52.5 and 70.0 g ai of thiamethoxam as seed treatment, in a controlled environment and in the field. We observed that the concentration of thiamethoxam altered leaf photosynthetic pigments in both growth conditions, as well as promoted increases in shoot dry weight of plants grown in a greenhouse, but did not influence the production indices in field. These results indicate that the product in question alters plant metabolism, but it is necessary to confirm it bioactivator activity in corn crop.

Keywords: Insecticide; Vigor; Bioactivator; Harvest index

5.1 Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se destaca por ser fonte de matéria prima que subsidia desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, apresenta uma elevada gama de utilização, e elevado impacto econômico mundial (CAIXETA et al., 2010). Na prática, essa cultura é extremamente suscetível aos fatores abióticos e bióticos, de modo que para evitar perdas decorrentes das ações de insetos-praga utiliza-se o tratamento de sementes para combater as pragas iniciais da cultura e conseqüentemente, incrementar o desempenho das plântulas no início do crescimento (ELBERT et al., 2008).

Além de combater as pragas, a utilização de pesticidas no tratamento de sementes traz como vantagens a redução dos impactos ambientais, bem como a diminuição do período de exposição do operador aos produtos (SIRCHIO; SUTTON, 2007). E devido ao uso de inseticidas do grupo dos neonicotinóides novas e modernas tecnologias de aplicação tem sido utilizadas, de modo que em um hectare de cultivo de milho se aplicava 1.350 g do i.a. do inseticida lindane, via pulverização, com o uso dos neonicotinóides a quantidade foi reduzida para 100 e 40 g do i.a. de imidaclopride e clothianidin, respectivamente, via tratamento de sementes (JESCHKE et al., 2010).

Recentemente, algumas moléculas têm levado a efeitos fisiológicos nas plantas, capazes de modificar seu metabolismo e morfologia, de modo a influenciar o seu desenvolvimento e rendimento, sendo que quando o agroquímico apresenta essa atividade pode ser classificado como bioativador (CASTRO et al., 2009). Entre essas moléculas, há destaque para o tiametoxam (TMX), um inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides.

Nosso trabalho teve por objetivo verificar os efeitos de doses crescentes do inseticida tiametoxam, sobre parâmetros biométricos, metabólicos e produtivos do milho 'Pioneer P1630H'.

5.2 Desenvolvimento

5.2.1 Material e Métodos

Primeiro experimento

Esse ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação, no Departamento de Agronomia, Campus CEDETEG da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), no município de Guarapuava, PR, Brasil (25° 22' S e 51° 29' W), durante a safra 2011/2012, com plantas de *Zea mays* L., tratadas com tiametoxam, via sementes, nas doses de: 0; 17,5; 35,0; 52,5 e 70,0 g por 100 kg⁻¹ de sementes, com diluição em 800 mL de água, e posterior agitação em sacos plásticos para homogeneização do produto.

O plantio das sementes ocorreu no dia 09/09/2011, onde foram cultivadas 10 sementes em vasos plásticos com capacidade para 5 dm³ e preenchidos com solo sub-superficial, com as seguintes características químicas: pH (CaCl₂): 4,7; Matéria Orgânica: 36,2 g dm⁻³; P: 0,7 mg dm⁻³; K: 0,9 mmol dm⁻³; Ca: 7,0 mmol dm⁻³ e Mg: 11,0 mmol dm⁻³. Este solo apresentava saturação

de base igual a 35,3%, tendo a adubação de acordo com as recomendações para a formação da cultura (OLIVEIRA, 2003). O delineamento experimental foi em blocos aleatorizados, constituído por cinco tratamentos e 8 blocos.

Aos 14 dias após o plantio (DAP) foram determinados o índice de emergência (%) e o diâmetro do colmo (cm), com auxílio de paquímetro; e a partir de 21 DAP foram mensuradas semanalmente as alturas das plantas (cm), através de trena milimetrada, até os 42 DAP, e nesse estágio de desenvolvimento se determinaram a massa seca da parte aérea (g) e a massa seca de raiz (g), com auxílio de balança de precisão.

Também se quantificou o conteúdo dos pigmentos fotossintetizantes: clorofila a, clorofila b, carotenóides e clorofila total, aos 42 DAP, com auxílio de espectrofotômetro SP-2000 UV Spectrum, utilizando metodologia de extração por solvente (80% acetona) com leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645, 652 e 663 nm para as clorofilas a, b e total (WITHAM et al., 1971), e de 470 nm para os carotenóides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983), sem o processo de maceração dos discos foliares, sendo estes mantidos em condição protegida de luz (SCOPEL; BARBOSA; OLIVEIRA, 2011).

Com os valores obtidos nessas leituras, aplicaram-se as seguintes fórmulas:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila } a &= [(12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Clorofila } b &= [(22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Clorofila total} &= [(20,2 * A_{645} + 8,02 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Carotenóides} &= \frac{[(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl\ a - 104 * Cl\ b)/229]}{1000 * W} \end{aligned}$$

Onde: A = absorvância em determinado comprimento de onda; V = volume; W = peso da amostra. Os resultados foram expressos em miligrama do pigmento por grama de peso fresco de tecido foliar (mg g⁻¹).

Segundo experimento

O segundo experimento foi conduzido à campo, na Fazenda Três Capões pertencente ao Grupo Santa Maria, localizada no município de Guarapuava, PR, Brasil (25° 25' S e 51° 39' W), o solo da área foi classificado como Latossolo Bruno Distroférrico típico, de textura muito argilosa, que apresentava as seguintes características químicas: pH (CaCl₂): 5,9; Matéria

Orgânica: 45,0 g dm⁻³; P: 5,3 mg dm⁻³; K: 2,5 mmol dm⁻³; Ca: 46,4 mmol dm⁻³ e Mg: 19,6 mmol dm⁻³. Este solo apresentava saturação de base igual a 59,45,3%, a área foi adubada com N-P-K (8-20-15) na dose de 350 kg ha⁻¹, distribuído na linha, e a adubação nitrogenada de cobertura se deu com 120 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio (OLIVEIRA, 2003). O delineamento foi em blocos aleatorizados, constituído por cinco tratamentos e 4 blocos, em uma área experimental de 350 m².

A semeadura foi realizada manualmente, com profundidade de semeadura de 4 cm, no dia 08/10/2011 e espaçamento de 0,45 m entre linhas, e distribuição de 16 sementes por 5 metros lineares, perfazendo uma densidade de 70.000 plantas por hectare. E a colheita foi realizada manualmente na área útil da parcela, ou seja, as duas linhas centrais de cada tratamento deixando duas linhas de bordadura, e ocorreu no dia 07/03/2012, aos 151 DAP, no momento da colheita a umidade relativa estava próxima dos 60% e a temperatura se encontrava em 19 °C.

Aos 21 DAP foi realizada análise de índice de emergência (%), através da relação entre as plântulas emergidas e as sementes cultivadas, multiplicado por 100, e a partir de 25 DAP, semanalmente, até os 60 DAP foram mensuradas as alturas das plantas (cm), com auxílio de trena milimetrada. Aos 51 DAP procedeu-se a análise dos pigmentos fotossintetizantes foliares através da metodologia de extração por solvente (80% acetona) com leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645, 652 e 663 nm para as clorofilas a, b e total (WITHAM et al., 1971), e de 470 nm para os carotenoides (LICHTENTHALER; WELLBURN, 1983), sem o processo de maceração dos discos foliares, sendo estes mantidos em condição protegida de luz (SCOPEL; BARBOSA; OLIVEIRA, 2011).

Com os valores obtidos nessas leituras, aplicaram-se as seguintes fórmulas:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila } a &= [(12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Clorofila } b &= [(22,9 * A_{645} - 4,68 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Clorofila total} &= [(20,2 * A_{645} + 8,02 * A_{663}) * \frac{V}{1000 * W}] \\ \text{Carotenóides} &= \frac{[(1000 * A_{470} - 3,27 * Cl\ a - 104 * Cl\ b)/229]}{1000 * W} \end{aligned}$$

Onde: A = absorvância em determinado comprimento de onda; V = volume; W = peso da amostra. Os resultados foram expressos em miligrama do pigmento por grama de peso fresco de tecido foliar (mg g⁻¹).

Na colheita, aos 151 DAP, 20 espigas de cada unidade experimental foram acondicionadas em sacos de rfia e em seguida transportadas para o municpio de Piracicaba, SP, onde foram devidamente secas em estufa at atingir a umidade de 13%, para posteriormente serem realizadas as mensuraes de alguns parmetros produtivos: comprimento (cm) e circunferncia de espiga (cm), com auxlio de fita mtrica; massa fresca da espiga (g) e massa seca dos gros de 20 espigas (g), atravs de balana de preciso; alm da produtividade estimada (kg ha⁻¹).

Anlise estatstica

Os dados coletados foram submetidos anlise de regresso pela programaco PROC REG (SAS, 2009). Comprovaram-se os modelos matemticos mais adequados quando a anlise do teste F para a regresso foi significativa ($P < 0.05$) e o coeficiente de determinao (R^2) apresentou maior preciso, elegendo o modelo polinomial quadrtico ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \varepsilon$) ou polinomial cbico ($\hat{y} = a_0 + a_1x + a_2x^2 + a_3x^3 + \varepsilon$) quando mais ajustado.

5.2.2 Resultados e Discusso

Durante a conduo do experimento em casa-de-vegetao no constatamos resposta do tiametoxam sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas, visto que o ndice de emergncia, o dimetro de colmo, a altura da planta e a massa seca radicular das plantas de milho submetidas a doses crescentes do TMX, no diferiram do tratamento controle, conforme a Tabela 5.1 (ANEXOS). No entanto, a mteria seca da parte area apresentou regresso cbica (Figura 5.1), esse incremento na mteria seca da parte area tambm foi observado na cultura do trigo, quando se utilizaram doses crescentes de tiametoxam (MACEDO; CASTRO, 2011).

Figura 5.1 – Massa seca da parte area de plantas de milho, submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padro da mdia ($n=8$, * $P < 0,05$)

Para as análises de pigmentos foliares verificamos uma resposta cúbica, com relação ao incremento das doses do TMX, de acordo com a Tabela 5.2 (ANEXOS). Esse comportamento para a concentração de clorofila a, clorofila b, clorofilas totais e carotenóides, em folhas de milho (Figura 5.2), mostrou-se interessante, tendo em vista que o comportamento da massa seca da parte aérea corresponde igualmente ao comportamento dos pigmentos foliares, o que nos leva a crer que há uma melhor interceptação dos fótons pelos fotossistemas I e II, bem como houve um aperfeiçoamento do mecanismo de fotoproteção através dos carotenoides (TAIZ; ZEIGER, 2009), o que levou a planta incrementar sua fotossíntese, até certa concentração do TMX. Esse aspecto fisiológico de incrementos na massa seca da planta, correlacionado ao conteúdo de pigmentos fotossinteticamente ativos que levaram a maior eficiência fotossintética, já foi reportado para diversos cultivos de interesse agrônomo (BROUGHAM, 1960).

Figura 5.2 – Conteúdo de clorofila a (mg g⁻¹) (A), clorofila b (mg g⁻¹) (B), clorofila total (mg g⁻¹) (C), carotenóides (mg g⁻¹) (D) em plantas de milho, submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=3$, * $P<0,05$)

Nas condições de cultivo do milho a campo constatamos que o uso do tiametoxam não apresentou respostas para as variáveis: emergência aos 21 DAP e altura de plantas, entre 25 e 60 DAP, conforme a Tabela 5.3 (ANEXOS), e nem para as variáveis de produção: comprimento e

circunferência de espiga, massa fresca de espiga, massa seca de grãos de 20 espigas e produtividade, de acordo com a Tabela 5.5 (ANEXOS).

Porém, o TMX expressou sua ação bioativadora na síntese de pigmentos foliares, aos 51 DAP, conforme a Tabela 5.4 (ANEXO), apresentando uma resposta cúbica, com a dose de 52,5 g i.a. proporcionando o menor conteúdo de clorofila a, clorofila b e clorofila total, enquanto a dose de 70 g i.a. apresentou a melhor reposta para essas variáveis (Figura 5.3).

Figura 5.3 – Conteúdo de clorofila a (mg g⁻¹) (A), clorofila b (mg g⁻¹) (B) e clorofila total (mg g⁻¹) (C) em plantas de milho, submetidas a doses crescentes de tiametoxam, via tratamento de sementes. Barras verticais indicam o erro padrão da média ($n=3$, $*P<0,05$)

Esse comportamento foi inversamente proporcional ao milho cultivado em casa-de-vegetação, que teve na dose de 52,5 g i.a. as melhores concentrações de pigmentos, enquanto a dose de 70 g i.a. foi prejudicial à síntese dos pigmentos. Ponderamos que o fator ambiental influenciou as potenciais respostas bioativadoras do TMX.

A capacidade de inseticida alterar o metabolismo de síntese dos pigmentos fotossintetizantes já foi reportada por Mishra et al. (2008), os quais observaram incrementos de 10 e 7% no conteúdo de clorofila a e clorofila b, respectivamente, quando utilizaram o inseticida dimetoato em plantas de *Vigna unguiculata*.

Em nossos experimentos com trigo e braquiária, observamos que plantas submetidas ao TMX apresentaram alterações consistentes no metabolismo do nitrogênio (MACEDO; CASTRO, 2011; MACEDO et al., 2012), onde a maior assimilação desse nutriente, favorece a síntese de aminoácidos, sendo o glutamato (GLU) o primeiro aminoácido constituído nas plantas (HELDT; PIECHULLA, 2011), e sabendo-se que esse aminoácido é o precursor da síntese do anel tetrapirrólico, o principal constituinte das clorofilas a e b (SHOEFS; BERTRAND, 2005), consideramos que essa rota metabólica seja a chave para compreensão do incremento desses pigmentos pelo uso do TMX.

5.3 Conclusões

O tiametoxam alterou a síntese de pigmentos fotossinteticamente ativos nas folhas, mas essa alteração no metabolismo não culminou em ganhos nos índices produtivos. Outros estudos são necessários para determinar com exatidão o comportamento fisiológico do milho, quando submetido ao tiametoxam.

Referências

- BROUGHAM, R.K. The relationship between the critical leaf area, total chlorophyll content, and maximum growth-rate of some pasture and crops plants. **Annals of Botany**, London, v. 24, n. 4, p. 463-474, 1960.
- CAIXETA, D.F.; FAGAN, E.B.; SILVA, C.P.L.; MARTINS, K.V.; ALVES, V.A.B.; SILVA, R. B.; GONÇALVES, L.A. Crescimento da plântula de milho à aplicação de inseticidas na semente sob diferentes disponibilidades hídricas. **Revista da FZVA**, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 78-87, 2010.
- CASTRO, P.R.C.; SERCILOTO, C.M.; PEREIRA, M.A.; RODRIGUES, J.L.M.; ROSSI, G. **Agroquímicos de controle hormonal, fosfitos e potencial de aplicação dos aminoácidos na agricultura tropical**. Piracicaba: Série Produtor Rural, ESALQ-DIBD, 2009. 83p.
- ELBERT, A.; HASS, M.; SPRINGER, B.; THIELERT, W.; NAUEN, R. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. **Pest Management Science**, Sussex, v. 64, p. 1099-1105, 2008.
- HELDT, H.W.; PIECHULLA, B. **Plant biochemistry**. 4th.ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011. 656p.
- JESCHKE, P.; NAUEN, R.; SCHINDLER, M.; ELBERT, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 59, 2897-2908, 2011.

MACEDO, W.R.; CASTRO, P.R.C. Thiamethoxam: molecule moderator of growth, metabolism and production of spring wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.100, n.3, p.299-304, 2011.

MACEDO, W.R.; FERNANDES, G.M.; POSSENTI, R.A.; LAMBAIS, G.R.; CASTRO, P.R.C. Responses in root growth, nitrogen metabolism, and nutritional quality in *Brachiaria* with the use of thiamethoxam. **Acta Physiologiae Plantarum**. Kraków. In print. Disponível em: <DOI:10.1007/s11738-012-1064-1>. Acesso em: 05 set. 2012.

MISHRA, V.; SRIVASTAVA, G.; PRASAD, S.M.; ABRAHAM, G. Growth, photosynthetic pigments and photosynthetic activity during seedling stage of cowpea (*Vigna unguiculata*) in response to UV-B and dimethoate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v.92, n.1, p.30-37, 2008.

OLIVEIRA, E.L. Milho. In: OLIVEIRA, E.L. **Sugestao de adubacao e calagem para culturas de interesse economico no Estado do Parana**. Londrina: IAPAR, 2003. p.22-23.

SCOPEL, W.; BARBOSA, J.Z.; VIEIRA, L.M. Extração de pigmentos foliares em plantas de canola. **Unoesc & Ciência – ACET**. Concórdia, n. 2, p.87-94, 2011.

SIRCHIO, K.; SUTTON, A. Syngenta professional products focuses chemical technology on new applications to enhance the quality of life. **Chimia**, Zurich, v.67, p.17-22, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. Santarém, E.R. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

SHOEFS, B.; BERTRAND, M. Chlorophyll biosynthesis – a review. In: PESSARAKLI, M. (Ed.). **Handbook of Photosynthesis**. Boca Raton: CRC Press, 2004. p.37-54.

ANEXOS

Tabela 2.1 – Análise da variância e da regressão para os parâmetros biométricos das plantas de trigo submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2010

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Emergência (%)	Altura (14 DAP) (cm)	Altura (21 DAP) (cm)	Altura (28 DAP) (cm)	Altura (35 DAP) (cm)	Altura (42 DAP) (cm)	SPAD	Massa seca parte aérea (g)
0	93,00 (±3,34)	24,32 (±0,28)	32,79 (±0,50)	40,81 (±0,76)	44,55 (±0,52)	52,97 (±0,38)	42,47 (±0,51)	42,00 (±3,46)
8,75	85,00 (±3,72)	23,44 (±0,26)	32,15 (±0,36)	40,43 (±0,50)	44,77 (±0,56)	52,12 (±0,61)	42,00 (±0,94)	39,40 (±2,78)
17,5	86,00 (±2,66)	23,25 (±0,44)	32,12 (±0,55)	41,18 (±0,84)	45,17 (±0,60)	52,01 (±1,14)	42,96 (±1,13)	44,90 (±4,45)
35	85,00 (±3,07)	23,69 (±0,44)	32,59 (±0,63)	40,63 (±0,85)	44,46 (±0,64)	50,87 (±0,86)	44,67 (±1,09)	44,90 (±1,35)
70	84,00 (±4,76)	23,90 (±0,35)	33,90 (±0,58)	40,60 (±0,67)	44,42 (±1,52)	53,25 (±0,71)	42,96 (±0,79)	59,20 (±3,22)
C. V. (%)	3,12	4,90	5,18	5,75	6,08	4,76	6,78	22,09
Valor F	1,03	4,21*	4,79*	0,14	0,13	1,41	1,20	15,35**
Regressão	ns	Q	Q	ns	ns	ns	ns	L

*Significância ($P<0,05$), ns: não-significante, Q: quadrático. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=10.

Tabela 2.2 - Análise da variância e da regressão para o comprimento, área e volume radicular das plantas de trigo submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2010

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Comprimento radicular (cm)	Área radicular (cm ²)	Volume radicular (cm ³)
0	44,75 (±0,71)	42,20 (±1,93)	18,93 (±1,42)
8,75	47,70 (±2,37)	42,35 (±3,17)	20,65 (±2,27)
17,5	42,21 (±1,30)	45,95 (±8,61)	26,52 (±6,70)
35	44,93 (±2,84)	55,69 (±5,15)	31,01 (±3,87)
70	45,80 (±2,04)	54,95 (±2,51)	31,49 (±3,09)
C. V. (%)	8,90	20,39	30,46
Valor F	0,98	6,24*	8,20*
Regressão	ns	L	L

* Significância ($P<0,05$), ns: não-significante, L: linear. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=8.

Tabela 2.3 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros proteína total, atividade de nitrato redutase e atividade de fenilalanina amônia-liase das plantas de trigo submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2010

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Proteína total solúvel (mg g ⁻¹ MF)	Atividade de nitrato redutase (μM NO ₂ ⁻ g MF h ⁻¹)	Atividade de Fenilalanina amônia-liase (μg ácido trans-cinamic mg ⁻¹ MF h ⁻¹)
0	8,32 (±0,75)	3,33 (±0,16)	1,02 (±0,05)
8,75	9,12 (±0,91)	3,40 (±0,22)	1,40 (±0,14)
17,5	10,25 (±0,76)	3,64 (±0,31)	1,51 (±0,07)
35	10,09 (±0,51)	2,27 (±0,15)	1,51 (±0,10)
70	10,56 (±0,81)	2,37 (±0,22)	1,43(±0,07)
C. V. (%)	24,99	7,91	4,44
Valor F	5,07*	2,29**	7,97**
Regressão	L	L	Q

*Significância ($P<0,05$), **Significância ($P<0,01$), ns: não-significante, L: linear, Q: quadratico. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=10.

Tabela 2.4 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros produtivas das plantas de trigo submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2010

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Massa seca de espiga (g)	Número de perfilhos férteis (planta)	Peso de 1000 grãos (g)	Índice de colheita (%)
0	56,40 (±4,73)	7,92 (±0,60)	35,08 (±2,16)	42,32 (±1,17)
8,75	52,10 (±3,19)	7,50 (±0,48)	35,49 (±1,44)	43,36 (±0,57)
17,5	57,10 (±5,32)	7,95 (±0,54)	34,98 (±1,34)	41,91 (±1,61)
35	74,90 (±2,05)	9,35 (±0,51)	36,62 (±1,22)	46,58 (±1,09)
70	84,80 (±3,18)	11,90 (±0,70)	30,74 (±1,58)	41,13 (±1,24)
C. V. (%)	18,87	20,43	14,50	3,18
Valor F	42,04**	28,88**	2,00	4,10*
Regressão	L	L	ns	C

*Significância ($P<0,05$), **Significância ($P<0,01$), ns: não-significante, L: linear, C: cúbico. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=10.

Tabela 3.1 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros biométricos das plantas de braquiária submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Emergência (%) (14 DAP)	Altura (21 DAP) (cm)	Altura (28 DAP) (cm)	Altura (35 DAP) (cm)	Número de perfilhos (40 DAP)	Área foliar (cm ²) (40 DAP)
0	83,75 (±4,19)	32,10 (±0,69)	45,13 (±1,14)	56,81 (±1,45)	3,75 (±0,36)	526,16 (±75,43)
17,5	83,75 (±3,23)	31,89 (±0,91)	45,12 (±0,75)	55,31 (±1,90)	3,50 (±0,37)	368,28 (±34,45)
35	75,00 (±5,66)	32,52 (±1,09)	46,11 (±1,33)	57,56 (±2,20)	3,93 (±0,52)	450,30 (±52,27)
70	86,25 (±5,32)	32,91 (±0,80)	45,93 (±0,80)	54,59 (±1,22)	3,31 (±0,42)	329,14 (±46,05)
140	85,00 (±1,88)	32,31 (±0,42)	45,70 (±0,96)	56,09 (±1,48)	3,62 (±0,26)	389,07 (±37,04)
C. V. (%)	15,08	7,03	6,09	7,88	24,27	35,97
Valor F	1,02	0,24	0,21	0,57	0,59	2,16 [#]
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	L

[#]Significância ($P < 0,10$), ns: não-significante, L: linear. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=8.

Tabela 3.2 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros biométricos e bromatológicos das plantas de braquiária submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Biomassa folha (g) (40 DAP)	Biomassa colmo (g) (40 DAP)	Biomassa seca foliar (g) (40 DAP)	Biomassa seca colmo (g) (40 DAP)	Proteína bruta [†] (%)	Matéria seca [†] (%)	Fibra detergente neutro [†] (%)	Digestibilidade <i>In vitro</i> [†] (%)
0	11,49 (±1,58)	10,12 (±1,44)	2,09 (±0,19)	1,30 (±0,13)	22,92 (±0,52)	93,65 (±0,14)	51,31 (±0,71)	80,34 (±0,43)
17,5	9,62 (±1,26)	8,18 (±1,18)	1,68 (±0,18)	1,04 (±0,11)	23,23 (±0,34)	93,54 (±0,27)	51,40 (±0,28)	79,37 (±0,53)
35	11,99 (±1,46)	11,09 (±1,67)	1,98 (±0,24)	1,23 (±0,19)	23,07 (±0,33)	93,19 (±0,22)	52,11 (±0,59)	79,51 (±0,80)
70	8,26 (±1,30)	7,21 (±1,32)	1,54 (±0,18)	0,96 (±0,15)	23,67 (±0,95)	92,55 (±0,19)	53,03 (±0,57)	79,70 (±0,41)
140	10,44 (±1,24)	9,34 (±1,27)	1,85 (±0,21)	1,14 (±0,15)	24,92 (±0,60)	92,26 (±0,13)	51,11 (±0,57)	79,72 (±0,30)
C. V. (%)	33,56	37,54	30,07	36,01	4,87	7,98	2,17	1,37
Valor F	1,47	1,59	1,31	0,90	1,98*	0,46**	1,97	0,45
Regressão	ns	ns	ns	ns	L	L	ns	ns

*Significância ($P < 0,05$), ** Significância ($P < 0,01$), ns: não-significante, L: linear. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=8; [†]n=4.

Tabela 3.3- Análise da variância e da regressão para os parâmetros área e volume radicular, e da atividade de nitrato redutase das plantas de braquiária submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Área radicular (cm ²) [‡]	Volume radicular (cm ³) [‡]	Atividade da nitrato redutase (μmol NO ₂ ⁻ g FM h ⁻¹) [#]
0	952,67 (±173,39)	238,33 (±56,64)	2,29 (±0,23)
17,5	1729,36 (±401,98)	826,69 (±210,96)	2,76 (±0,26)
35	3240,67 (±531,42)	2699,35 (±895,57)	3,54 (±0,12)
70	4081,99 (±621,14)	3956,29 (±936,36)	3,71 (±0,13)
140	6288,13 (±1021,94)	6324,56 (±1365,58)	2,92 (±0,08)
C. V. (%)	4,75	7,46	10,21
Valor F	16,36**	23,51**	11,23**
Regressão	L	L	Q

**Significância ($P < 0,01$), ns: não-significante, L: linear, Q: quadrático. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), [‡]n=5. [#]n=3.

[#]Dados transformados (log¹⁰).

Tabela 4.1 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros biométricos em plantas de *Oryza sativa* cv. IAC-202, submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Emergência 7 DAP (%)	Emergência 14 DAP (%)	Altura 21 DAP (cm)	Altura 28 DAP (cm)	Altura 35 DAP (cm)	Altura 42 DAP (cm)	Altura 49 DAP (cm)
0	47,50 (±5,26)	72,50 (±3,13)	21,97 (±1,45)	32,50 (±1,64)	38,06 (±2,13)	46,73 (±2,81)	54,58 (±3,40)
17,5	55,00 (±5,00)	62,50 (±5,26)	25,01 (±1,28)	35,66 (±1,22)	42,23 (±1,80)	50,27 (±1,53)	56,68 (±1,37)
35	52,50 (±7,73)	63,75 (±8,43)	23,46 (±1,65)	34,91 (±1,72)	38,39 (±2,08)	47,08 (±2,61)	56,02 (±3,22)
70	43,75 (±4,19)	63,75 (±4,97)	23,48 (±1,06)	33,01 (±0,97)	41,72 (±1,92)	50,12 (±2,47)	57,50 (±2,94)
105	50,00 (±8,66)	63,75 (±5,97)	21,82 (±2,16)	29,91 (±3,14)	35,47 (±3,83)	43,60 (±4,56)	50,62 (±5,22)
C. V. (%)	35,95	24,48	0,78	15,60	18,02	17,86	17,88
Valor F	0,48	0,52	18,13	1,52	1,24	0,84	0,61
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=8.

Tabela 4.2 - Análise da variância e da regressão para pigmentos fotossintetizantes e fenilalanina amônia-liase (PAL) em plantas de *Oryza sativa* cv. IAC-202, submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Clorofila a (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila b (mg g ⁻¹ MF)	Carotenoides (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila Total (mg g ⁻¹ MF)	Atividade da PAL (µg de ácido <i>trans</i> - cinâmico g ⁻¹ MF h ⁻¹)
0	0,81 (±0,003)	0,30 (±0,005)	0,02 (±0,000)	1,11 (±0,008)	1,73 (±0,002)
17,5	1,69 (±0,005)	0,56 (±0,021)	0,04 (±0,000)	2,25 (±0,017)	1,81 (±0,001)
35	1,32 (±0,000)	0,46 (±0,005)	0,03 (±0,000)	1,77 (±0,006)	2,15 (±0,000)
70	1,43 (±0,000)	0,52 (±0,003)	0,04 (±0,000)	1,95 (±0,000)	2,54 (±0,000)
105	1,65 (±0,003)	0,59 (±0,003)	0,04 (±0,000)	2,25 (±0,008)	1,98 (±0,002)
C. V. (%)	0,37	3,87	0,73	0,86	0,15
Valor F	13760,4*	114,79*	2585,12*	2499,69*	33062,00*
Regressão	Q	Q	Q	Q	Q

*Significância ($P < 0,05$), Q: quadrático. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=3.

Tabela 4.3 - Análise da variância e da regressão para nutrientes foliares em plantas de *Oryza sativa* cv. IAC-202, submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Nitrogênio (g kg ⁻¹)	Fósforo (g kg ⁻¹)	Potássio (g kg ⁻¹)	Cálcio (g kg ⁻¹)	Magnésio (g kg ⁻¹)	Enxofre (g kg ⁻¹)
0	19,48 (±0,95)	2,72 (±0,16)	19,89 (±0,62)	3,37 (±0,69)	2,27 (±0,35)	3,21 (±0,21)
17,5	19,12 (±1,72)	2,85 (±0,12)	19,70 (±0,78)	3,37 (±0,61)	2,17 (±0,19)	3,43 (±0,11)
35	19,92 (±1,70)	2,67 (±0,20)	20,46 (±2,36)	2,47 (±0,42)	2,42 (±0,62)	2,73 (±0,24)
70	18,61 (±0,49)	2,62 (±0,11)	20,08 (±1,14)	2,53 (±0,38)	2,17 (±0,48)	3,18 (±0,23)
105	19,21 (±1,44)	3,12 (±0,41)	19,89 (±0,44)	3,98 (±0,92)	2,65 (±0,47)	3,37 (±0,35)
C. V. (%)	14,03	14,5	13,00	41,94	39,24	15,63
Valor F	0,13	0,98	0,05	0,94	0,19	1,21
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=4.

Tabela 4.4 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros produtivos em plantas de *Oryza sativa* cv. IAC-202, submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Número de perfilhos férteis	Número de panículas por planta	Ramificações secundárias por panícula	Número de espiguetas por panícula	Número de grão por panícula	Fertilidade da espiguetas (%)
0	8,00 ($\pm 0,65$)	5,00 ($\pm 0,32$)	12,01 ($\pm 0,60$)	137,67 ($\pm 11,23$)	1164,13 ($\pm 239,44$)	77,82 ($\pm 10,14$)
17,5	8,75 ($\pm 1,06$)	5,37 ($\pm 0,53$)	12,10 ($\pm 0,83$)	134,83 ($\pm 11,02$)	1320,25 ($\pm 291,88$)	84,72 ($\pm 4,95$)
35	7,25 ($\pm 0,70$)	4,62 ($\pm 0,35$)	11,02 ($\pm 0,98$)	117,33 ($\pm 15,56$)	952,50 ($\pm 199,42$)	79,22 ($\pm 8,35$)
70	8,37 ($\pm 0,84$)	5,18 ($\pm 0,42$)	12,18 ($\pm 0,50$)	137,87 ($\pm 9,91$)	1156,13 ($\pm 179,45$)	77,66 ($\pm 7,29$)
105	6,65 ($\pm 1,16$)	4,31 ($\pm 0,58$)	12,19 ($\pm 0,37$)	160,04 ($\pm 12,82$)	1062,50 ($\pm 173,71$)	75,83 ($\pm 9,87$)
C. V. (%)	33,10	26,35	16,77	25,50	56,06	29,34
Valor F	0,89	0,89	0,50	1,50	0,37	0,17
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=8.

Tabela 4.5 - Análise da variância e da regressão para os parâmetros produtivos em plantas de *Oryza sativa* cv. IAC-202, submetidas a doses crescentes do tiametoxam. Piracicaba, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Massa seca da panícula (g)	Massa seca de 100 grãos	Massa seca total de grãos (g)	Massa seca parte aéreas por planta (g)	Harvest index
0	2,55 ($\pm 0,44$)	2,15 ($\pm 0,15$)	13,52 ($\pm 3,07$)	18,28 ($\pm 1,92$)	0,39 ($\pm 0,06$)
17,5	2,63 ($\pm 0,32$)	2,25 ($\pm 0,06$)	15,20 ($\pm 3,54$)	18,22 ($\pm 2,58$)	0,43 ($\pm 0,03$)
35	2,30 ($\pm 0,45$)	2,28 ($\pm 0,08$)	11,19 ($\pm 2,51$)	15,26 ($\pm 1,72$)	0,38 ($\pm 0,04$)
70	2,50 ($\pm 0,31$)	2,23 ($\pm 0,06$)	13,02 ($\pm 2,14$)	17,03 ($\pm 1,32$)	0,40 ($\pm 0,04$)
105	2,51 ($\pm 0,29$)	2,04 ($\pm 0,22$)	12,20 ($\pm 2,07$)	15,45 ($\pm 0,94$)	0,43 ($\pm 0,06$)
C. V. (%)	42,65	17,66	59,93	30,42	34,72
Valor F	0,1	0,49	0,3	0,64	0,19
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=8.

Tabela 5.1 - Análise da variância e da regressão para parâmetros biométricos de plantas de *Zea mays* L. cultivadas em casa-de-vegetação e submetidas a doses crescentes de tiametoxam. Guarapuava, 2011

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Emergência 14 DAP (%)	Diâmetro do colmo (mm)	Altura 21DAP (cm)	Altura 28 DAP (cm)	Altura 35 DAP (cm)	Altura 42 DAP (cm)	Massa seca radicular (g)	Massa seca da parte aérea [#] (g)
0	87,50 (±4,53)	3.55 (±0.26)	10,60 (±0.91)	20,40 (±1,02)	41,61 (±1,28)	46,55 (±1,67)	4,26 (±0,43)	0,20 (±0,05)
17.5	97,50 (±2,50)	3.60 (±0.19)	13,65 (±0,87)	23,78 (±1,32)	41,13 (±1,91)	46,05 (±2,58)	2,35 (±0,49)	0,17 (±0,05)
35	86,25 (±4,19)	3.66 (±0.23)	12,83 (±1,02)	24,11 (±1,45)	44,75 (±2,06)	49,41 (±1,38)	3,84 (±0,61)	0,22 (±0,05)
52.5	85,00 (±5,97)	3.65 (±0.16)	12,31 (±1,38)	22,81 (±1,47)	41,95 (±1,78)	45,58 (±2,28)	3,47 (±1,22)	0,30 (±0,07)
70	91,25 (±3,50)	3.40 (±0.15)	12,67 (±1,34)	22,41 (±1,56)	38,37 (±1,92)	44,48 (±2,20)	3,10 (±0,48)	0,13 (±0,08)
C. V. (%)	12,35	11,35	22,66	15,62	12,51	12,80	50,31	50,18
Valor de F	1,67	4,26	1,28	1,36	1,53	0,77	1,47	2,33*
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	C

*Significância ($P<0.05$), ns: não significativo, C: cúbica. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=8.

[#]Dados transformados em log 10.

Tabela 5.2 - Resumo da análise da variância e da regressão para pigmentos foliares de plantas de *Zea mays* L., cultivadas em casa-de-vegetação e submetidas a doses crescentes de tiametoxam. Guarapuava, 2011

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Clorofila a (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila b (mg g ⁻¹ MF)	Clorofilas totais (mg g ⁻¹ MF)	Carotenóides (mg g ⁻¹ MF)
0	2,00 (±0,00)	0,80 (± 0,01)	2,80 (±0,01)	0,035 (±0,000)
17.5	1,87 (±0,01)	0,58 (± 0,01)	2,45 (±0,02)	0,033 (±0,000)
35	1,95 (±0,01)	0,78 (± 0,01)	2,73 (±0,02)	0,035 (±0,000)
52.5	1,96 (±0,01)	0,65 (± 0,01)	2,61 (±0,02)	0,035 (±0,000)
70	1,67 (±0,00)	0,63 (± 0,01)	2,31 (±0,01)	0,030 (±0,001)
C. V. (%)	1,04	3,79	1,52	1,78
Valor de F	132,24*	40,60*	78,71*	35,37*
Regressão	C	C	C	C

*Significância ($P<0.05$), ns: não significativo, C: cúbica; Q: quadrática. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=3.

Tabela 5.3 - Resumo da análise da variância e da regressão para parâmetros biométricos de plantas de *Zea mays* L. cultivadas à campo e submetidas a doses crescentes de tiametoxam. Guarapuava, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Emergência 21 DAP (%)	Altura 25 DAP (cm)	Altura 32 DAP (cm)	Altura 39 DAP (cm)	Altura 46 DAP (cm)	Altura 53 DAP (cm)	Altura 60 DAP (cm)
0	88,28 ($\pm 1,96$)	22,35 ($\pm 1,07$)	26,57 ($\pm 1,15$)	33,65 ($\pm 2,66$)	50,90 ($\pm 3,03$)	67,05 ($\pm 4,70$)	91,75 ($\pm 5,97$)
17.5	86,72 ($\pm 5,00$)	21,62 ($\pm 0,43$)	26,82 ($\pm 0,19$)	34,67 ($\pm 1,23$)	52,85 ($\pm 2,37$)	69,57 ($\pm 2,48$)	99,42 ($\pm 2,95$)
35	92,97 ($\pm 2,34$)	22,07 ($\pm 0,39$)	28,20 ($\pm 0,62$)	36,25 ($\pm 1,30$)	55,90 ($\pm 2,98$)	75,37 ($\pm 2,88$)	102,12 ($\pm 3,86$)
52.5	85,94 ($\pm 1,56$)	22,57 ($\pm 0,99$)	27,57 ($\pm 0,72$)	34,62 ($\pm 1,31$)	51,75 ($\pm 1,55$)	70,02 ($\pm 1,25$)	94,92 ($\pm 1,35$)
70	90,62 ($\pm 4,59$)	22,55 ($\pm 0,39$)	28,67 ($\pm 0,13$)	37,30 ($\pm 0,91$)	58,05 ($\pm 0,99$)	76,67 ($\pm 1,31$)	101,37 ($\pm 3,69$)
C. V. (%)	7,67	6,21	5,07	9,40	8,48	8,13	8,01
Valor de F	0,72	0,33	1,65	0,77	1,72	1,97	1,29
Regressão	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=20.

Tabela 5.4 - Resumo da análise da variância e da regressão para pigmentos foliares de plantas de *Zea mays* L., cultivadas à campo e submetidas a doses crescentes de tiametoxam. Guarapuava, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Clorofila a (mg g ⁻¹ MF)	Clorofila b (mg g ⁻¹ MF)	Carotenóides (mg g ⁻¹ MF)	Clorofilas totais (mg g ⁻¹ MF)
0	1,96 ($\pm 0,009$)	0,64 ($\pm 0,05$)	0,04 ($\pm 0,0003$)	2,61 ($\pm 0,06$)
17.5	1,97 ($\pm 0,008$)	0,70 ($\pm 0,03$)	0,03 ($\pm 0,0003$)	2,67 ($\pm 0,03$)
35	1,98 ($\pm 0,013$)	0,73 ($\pm 0,03$)	0,04 ($\pm 0,0003$)	2,72 ($\pm 0,02$)
52.5	1,81 ($\pm 0,015$)	0,62 ($\pm 0,03$)	0,04 ($\pm 0,0003$)	2,43 ($\pm 0,02$)
70	2,13 ($\pm 0,010$)	0,81 ($\pm 0,04$)	0,16 ($\pm 0,1256$)	2,94 ($\pm 0,03$)
C. V. (%)	0,86	6,25	143,24	1,87
Valor de F	134,80*	8,59*	1,10	40,79*
Regressão	C	C	ns	C

*Significância ($P < 0.05$) ns: não-significativo, Q: quadrática. Os dados são expressos em média ($\pm$ erro padrão da média), n=4.

Tabela 5.5 - Resumo da análise da variância e da regressão para parâmetros produtivos de plantas de *Zea mays* L., cultivadas à campo e submetidas a doses crescentes de tiametoxam. Guarapuava, 2011-2012

Tiametoxam (g 100 kg sementes)	Comprimento de espiga (cm)	Circunferência de espiga (cm)	Massa fresca da espiga (g)	Massa seca dos grãos de 20 espigas (kg)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
0	19,98 (±0,27)	16,48 (±0,11)	275,43 (±18,87)	4,25 (±0,26)	14875,00 (±917,26)
17.5	19,71 (±0,22)	16,59 (±0,11)	283,75 (±19,67)	4,43 (±0,25)	15513,75 (±904,64)
35	19,81 (±0,22)	16,20 (±0,09)	266,50 (±17,59)	4,17 (±0,22)	14621,25 (±786,70)
52.5	20,06 (±0,25)	16,58 (±0,10)	288,06 (±22,59)	4,30 (±0,52)	15058,75 (±1822,71)
70	20,10 (±0,22)	16,65 (±0,10)	282,56 (±10,11)	4,42 (±0,14)	15478,75 (±523,51)
C. V. (%)	4,62	2,42	10,57	11,89	11,89
F value	0,13	0,77	0,33	0,18	0,18
Regression	ns	ns	ns	ns	ns

ns: não-significativo. Os dados são expressos em média (± erro padrão da média), n=20.