## Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Tiametoxam em plantas de cana	-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e
cafeeiro: parâmetros de deser	nvolvimento e aspectos bioquímicos

### **Marcelo Andrade Pereira**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba 2010

### Marcelo Andrade Pereira Engenheiro Agrônomo

Tiametoxan	le-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro: volvimento e aspectos bioquímicos
	Orientador: Prof. Dr. PAULO ROBERTO DE CAMARGO E CASTRO
	Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia
	Piracicaba

2010

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Pereira, Marcelo Andrade Tiametoxam em plantas de cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro: parâmetros de desenvolvimento e aspectos bioquímicos / Marcelo Andrade Pereira. - -Piracicaba, 2010.

124 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Bioquímica vegetal 2. Café 3. Cana-de-açúcar 4. Desenvolvimento vegetal 5. Feijão 6. Inseticidas sistêmicos 7. Laranja 8. Reguladores de crescimento vegetal 9. Soja I. Título

> CDD 632.951 P436t

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

À minha filha Paula,
por iluminar minha vida.
Com todo amor,
Dedico.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Luiz Vicente de Souza Queiroz e seu grandioso sonho em criar uma Escola Agrícola de referência que se tornou realidade: a ESALQ.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" pelo curso de Doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de realização do Curso.

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

À Universidade de São Paulo e toda sociedade paulista, por manter com verba pública toda estrutura da Universidade, Bibliotecas, Centro de Convivência Infantil, Serviço Médico-Odontológico, Parque Esportivo, Restaurante Universitário, com ótima qualidade.

Ao professor Paulo Roberto de Camargo e Castro, pela orientação, confiança, conhecimentos e oportunidade de convivência.

Ao professor Eurípedes Malavolta (*in memoriam*) pela concessão dos laboratórios, conhecimentos e exemplo de dedicação.

Ao professor Sergio Pascholati, pela disponibilidade dos laboratórios, confiança e pelo aluno de mestrado Ely no auxílio das análises químicas.

Ao professor Ricardo Ferraz de Oliveira pela utilização dos laboratórios de Fisiologia do Estresse.

Aos professores da ESALQ e CENA pelas aulas e conhecimentos repassados.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Ciências Biológicas, em especial Alexandre, Romeu e João pelo auxílio nos experimentos, amizade e momentos de descontração.

Aos colegas e amigos de pós-graduação Silvio, Stella, Chrys, Ana Flávia, André, Giovani, Luciane, Itamar e Jovan, pela amizade e ajuda nos estudos.

Ao amigo Gean, por todo apoio e amizade, durante estes anos em Piracicaba.

À secretária do PPG em Fitotecnia, Luciane pelo auxílio, competência e permanente bom humor.

À bibliotecária Eliana pelo auxílio e correções da tese.

À minha família Malu, Herberto (*in memoriam*), Simone, Vinícius, Viviane e Aline que mesma a distância, sempre estiveram comigo, compartilhando e me incentivando nesta jornada.

À Roberta que agüentou bravamente este difícil período, cuidando de nossa querida filha Paula para que eu pudesse estudar.

À Paula, pela alegria e felicidade que sempre me proporcionou.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus todo poderoso e todos os santos, pela vida, saúde, conquistas e alegrias que sempre me proporcionaram.

"A Universidade tem três amigos – o ideal, a inteligência e a insistência; e tem três inimigas – a mediocridade, a inveja e a burocracia."

Zeferino Vaz, citado por E. Malavolta

# SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Agroquímicos de controle hormonal	17
1.2 Bioativadores	19
1.3 Tiametoxam	19
1.4 Mecanismo de ação do tiametoxam	32
1.5 Justificativa e objetivos	35
Referências	35
2 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVO	LVIMENTO
E CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE RAÍZES DE CANA-DE-AÇÚ	CAR41
Resumo.	41
Abstract	41
2.1 Introdução	42
2.2 Desenvolvimento	43
2.2.1 Material e Métodos	43
2.3 Resultados e Discussão	45
2.4 Conclusões	55
Referências	55
3 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLV	VIMENTO E
ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM PLANTAS DE FEIJOEIRO	59
Resumo.	59
Abstract	59
3.1 Introdução	60
3.2 Desenvolvimento	62
3.2.1 Material e Métodos	62
3.3 Resultados e Discussão	65
3.4 Conclusões	70
Referências	70

4 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOL	VIMENTO,
PRODUÇÃO, TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZ	ZIMÁTICA
EM PLANTAS DE SOJA	75
Resumo.	75
Abstract	75
4.1 Introdução	76
4.2 Desenvolvimento	77
4.2.1 Material e Métodos	77
4.3 Resultados e Discussão	80
4.4 Conclusões	89
Referências	89
5 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLV	VIMENTO,
TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM	I MUDAS DE
LARANJEIRA	93
Resumo	93
Abstract	93
5.1 Introdução	94
5.2 Desenvolvimento	95
5.2.1 Material e Métodos	95
5.3 Resultados e Discussão	99
5.4 Conclusões	109
Referências	109
6 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVO	<b>DLVIMENTO</b>
E TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES EM MUDAS DE CAFEEIRO	113
Resumo	113
Abstract	113
6.1 Introdução	114
6.2 Desenvolvimento	
6.2.1 Material e Métodos	114
6.3 Resultados e Discussão	116
6.4 Conclusões	123

Referências123
----------------

#### **RESUMO**

# Tiametoxam em plantas de cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro: parâmetros de desenvolvimento e aspectos bioquímicos

Inseticidas e fungicidas geralmente são estudados quanto a sua eficiência no controle de pragas e doenças, entretanto podem provocar efeitos fisiológicos pouco conhecidos capazes de influenciar o desenvolvimento das culturas. O tiametoxam é um inseticida sistêmico do grupo dos neonicotinóides, da família nitroguanidina, que atua no receptor nicotínico acetilcolina de insetos, danificando o sistema nervoso dos mesmos, levando-os à morte. Este inseticida, largamente utilizado no controle de pragas iniciais e insetos sugadores, apresenta efeito bioativador, uma vez que mesmo na ausência da pragas, promove aumento em vigor e desenvolvimento nas plantas tratadas. Acredita-se que os efeitos do tiametoxam em plantas são indiretos, pois atuam na expressão dos genes responsáveis pela síntese e ativação de enzimas metabólicas, relacionadas ao crescimento da planta, alterando a produção de aminoácidos e precursores de hormônios vegetais. Existem alguns trabalhos com tiametoxam com o objetivo de verificar seus efeitos no metabolismo e desenvolvimento das plantas, mas os resultados ainda não são claros, evidenciando forte interação entre cultivares, épocas, condições de estresse e disponibilidade de nutrientes. Em função da grande utilização do inseticida tiametoxam na agricultura brasileira, o estudo deste agroquímico, no sentido de alterar o metabolismo e desenvolvimento de plantas, constitui-se de grande importância na agregação de informações à literatura biológica e agronômica. Os objetivos deste trabalho foram verificar o efeito da aplicação de tiametoxam em plantas de cana-de-acúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro, em diferentes doses e formas de aplicação (tratamento de sementes, pulverização foliar e aplicação no solo), sobre parâmetros de desenvolvimento (área foliar, massa seca de folhas e raízes, comprimento radicular) e aspectos bioquímicos (teores foliares de nutrientes e atividade enzimática). Os experimentos foram realizados em vasos, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP. Concluiu-se que a aplicação de tiametoxam em pulverização foliar, em cana-deacúcar, aumenta a área foliar e o comprimento das raízes, amplia a espessura do córtex da raiz, incrementa o diâmetro do cilindro vascular e aumenta o número de metaxilemas; em feijoeiro, em tratamento de sementes, aumenta a área foliar, a massa seca da parte aérea e a atividade da nitrato redutase em folhas e em pulverização foliar aumenta a atividade da nitrato redutase e a atividade da fenilalanina amônia-liase em folhas; em soja, em tratamento de sementes, aumenta a área foliar, massa seca e comprimento das raízes e os teores foliares de cálcio e magnésio, e em pulverização foliar, reduz os teores de fósforo e cálcio, mas aumenta os teores de potássio; em mudas de laranjeira, aplicado no solo, aumenta a área foliar, a massa seca das folhas, a massa seca do caule e ramos e a área foliar média, mas reduz os teores foliares de nitrogênio, fósforo e enxofre; em mudas de café arábica, aplicado na raiz, aumenta o número de folhas, a massa seca de raízes finas e o comprimento das raízes.

Palavras-chave: Actara, Cruiser, Efeitos fisiológicos, Saccharum officinarum, Phaseolus vulgaris; Glycine max; Citrus sinensis; Coffea arabica

#### **ABSTRACT**

# Thiamethoxan on sugar cane, common bean, soybean, citrus and coffee plants: parameters of development and biochemical aspects

Insecticides and fungicides are often studied to their efficiency in controlling pests and diseases, however can cause physiological effects little known that can affect crop growth. Thiamethoxan is a systemic insecticide from the neonicotinoid group, nitroguanidine family, which acts on nicotinic acetylcholine receptor of insects, damaging their nervous system, leading them to death. This insecticide, that is widely used for controlling pests and sucking insects, has bioactivator effect, since even in the absence of pests, promotes an increase in vigor and development in treated plants. It is believed that the effects of thiamethoxan in plants are indirect, because it acts in the genes expression responsible for metabolic enzymes activation and synthesis, related to plant growth, by modifying amino acids and plant hormones precursors production. There is a number of studies with thiamethoxan in the way to determine the effects on metabolism and development of plants, but the results are not clear, showing strong interaction between cultivars, stress conditions and nutrient availability. Due to the wide use of the insecticide thiamethoxan in Brazilian agriculture, the study of this insecticide in order to know the metabolism changes in the plants, brings a great importance in the collection of knowledge to the agronomic and biological literature. The objectives of this study was to evaluate the effect of thiamethoxan on sugar cane, common beans, soy, orange and coffee plants with different doses and forms of application (seed treatment, foliar spray and soil application) on developmental parameters (leaf area, dry mass of leaves and roots, root length) and biochemical aspects (nutrient content and enzymatic activity). The experiments were conducted in pots in the ESALQ / USP, Experimental Field of Biological Sciences Department. It was concluded that the application of thiamethoxan as foliar spray on sugar cane, increases leaf area and root length, increases the thickness of the cortex of the root, increases the diameter of the vascular cylinder and increases the number of vessels; in bean for seed treatment, increases the leaf area, dry mass of shoots and the activity of nitrate reductase in leaves, and foliar spray increases the activity of nitrate reductase and phenylalanine ammonia-lyase in leaves; in soybean, in seeds treatment, increases leaf area, dry weight of roots, root length and foliar calcium and magnesium, and foliar spray, reduces the amount of phosphorus and calcium, but increased levels of potassium; in orange trees, applicated on the soil, increases the leaf area, leaf area average, leaves dry mass, stems and branches dry mass, but reduces the amount of nitrogen, phosphorus and sulfur in the leaf; in arabica coffee seedlings, applied at the root, increases the number of leaves, fine roots dry mass and length of roots.

Keywords: Actara; Cruiser; Physiological effects; Saccharum officinarum; Phaseolus vulgaris; Glycine max; Citrus sinensis; Coffea arabica

### 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Agroquímicos de controle hormonal

Com o advento da "revolução verde", o aumento de produtividade exigiu tecnologias baseadas no uso extensivo de agroquímicos, promovendo um crescimento vertiginoso no uso desses produtos no país. Em 2008, o Brasil assumiu a liderança mundial no consumo de defensivos agrícolas, representado por cerca de U\$7 bilhões, superando inclusive os Estados Unidos (BOTELHO, 2009). Alguns destes agroquímicos podem apresentar efeito hormonal nas plantas, efeitos esses, ainda pouco conhecidos.

Desde a década de 1970, têm-se observado que após aplicação de determinados inseticidas, a despeito do controle dos insetos, as plantas apresentavam maior vigor e desenvolvimento. (FOUCHE et al., 1977; WHEATON et al., 1985; REDDY et al., 1990). Alguns autores suspeitaram tratar-se de uma nova classe de hormônios vegetais (REDDY et al., 1990). Entretanto, em função da infinidade de produtos químicos utilizados hoje na agricultura, existe certa confusão na definição e no estudo destes produtos.

O estudo dos hormônios vegetais iniciou-se há séculos. No longínquo ano de 1758, Duhamel du Monceau observou que a seiva proveniente das folhas, controlava a nutrição das raízes. Julius von Sachs em 1880, foi o primeiro a propor que substâncias formadoras de orgãos eram produzidas pela planta e essas substâncias se moviam em diferentes direções controlando o crescimento e desenvolvimento vegetal (ARTECA, 1996). Charles Darwin, na mesma época de Sachs, descobriu que algum tipo de sinal era produzido no ápice do coleóptilo de gramíneas e deslocava-se até a zona de crescimento, promovendo o crescimento das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Quarenta anos mais tarde, esta substância foi identificada como uma auxina. Depois, vieram as giberelinas, citocininas, ácido abscísico e etileno, os chamados hormônios vegetais clássicos (VIVANCO; FLORES, 2000) e mais tarde, brassinosteróides, poliaminas, ácido salicílico e jasmonatos (DAVIES, 2004), além de outros, não obstante da necessidade de maiores estudos, para serem consideradas novas classes de hormônios vegetais.

A palavra "hormônio", em grego, colocar em movimento ou estimular, foi criada pelos fisiologistas de animais Bayliss e Starling em 1904, para denotar mensageiro químico em trabalhos com cães. Em 1910, Fitting foi o primeiro a utilizar a palavra "hormônio" para plantas, e isto tem sido usado desde então. Entretanto a utilização da palavra "hormônio", primeiramente

em animais, gerou certa confusão na definição de hormônios vegetais. Hormônios animais são proteínas, enquanto os hormônios vegetais são moléculas de baixo peso molecular. Além de que, os hormônios vegetais nem sempre obedecem a regra de serem produzidos em uma área do organismo e transportados para os sítios de ação (ARTECA, 1996).

Em 1951, Kenneth Thimann, presidente da American Society of Plant Physiologists na ocasião, sugeriu um comitê para propor uma nomenclatura universal para as substâncias de crescimento, com o objetivo de esclarecer esta terminologia. As definições geradas por este comitê estabeleceram a nomenclatura "reguladores vegetais". E definiram hormônios vegetais, ou fitohormônios, como "reguladores produzidos por vegetais, os quais em concentrações muito baixas, regulam os processos fisiológicos da planta" (WEAVER, 1972).

Trewavas (1981) sugeriu que o termo hormônio vegetal deveria ser abandonado e substituído por "substâncias de crescimento de plantas" (ARTECA, 1996). Contudo, este termo apresenta significado vago, pois descreve apenas um efeito na planta, que é o crescimento. Outros autores sugeriram "substâncias de crescimento e desenvolvimento de plantas" ou mais precisamente "reguladores de crescimento vegetal", entretanto este último foi usurpado pelas indústrias agroquímicas para denotar substâncias sintéticas reguladoras de crescimento vegetal.

Os diversos agroquímicos utilizados atualmente podem ser classificados em diferentes classes (CASTRO, 2006), tais como:

Regulador Vegetal ou Biorregulador – é um composto orgânico, não nutriente, o qual aplicado na planta, em baixas concentrações, promove, inibe ou modifica algum processo morfológico ou fisiológico vegetal. O termo regulador é restrito a compostos naturais ou sintéticos, aplicados externamente nas plantas (chamados exógenos).

Hormônios Vegetais – são substâncias produzidas pelas plantas, as quais em baixas concentrações, regulam processos morfológicos e fisiológicos da planta. Hormônios podem mover-se dentro da planta, do local onde são produzidos para o local de ação, ou serem produzidos no local de ação. O termo hormônio é restrito a produtos que ocorrem naturalmente dentro das plantas (chamados endógenos). Pertencente a ambas as classes anteriores: auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico e etileno. Considera-se que, para o biorregulador agir, ele deve primeiramente se ligar a um receptor na membrana plasmática da célula.

Estimulantes Vegetais ou Bioestimulantes – são misturas de reguladores vegetais, ocasionalmente junto com nutrientes, vitaminas, aminoácidos ou resíduos diversos. Apresentam

efeito estimulante distinto da aplicação isolada de cada regulador vegetal, gerando um efeito sinérgico entre os reguladores. São exemplos de bioestimulantes o Stimulate, o Promalin e a mistura  $GA_3 + 2,4-D$ .

Bioativadores – são substâncias orgânicas complexas, modificadoras da morfologia e fisiologia das plantas capazes de atuar na síntese e ação de hormônios endógenos, levando a incrementos na produtividade. Nesta classe se enquadram alguns inseticidas como o aldicarb e o tiametoxam, além da cianamida hidrogenada.

### 1.2 Bioativadores

O primeiro inseticida descoberto com ação no desenvolvimento e fisiologia de plantas, foi o aldicarb. O registro do produto comercial contendo esta molécula foi concedido inicialmente nos EUA em 1970 (RHODIA, 1991). Alguns anos depois, observou-se que plantas de citros, tratadas com aldicarb, apresentavam teores foliares de K significativamente mais altos (FOUCHE et al., 1977), aumento dos teores foliares de P e Ca e incrementos da produção (WHEATON et al., 1985). No algodoeiro, o aldicarb demonstrou aumentar a biomassa, a atividade fotossintética, comprimento e número de raízes (REDDY et al., 1989), aumento no número e massa de botões florais e maçãs, além de promover precocidade, mesmo sob ausência de insetos (REDDY et al., 1990). Na cultura do tomate, foi observado aumento dos teores foliares de potássio e fósforo com a aplicação de aldicarb e carbofuran (OYA et al., 1990). Nas culturas do amendoinzeiro e lima ácida 'Tahiti' o aldicarb promoveu aumento dos nutrientes P e K (ANANIA et al., 1988 a; 1988b), e no feijoeiro 'Carioca', aumento significativo na altura das plantas, no número de flores, no número e massa de vagens e no número e massa de sementes (CASTRO et al., 1995).

A nomeclatura "inseticidas de efeito fisiológico" ocasionalmente pode ser confundida com os chamados "inseticidas fisiológicos". O primeiro grupo se refere a inseticidas capazes de alterar algum tipo de processo na fisiologia da planta, como crescimento, morfologia ou bioquímica vegetal, já o segundo grupo se refere a inseticidas que agem na fisiologia dos insetos, geralmente na ecdise, podendo-se citar como representantes do segundo grupo, o tebufenozide e o methoxinozide (GRÜTZMACHER et al., 1999).

### 1.3 Tiametoxam

O tiametoxam (ou thiamethoxan) é um inseticida de ação sistêmica, do grupo dos neonicotinóides, sub-classe tianicotinil, da família nitroguanidina, com nome químico 3-(2-cloro-

tiazol-5-ilmetil)-5-metil[1,3,5] oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina, classe toxicológica III, considerado medianamente tóxico. Este produto, utilizado no controle de pragas iniciais, insetos sugadores e alguns mastigadores, atua no receptor nicotínico acetilcolina dos insetos, lesando o sistema nervoso, levando-os à morte (GAZZONI, 2008).

Figura 1 - Fórmula química do tiametoxam

O tiametoxam pode ser aplicado em pulverização sobre as folhas das plantas, em tratamento de sementes ou através da aplicação no solo (*drench*) sendo absorvido pelas raízes. Na aplicação via solo verificou-se que a absorção se incrementa até atingir um pico 72 h após a aplicação, porém a absorção pode se estender pelo dobro do tempo (GAZZONI, 2008). O tiametoxam é comercializado no Brasil sob os produtos comerciais Actara® 250WG e Cruiser® 350FS, apresentando de ingrediente ativo, respectivamente, 250 g kg<sup>-1</sup> e 350 g L<sup>-1</sup>, ou em mistura com outros princípios ativos.

Considera-se que o inseticida tiametoxam, registrado e largamente utilizado para grande número de culturas no Brasil, apresenta efeito bioativador, promovendo maior vigor e desenvolvimento nas plantas tratadas (CASTRO, 2006).

Castro et al. (2007), com a finalidade de determinar se a molécula se caracteriza como um regulador vegetal (bioregulador) pertencente ao grupo das giberelinas, auxinas ou citocininas, realizaram aplicações de tiametoxam em plantas-teste de tomateiro mutantes, sendo 'Micro-Tom' sensível à giberelina, DGT pouco sensível à auxina, BRT pouco sensível à citocinina. A aplicação de várias doses de tiametoxam não apresentou efeito na parte aérea e sistema radicular

das plantas, demonstrando que o produto não pertence a nenhum desses grupos de hormônios vegetais.

Calafiori e Barbieri (2001), avaliaram o efeito do tiametoxam na cultura do feijoeiro, comparando várias doses, associadas com adubações de NPK e com o inseticida carbofuram. Estes autores concluíram que o tratamento de tiametoxam sem NPK apresentou o melhor controle de vaquinha verde-amarela (*Diabrotica speciosa*), e o tratamento de tiametoxam com NPK proporcionou maior número de plantas germinadas, maior número de nódulos viáveis e maior produtividade na estação seca, comparados com os tratamentos com o adubo NPK e tiometoxam isolados. Entretanto, devido a presença de pragas no experimento, não foi possível inferir se o aumento nos parâmetros vegetais foi causado pelo efeito fisiológico do inseticida.

Dinardo-Miranda e Ferreira (2004), avaliando a eficiência de vários inseticidas no controle da cigarrinha das raízes (*Mahanarva fimbriolata*), na cultura da cana-de-açúcar, observaram que o tiametoxam aumentou significativamente a massa do colmo e a produção de açúcar em 19,4% e 32,2%, respectivamente, comparados com o controle. E também, Dinardo-Miranda, Coelho e Ferreira (2004), avaliando a eficiência de vários inseticidas no controle da cigarrinha das raízes (*Mahanarva fimbriolata*) na cultura da cana-de-açúcar, observaram que o tiametoxam aumentou significativamente a massa do colmo e a produção de açúcar, entretanto não foi possível inferir se este aumento foi relacionado ao efeito bioativador, pois houve interferência de pragas na cultura.

Apesar dos vários trabalhos apresentando ação fisiológica em inseticidas, poucos autores relatam a incidência de pragas nos experimentos. No estudo desses produtos é evidente a necessidade de isolar o efeito inseticida do produto, do efeito causado na fisiologia da planta.

Scarpellini, Cassanelli e Faria (2003) avaliando o efeito do tiametoxam, em tratamentos de sementes na cultura da soja, não observaram diferença significativa na taxa de germinação das sementes, comprimento das raízes, altura das plantas, massa das plantas e produtividade, apesar de verificar aumento de 11,8% de produtividade no tratamento com tiametoxam.

Pereira et al. (2007), na ausência de insetos, verificaram aumento de 63% no comprimento de raízes de plantas de batata 'Ágata' em rizotrons - vaso com um dos lados constituído de vidro transparente para visualização das raízes - com a aplicação de tiametoxam em tratamento de tubérculos na dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>.

A maioria dos trabalhos avaliando os efeitos fisiológicos com tiametoxam encontrados na literatura são com a cultura da soja. Denardin (2008) avaliou a aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes em soja 'BRS-Macota', em laboratório e casa-de-vegetação, nas doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, com e sem inoculante e verificou que: o tiametoxam não prejudicou a inoculação com estirpes de Bradyrhizobium elkanni e B. japonicum; a dose de 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes favoreceu o número de nódulos aos 21 dias de semeadura. Na floração das plantas foi verificado: as duas doses de tiametoxam aumentaram significativamente o comprimento de raízes, na presença e na ausência de inoculação com Bradyrhizobium; o tiametoxam aumentou a altura das plantas quando não foram inoculadas com Bradyrhizobium, mas não influenciou a altura quando todas foram inoculadas; as duas doses de tiametoxam aumentaram significativamente o teor de nitrogênio da parte aérea quando foram inoculadas com Bradyrhizobium, mas não alteraram quando as plantas não foram inoculadas; as duas doses de tiametoxam aumentaram significativamente a massa seca da parte aérea com e sem inoculação; as duas doses de tiametoxam aumentaram significativamente a massa seca das raízes, sem inoculação e quando inoculadas com Bradyrhizobium japonicum, mas não observou-se diferença quando inoculadas com Bradyrhizobium elkanni; os tratamentos de sementes com tiametoxam não apresentaram diferença significativa na atividade da peroxidase, da polifenoloxidase, da quitinase, da β-1,3 glucanase, da lipoxigenase e no teor de proteínas das folhas; a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> sementes reduziu a atividade da fenilalanina amônia-liase na ausência do inoculante, mas não diferiu quando as plantas estavam inoculadas com *Bradyrhizobium*.

Tavares et al. (2007) avaliaram aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes, nas doses de 0, 50, 100, 200, 300 mL de p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, em soja 'Monsoy', em rizotrons (vasos com parede de vidro) sob casa de vegetação e em vasos sob ambiente natural. Nos rizotrons, verificaram que não houve diferença significativa na germinação, no desenvolvimento do hipocótilo e da radícula, como também não observaram diferença significativa aos 20 dias de emergência, no crescimento radicular vertical e na massa seca da parte aérea. Entretanto, observaram diferença significativa, aos 20 dias de emergência, na área foliar, na área radicular e na massa seca do sistema radicular, sendo que a dose de 127 mL proporcionou a maior massa seca de raízes. Nos vasos, aos 30 dias após emergência, foi verificado aumento significativo na área foliar, na área radicular, na massa seca da parte aérea e na massa seca das raízes, sendo que as doses de 101 mL, 105 mL, 90 mL e 106 mL do produto comercial por 100 kg de sementes,

respectivamente, proporcionaram maior aumento destes parâmetros. Aos 21 e 31 dias de emergência foi verificada redução na altura das plantas com as aplicações de tiametoxam, no entanto, aos 41 dias da emergência foi verificado aumento, sendo a dose de 96 mL proporcionou as plantas mais altas.

Apesar disso, Castro et al. (2008) estudaram a aplicação em tratamento de sementes de tiametoxam, Stimulate, aldicarb e imidacloprid em soja, e verificaram que todos os tratamentos tornaram as raízes mais finas; sendo que a germinação foi reduzida significativamente com a aplicação de tiametoxam e com aldicarb; o tiametoxam aumentou o número de plantas anormais e mortas reduzindo o estande; os inseticidas e o bioestimulante não aumentaram a eficiência de absorção de N e K, o aldicarb aumentou a absorção de P mas reduziu a massa seca das raízes e da parte aérea; e concluíram que o tratamento com inseticidas e bioestimulante testados não proporcionou maior crescimento de raízes em plântulas de soja.

Goulart (2008) trabalhou com soja 'BRS-181' em bandejas plásticas sob casa de vegetação, em situação adequada de umidade, durante 15 dias após emergência, e sob déficit hídrico, durante 30 dias após emergência. Com aplicação de tiametoxam, nas doses de 100 e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, verificou em ambas as condições, aumento significativo na emergência das sementes, mas não observou diferença significativa no diâmetro do caule, na massa fresca e altura das plântulas.

Fernandes et al. (2008), pesquisaram a interação de tiametoxam com calcário e fertilizantes minerais, em soja 'BRS-133' em vasos e não observaram diferença significativa na germinação de sementes aos 10 e 20 dias da semeadura (DAS). Na época do florescimento (58-59 DAS), verificaram aumento significativo no comprimento de raízes, no tratamento com tiametoxam em relação ao controle absoluto, mas não observaram diferença significativa entre o tratamento com tiametoxam e adubos, com o tratamento somente com adubos. No mesmo período, a massa fresca de raízes não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Segundo os autores, o número de vagens aumentou significativamente nos tratamentos fertilizante + tiametoxam e fertilizante + calcário + tiametoxam, em relação ao controle, entretanto o ensaio não apresentou diferença significativa entre o controle e o tratamento somente com tiametoxam, nem entre o tratamento com tiametoxam e adubos e o tratamento somente com adubos, o que não permitiu concluir que o aumento na produtividade pode ser atribuído à aplicação de tiametoxam. Os teores de macro e micronutrientes foram avaliados aos 37 dias e aos

58 dias de plantio (florescimento). Os teores de N, P, K, Ca, Mg não apresentaram diferença entre o controle e o tratamento somente com tiametoxam, nem entre o tratamento com fertilizantes e tiametoxam, e o tratamento somente com fertilizantes. Na primeira avaliação, os teores de S e B, dos tratamentos com tiametoxam aumentaram significativamente em relação o controle, mas na segunda avaliação, o tratamento com tiametoxam reduziu os teores de B em relação ao controle.

Petrere et al. (2008) avaliaram, em casa de vegetação, a aplicação de tiametoxam (100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup>sementes) em tratamento de sementes em soja 'Fundacep 39', sobre solo tratado ou não com adubos e calcário. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa na germinação de sementes aos 10 e 20 dias do plantio. A altura das plantas, avaliada aos 10, 20, 30, 40 e 60 dias do plantio, apresentou aumento significativo aos 20 dias, com aplicação de tiametoxam sem adubo e com calcário, e aos 30 dias, com tiametoxam sem calcário e com adubos, embora aos 40 dias, a aplicação de tiametoxam apresentasse redução significativa no tratamento sem adubo e sem calcário e a maior parte dos tratamentos não apresentasse diferença. A massa seca de raízes, avaliada nos estádios V<sub>3</sub> e V<sub>4</sub>, mostrou aumento significativo com tiametoxam no tratamento com adubo e calcário e no tratamento sem adubo e sem calcário, a despeito da redução deste parâmetro no tratamento com adubo sem calcário. Segundo os autores, na produção de sementes, houve interação entre o uso de tiametoxam, calcário e adubo. A aplicação de tiametoxam aumentou a produtividade, em gramas por vaso, no tratamento com adubo e aumentou a massa de 100 sementes no tratamento sem adubo com calcário e no tratamento com adubo sem calcário.

Campos e Silva (2008), estudando o uso de tiametoxam em tratamentos de sementes em soja 'Fundacep Missões', verificaram no campo, nos estádios V<sub>5</sub>-V<sub>6</sub> (35 DAE), que as doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, reduziram o número de nódulos de *Bradyrhizobium*. Foi verificada também redução da massa nodular, com a dose de 200 mL. A aplicação de tiametoxam não apresentou diferença significativa para massa seca de raízes, massa seca da parte aérea, altura de plantas, diâmetro da haste e teor de nitrogênio da parte aérea. Ao fim do ciclo da cultura, a produtividade não apresentou diferença significativa, entretanto, a plantação sofreu deficiência hídrica.

Silva et al. (2008) avaliaram na soja sob plantio direto, o efeito de três épocas de semeadura (08/11, 22/11 e 15/12/04), de dois cultivares (RR6001 e RR8000), com e sem tiametoxam aplicado em sementes, na dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. Observou-se

aumento significativo na altura das plantas, nos tratamentos com tiametoxam, na primeira época de plantio, não ocorrendo nas outras épocas, entre os cultivares, assim como entre os tratamentos com e sem tiametoxam, nos dois cultivares. A aplicação de tiametoxam aumentou o comprimento das raízes, coletadas aos 40 dias de semeadura, na terceira época de plantio, não diferindo nas outras duas épocas. O cultivar precoce RR6001, aos 10 dias de semeadura, apresentou comprimento de raízes maior no tratamento com tiametoxam, sendo que, no mesmo parâmetro e na mesma época, o cultivar semi-tardio RR8000 não apresentou diferença com a aplicação de tiametoxam. Entre os cultivares, o comprimento de raízes foi maior no cultivar RR6001 em relação ao cultivar RR8000, somente nos tratamentos com tiametoxam. No parâmetro população de plantas, aos 40 dias da semeadura, não foi observada diferença com aplicação de tiametoxam dentro de cada cultivar, mas observou-se que nos tratamentos com tiametoxam o cultivar RR8000 apresentou-se superior estatisticamente ao cultivar RR6001. Nos resultados da produção de grãos, observou-se que o retardamento da época de plantio provocou redução da produtividade, o cultivar RR8000 produziu menos que o RR6001 e a aplicação de tiametoxam não apresentou diferença significativa na produtividade.

Silveira et al. (2008) avaliaram a cultura da soja em plantio no campo, utilizando dois cultivares (Spring e BRS154), duas épocas de semeadura (20/11 e 20/12/2004), com e sem tiametoxam em tratamento de sementes na dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. O uso de tiametoxam não apresentou diferença significativa nos parâmetros diâmetro do colo das plantas, aos 20 e 30 dias após semeadura, na altura das plantas, no estádio R<sub>2</sub>, na germinação de sementes e na produtividade da cultura.

Damico (2008) avaliou a aplicação de tiametoxam em sementes, em função de três épocas de plantio, em dois cultivares de soja, Embrapa 48 e Conquista. O autor verificou que não houve diferença entre os tratamentos sobre a população de plantas e sobre o diâmetro de caule, e a produtividade de grãos foi maior em sementes tratadas com tiametoxam.

Cataneo (2008), através de vários experimentos, estudou o efeito de tiametoxam em tratamento de sementes, em dois cultivares de soja, BRS-133 e Pintado, na ausência e sob condições de estresses, sobre a germinação, atividade enzimática e massa do eixo embrionário.

1. O efeito de tiametoxam foi avaliado, na ausência de estresse, sobre a germinação de sementes aos 24, 36, 48, 60 e 72 h da embebição das sementes, e na atividade enzimática dos eixos embrionários aos 12, 24 e 36 h, sob três tratamentos, controle, 100 e 200 mL de produto

- comercial em 100 kg de sementes. Foi verificado, no cultivar Pintado, aumento significativo da germinação aos 24 e 36 h da embebição, com as duas doses de tiametoxam utilizadas, não apresentando diferença após este período. No cultivar BRS-133 foi observado aumento na germinação às 24 h da embebição, com as duas doses de tiametoxam utilizadas.
- 2. A atividade da amilase nos eixos embrionários foi avaliada aos 12, 24 e 36 h após a embebição, na ausência de estresse. No cultivar Pintado, às 12 h da embebição, os tratamentos com tiametoxam não apresentaram diferença significativa em relação ao controle, às 24 h, as duas doses de tiametoxam apresentaram redução, e às 36 h, somente a dose de 100 mL reduziu este parâmetro. No cultivar BRS-133, às 12 h, a dose de 100 ml reduziu a atividade da enzima, às 24 h, a dose de 200 mL reduziu, e as 36 h, as duas doses aumentaram a atividade da amilase, sendo que a dose de 200 ml apresentou aumento superior a dose de 100 mL.
- 3. A atividade da protease nos eixos embrionários foi avaliada aos 12, 24 e 36 h após embebição das sementes, na ausência de estresse. Às 12 h de embebição, as duas doses de tiametoxam não apresentaram diferença significativa na atividade desta enzima nos dois cultivares. Às 24 h, a dose de 200 mL reduziu a atividade da enzima, nos dois cultivares utilizados. Às 36 h o cultivar BRS-133 não diferiu entre tratamentos, mas o cultivar Pintado aumentou a atividade da enzima com as duas doses de tiametoxam aplicadas.
- 4. A atividade da urease nos eixos embrionários foi avaliada aos 12, 24 e 36 h após embebição, na ausência de estresse. No cultivar BRS-133, às 12 h de embebição, a dose de 200 mL aumentou a atividade desta enzima, às 24 h, a dose de 200 ml aumentou, enquanto a dose de 100 mL reduziu a atividade, e às 36 h, os tratamentos não diferiram entre si. No cultivar Pintado, às 12 e 24 h de embebição, as duas doses de tiametoxam reduziram a atividade da urease, mas às 36 h, a dose de 200 mL apresentou aumento significativo.
- 5. A germinação também foi avaliada sob condições de estresse em presença de concentrações de 5, 10 e 15 mmol L<sup>-1</sup> de sulfato de alumínio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>), nos períodos de 24, 36, 48, 60 e 72 h de embebição das sementes, com e sem aplicação de tiametoxam, na dose de 100 mL do produto comercial. No cultivar BRS-133, na concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup>, às 24 h da embebição, foi observado aumento significativo neste parâmetro com o uso de tiametoxam, e às 36 h, nas três concentrações de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, a aplicação de tiametoxam aumentou a germinação, não sendo observada diferença significativa em outros períodos. Com o cultivar

- Pintado, a aplicação de tiametoxam aumentou a germinação às 36 h, nas três concentrações de  $Al_2(SO_4)_3$ , e às 48 h, nas concentrações de 10 e 15 mmol  $L^{-1}$ . Verificou-se, nos dois cultivares, que quanto maior a concentração de  $Al_2(SO_4)_3$ , maior efeito protetor do tiametoxam em aumentar a germinação.
- 6. Outro experimento avaliou o efeito de tiametoxam, na dose de 100 mL, na germinação de sementes, sob condições de estresse salino, com as concentrações de 25, 50, 100 e 150 mmol L<sup>-1</sup> de cloreto de sódio (NaCl). Com o cultivar BRS-133, o tratamento com tiametoxam aumentou significativamente a germinação de sementes às 24 h, na concentração de 25 e 50 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl, e às 36 h, em todas as concentrações, exceto com 25 mmol L<sup>-1</sup>. Na maior concentração de NaCl, 150 mmol L<sup>-1</sup>, o efeito do tiametoxam no aumento da germinação foi até 48 h. No cultivar Pintado não foi observado efeito protetor com o tiametoxam.
- 7. O estresse causado por deficiência hídrica, sob efeito de tiametoxam, foi avaliado submetendo-se as sementes ao potencial osmótico (Ψo) de 0,1, 0,2 e 0,3 MPa, avaliado nos períodos de 24, 36, 48, 60, 72 e 84 h de embebição das sementes. No cultivar BRS-133, a aplicação de tiametoxam apresentou aumento na germinação, às 72 h, no Ψo de 0,3 MPa, entretanto, nos outros tratamentos não se observou diferença significativa. No cultivar Pintado, a aplicação de tiametoxam aumentou a germinação, às 48 e 60 h da embebição, sob Ψo de 0,1 MPa, às 60, 72 e 84 h da embebição, em Ψo de 0,2 MPa, e às 72 e 84 h, sob Ψo de 0,3 MPa.
- 8. A massa do eixo embrionário foi avaliada sob efeito de tiametoxam, na ausência e nas três condições de estresses anteriores, por meio da retirada e pesagem dos eixos embrionários no final dos experimentos (84 h). No cultivar BRS-133, a aplicação de tiametoxam promoveu aumento significativo da massa do eixo embrionário, na ausência e sob condição de estresse na concentração de 10 mmol de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, e no cultivar Pintado somente na ausência de estresse por Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. Na situação de estresse causado por salinidade, observou-se no cultivar BRS-133, que o tiametoxam causou aumento do peso do eixo embrionário, na ausência e em todas as concentrações de NaCl utilizadas, com exceção da concentração de 100 mmol L<sup>-1</sup>. Com o cultivar Pintado foi observado aumento na massa do eixo embrionário, na ausência de NaCl e na concentração de 25 mmol L<sup>-1</sup>, entretanto, a concentração de 100 mmol L<sup>-1</sup>, reduziu a massa do eixo. Nas condições de estresse por deficiência hídrica, foi

- observado que, nos dois cultivares, a aplicação de tiametoxam causou aumento do eixo embrionário em potencial osmótico de 0 e 0.1 MPa.
- 9. Com o intuito de verificar a ação do tiametoxam, em tratamento de sementes com 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, sobre a atividade enzimática no eixo embrionário das sementes, associado ao estresse causado por toxidez de alumínio, salinidade e deficiência hídrica, foram selecionados os tratamentos que proporcionaram diferenças significativas, entre cultivares, concentrações de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, NaCl e potencial osmótico, e períodos após embebição das sementes. A aplicação de tiametoxam, no cultivar BRS-133, somente em água destilada (ausência de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>), aumentou a atividade da peroxidase, às 24 h da embebição das sementes, e no cultivar Pintado, às 36 h. No cultivar BRS-133, sob concentração de 10 mmol L<sup>-1</sup> de Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, o tiametoxam promoveu aumento da atividade da peroxidase, às 24 e 36 h da embebição. No cultivar Pintado, o tiametoxam causou redução na atividade de peroxidase às 36 h, porém aumentou a atividade às 48 h. Sob estresse induzido por salinidade na concentração de 50 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl, a aplicação de tiametoxam aumentou a atividade da peroxidase, no cultivar BRS-133, às 36 h da embebição. No cultivar Pintado, na concentração de 100 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl, às 36 h da embebição, o tiametoxam aumentou atividade da peroxidase, apesar de apresentar redução, às 48 h da embebição. Em condições de deficiência hídrica sob potencial osmótico de – 0,3 MPa, a aplicação de tiametoxam causou aumento de atividade da peroxidase, no cultivar BRS-133, às 60 e 72 h da embebição, entretanto, no cultivar Pintado, causou diminuição às 72 h da embebição. Em relação à atividade da superóxido dismutase, a aplicação de tiametoxam não apresentou diferença significativa na dose utilizada, nos dois cultivares estudados, sob ausência e condições de estresses anteriores e nos períodos de embebição.

Acevedo e Clavijo (2008) realizaram estudos em laboratório e casa-de-vegetação para verificar os efeitos de tiametoxam em diversas espécies e cultivares. Foi utilizado o produto comercial Cruiser em tratamento de sementes, nas respectivas doses: algodão, 'Delta Opal': 4 mL kg<sup>-1</sup> sementes; arroz 'Fedearroz 50', 'Fedearroz 2000', 'Fedearroz 369', 'Inproarroz 1550' e arroz molino: 1 mL kg<sup>-1</sup> sementes; feijão 'Calima': 3 mL kg<sup>-1</sup> sementes; milhos híbridos amarelos, 'Master', 'Máximus' e 'Pionner 30F87' e híbridos brancos, 'Murano' e 'Pionner 30F83': 2 mL kg<sup>-1</sup> sementes; soja 'P-34': 2 mL kg<sup>-1</sup> sementes. Os ensaios foram desenvolvidos por etapas, conforme a seguir:

- 1. Para avaliar a taxa de embebição das sementes, após o tratamento com tiametoxam, foi aplicada água nas sementes e avaliadas a massa nos períodos de 4, 8, 12, 24, 36 e 48 h após a embebição. A aplicação de tiametoxam apresentou aumento significativo da taxa de embebição em sementes de algodão, às 26 h, em feijão, às 4 h, em soja, às 4 h, em milho 'Master', às 48 h, em milho 'Maximus', às 24 h, em milho 'Pionner 30F87', às 4 h, em milho 'Murano', às 24 s, em milho 'Pionner 30F83', às 4 h.
- 2. A germinação foi avaliada a cada 24 h durante cinco dias e os resultados foram expressos em percentagem de sementes germinadas. A aplicação de tiametoxam aumentou a germinação em algodão, 2 dias depois da embebição, em arroz 'Inproarroz 1550', 5 dias depois da embebição, em arroz molino, 5 dias depois da embebição, em milho 'Master', 120 h depois da embebição, em milho 'Maximus', 48 h depois da embebição, em milho 'Pionner 30F87', 72 h após embebição, em milho 'Murano 30F87', 72 h após embebição, em soja 'P-34', 1 dia após embebição.
- 3. A germinação foi avaliada também pela percentagem de sementes com radículas acima de 4 cm. A aplicação de tiametoxam aumentou significativamente este parâmetro em algodão, 1 dia após a embebição, em arroz 'Inproarroz 1550', 5 dias após embebição, em arroz molino, 5 dias após embebição, em feijão 'Calima', 3 dias após embebição, em milho 'Pionner 30F87', 72 h após embebição, em milho 'Pionner 30F83', 5 dias após embebição, em soja 'P-34', 3 dias após embebição.
- 4. A germinação foi avaliada em casa-de-vegetação, semeada em vasos, a cada dia, por 8 dias. Foi observado aumento significativo na germinação em algodão, aos 8 dias de semeadura, em arroz 'Inproarroz 1550', 4 dias após semeadura, em arroz 'Fedearroz 50', 2 dias após semeadura, em arroz molino, 2 dias após semeadura, em feijão 'Calima', 8 dias após semeadura, em milho 'Pionner 30F87', 8 dias após semeadura, em milho 'Pionner 30F83', 7 dias após semeadura, em soja 'P-34', 7 dias após semeadura.
- 5. O efeito de tiametoxam sobre o crescimento de raízes, foi avaliado através da mensuração do comprimento das raízes, 10 dias após a semeadura, e a massa seca de raízes, 5 dias após a semeadura. Foi observado aumento significativo no comprimento de raízes em algodão, em arroz 'Inproarroz 1550', em arroz molino, em arroz 'Fedearroz 50', em arroz 'Fedearroz 369', em arroz 'Fedearroz 2000', em milho 'Murano', em milho 'Pionner 30F83', em milho 'Master', em milho 'Maximus', em milho 'Pionner 30F87', em soja 'P-34'e em feijão

- 'Calima'. A massa seca de raízes também apresentou aumento com aplicação de tiametoxam em algodão, em arroz 'Fedearroz 50', em arroz 'Fedearroz 2000', em arroz 'Inproarroz 1550', em arroz molino, em feijão 'Calima', em soja 'P-34', em milho 'Master', em milho 'Maximus', em milho 'Pionner 30F87' e em milho 'Murano'.
- 6. O índice de vigor foi calculado, aos 5 dias de embebição das sementes sob casa-devegetação, sendo a razão entre a massa seca da raiz dividida pela massa seca da parte aérea. A aplicação de tiametoxam aumentou o índice de vigor em plântulas de algodão, arroz 'Fedearroz 50', arroz 'Fedearroz 369', arroz 'Fedearroz 2000', arroz 'Inproarroz 1550', arroz molino, feijão 'Calima', soja 'P-34', milho 'Maximus', milho 'Murano', milho 'Pionner 30F87' e milho 'Pionner 30F83'.
- 7. A área foliar foi avaliada após 15 dias de embebição das sementes sob casa-de-vegetação. A aplicação de tiametoxam aumentou significativamente a área foliar em plântulas de arroz 'Fedearroz 50', de arroz 'Fedearroz 369', de arroz 'Fedearroz 1550', de arroz molino, de feijão 'Calima', de soja 'P-34', de milho 'Master', de milho 'Maximus' e de milho 'Pionner 30F87'.
- 8. A taxa de crescimento relativo (TCR) representa o acúmulo de massa seca durante um tempo determinado e se apresenta em g/g/dia, sendo calculada pela fórmula TCR = (lnP2 lnP1) / (T2-T1), onde P1 = Peso seco da parte aérea a T1 e P2 = Peso seco da parte aérea a T2, T1 = 10 dias de embebição, T2 = 15 dias de embebição. Foi observado aumento significativo com a aplicação de tiametoxam em algodão 'Delta Opal', soja 'P-34', milho 'Master', milho 'Maximus', milho 'Pionner 30F87', milho 'Murano' e milho 'Pionner 30F83'.

Acevedo, Zamora e Clavijo (2008) estudaram os conteúdos de proteína e a atividade de algumas enzimas no eixo embrionário de sementes de algodão, arroz, feijão, milho e soja tratadas com tiametoxam, durante a germinação, em diversos períodos. Foi observado aumento significativo no conteúdo de proteínas dos eixos embrionários, com aplicação de tiametoxam em sementes de algodão 'Delta Opal', às 24 e 96 h da embebição, de arroz 'Fedearroz 50', às 120 h, de arroz 'Fedearroz 369', às 96 e 120 h da embebição, de arroz 'Inproarroz 1550', às 72 h da embebição, de arroz 'Fedearroz 2000', às 120 h da embebição, de feijão 'Calima', às 48 e 96 h da embebição, de milho 'Pionner 30F87', 24 e 96 h da embebição, de milho 'Master', às 24 e 96 h da embebição, de milho 'Pionner 30F83', às 24 e 96 h da embebição, de milho 'Murano', às 24 e 96 h da embebição, de milho 'Murano', às

24 e 48 h da embebição, de soja 'P-34', às 24 e 96 h da embebição. A alfa-amilase é uma enzima responsável pela quebra do amido, presente no endosperma das sementes, de modo mobilizar reservas energéticas para a germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas. A aplicação de tiametoxam aumentou significativamente a atividade da alfa amilase, nos eixos embrionários em algodão 'Delta Opal', às 48 h da embebição, em arroz 'Fedearroz 369', às 96 h da embebição, arroz 'Fedearroz 2000', às 72 h da embebição, em arroz molino, às 96 h da embebição, arroz 'Fedearroz 50', às 96 h da embebição, arroz 'Inproarroz 1550', às 48 h da embebição, em feijão 'Calima', às 72 h da embebição, em milho 'Pionner 30F87', às 72 h da embebição, em milho 'Pionner 30F83', às 72 h da embebição, em milho 'Master', às 24 h da embebição, em milho 'Maximus', às 24 h da embebição, em milho 'Murano', às 48 h da embebição, em soja 'P-34', às 48 h da embebição. A atividade da enzima glucose-6-fosfato deshidrogenase (G6FDH), que atua na germinação de sementes, avaliada nos eixos embrionários, aumentou em algodão 'Delta Opal' às 24 h da embebição, em arroz 'Fedearroz 369' às 96 h da embebição, em arroz 'Fedearroz 50' às 96 h da embebição, em arroz 'Inproarroz 1550' às 96 h da embebição, em arroz molino às 24 h da embebição, em feijão 'Calima' às 48 h da embebição, em milho 'Pionner 30F83' às 96 h da embebição, em milho 'Pionner 30F87' às 72 h da embebição, em milho 'Master' às 120 h da embebição, em milho 'Maximus' às 120 h da embebição, em milho 'Murano' às 72 h da embebição, em soja 'P-34' às 24 h da embebição. A atividade da peroxidase, enzima relacionada à proteção contra o estresse oxidativo, em eixos embrionários, aumentou em algodão 'Delta Opal', às 24 h da embebição, em arroz 'Fedearroz 50', às 72 h da embebição, em arroz molino, às 24 h da embebição, em arroz 'Fedearroz 2000', às 72 h da embebição, em feijão 'Calima', às 48 h da embebição, em milho 'Pionner 30F83', às 24 h da embebição, em milho 'Master', às 48 h da embebição, em milho 'Pionner 30F87', às 72 h da embebição, em milho 'Maximus', às 120 h da embebição, em milho 'Murano', às 48 h da embebição, em soja 'P-34', às 72 h da embebição.

Não se conhece qualquer efeito fungicida do tiametoxam, nem tampouco como elicitor de defesa vegetal, entretanto o aumento da atividade de algumas enzimas do metabolismo secundário sugere que haja indução de algum metabólito de defesa.

### 1.4 Mecanismo de ação do tiametoxam

Os dados de literatura sobre o mecanismo de ação do efeito fisiológico do tiametoxam em plantas são escassos. Castro (2006), propôs a sequência de eventos ocorridos com a aplicação de tiametoxam nas plantas (Figura 2). O tiametoxam em plantas induz maior atividade enzimática (CATANEO, 2008; ACEVEDO; CLAVIJO, 2008; ACEVEDO; ZAMORA; CLAVIJO, 2008), aumentando o teor de alguns hormônios vegetais, que por sua vez incrementam a taxa de germinação de sementes (CATANEO, 2008; ACEVEDO; CLAVIJO, 2008), induz maior vigor em plântulas (ACEVEDO; CLAVIJO, 2008) e maior desenvolvimento radicular (DENARDIN, 2008; FERNANDES et al., 2008; SILVA et al., 2008; ACEVEDO; CLAVIJO, 2008). Um maior sistema radicular proporciona aumento do teor de citocinina, em função do aumento dos locais de síntese (TAIZ; ZEIGER, 2004) e também induz o aumento de absorção de nutrientes (DENARDIN, 2008) e água, proporcionando maior resistência estomática, maior atividade do metabolismo primário, ocasionando aumento no desenvolvimento vegetal (TAVARES et al., 2007; PETRERE et al., 2008; SILVA et al., 2008), e maior atividade do metabolismo secundário, proporcionando maior resistência aos estresses (CATANEO, 2008). A interação desses eventos com espécies, cultivares e condições edafoclimáticas, podem aumentar a produtividade das plantas (PETRERE et al., 2008; DAMICO, 2008).

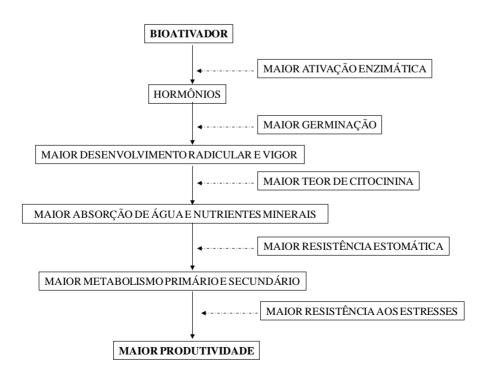


Figura 2 - Sequência de eventos promovida pelo tiametoxam (CASTRO, 2006)

Portanto, considera-se que o tiametoxam tem a capacidade de promover alterações fisiológicas nas plantas.

Dados da empresa fabricante<sup>(1)</sup> do tiametoxam revelaram que a molécula atua em fatores de transcrição alterando a expressão gênica. Com intuito de caracterizar o modo de ação do tiametoxam, Castro (2006), baseou-se no esquema anterior e sugeriu que a molécula pode atuar de duas maneiras. A primeira seria no sentido de ativar proteínas de membranas celulares possibilitando maior transporte iônico, incrementando a nutrição mineral da planta. A segunda seria relacionada ao aumento da atividade enzimática induzida pelo tiametoxam, tanto na semente como na planta, promovendo aumento do metabolismo primário e secundário, aumento da síntese de aminoácidos, precursores de novas proteínas e síntese de hormônios vegetais. As respostas das plantas a essas proteínas e a biossíntese hormonal estariam relacionadas com aumentos na produção.

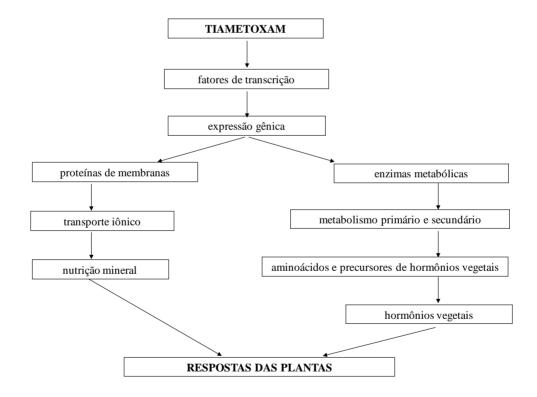


Figura 3 - Modo de ação do tiametoxam em plantas (CASTRO, 2006)

<sup>(1)</sup> Syngenta Crop Protection AG, Research and Technology, 4002 Basel, SUISSE

Uma hipótese das vias no mecanismo de ação do tiametoxam, pode ser baseada na supressão do óxido nítrico. Segundo Green et al. (2005), um dos principais metabólitos do tiametoxam produzidos em células ratos, é o CGA265307 (Figura 4).

Figura 4 - Metabólitos do tiametoxam em células de ratos (GREEN et al., 2005)

Este metabólito, o CGA265307, apresenta ação inibidora na enzima óxido-nítrico-sintase. Seria possível a produção deste composto em células de plantas? Neste caso, este metabólito poderia atuar reduzindo a produção de óxido nítrico nas células das plantas.

O óxido nítrico é sintetizado através da arginina, por meio da enzima óxido-nítrico-sintase e é um conhecido mensageiro secundário, cuja atuação situa nas vias de transdução de sinais, amplificando sinais, como exemplo os sinais hormonais (TAIZ; ZEIGER, 2004). Foi demonstrado que o ácido abscísico (ABA) estimula a síntese de óxido nítrico nas células-guarda, o qual induz o fechamento estomático, indicando que o óxido nítrico é um mensageiro secundário inicial desta via (NEILL et al., 2002). Nesta hipótese, o tiametoxam poderia atuar inibindo a produção de óxido nítrico, reduzindo o fechamento estomático, aumentando a condutância estomática das plantas, corroborando a sequência de eventos, proposta por Castro (2006), em aumentar a absorção de água e nutrientes. Além disso, alguns autores (MEDINA; MACHADO; GOMES, 1999) associam a abertura estomática com a taxa fotossintética, podendo também aumentar a fotossíntese, que justificaria o aumento da atividade metabólica, incrementando o crescimento vegetal.

Outros autores (CARVALHO et al., 2003) propõem que o tiametoxam é um inseticida que produz efeitos fisiológicos semelhantes aos organofosforados, podendo atuar tanto como inibidor, quanto como indutor no metabolismo de esterases. Estas substâncias, mais especificamente as colinesterases e as carboxilesterases são suspeitas de apresentarem atividades proteolíticas, agindo como reguladoras de crescimento e desenvolvimento celular e participarem de processos de diferenciação (CARVALHO et al., 2003).

### 1.5 Justificativa e objetivos

Portanto, existem diversos trabalhos com tiametoxam com o objetivo de verificar seus efeitos no metabolismo e desenvolvimento de plantas, principalmente na cultura da soja, mas os resultados não são claros, evidenciando forte interação entre cultivares, épocas, condições de estresse e disponibilidade de nutrientes.

Em função da grande utilização do inseticida tiametoxam na agricultura brasileira, o estudo deste inseticida, no sentido de alterar o metabolismo e desenvolvimento de plantas, constitui-se de grande importância na agregação de informações à literatura biológica e agronômica brasileira. Apesar de diversos estudos apresentarem evidências, novos trabalhos são necessários, com outras doses e outras espécies vegetais.

Neste contexto, os objetivos deste trabalho foram: verificar o efeito da aplicação de tiametoxam em plantas de cana-de-açúcar, feijoeiro, soja, laranjeira e cafeeiro, em diferentes doses e formas de aplicação (tratamento de sementes, pulverização foliar e aplicação no solo), sobre parâmetros de desenvolvimento (área foliar, número de folhas, massa seca de raízes e parte aérea e comprimento de raízes), nos teores foliares de nutrientes e na atividade enzimática.

### Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronômica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 41-91.

ACEVEDO, J.C.; ZAMORA, H; CLAVIJO, J. Investigación bioquímica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 93-122.

- ANANIA, P.F.R.; OLIVEIRA, C.L.; TEIXEIRA, N.T.; ZAMBON, S.; CALAFIORI, M.H. Influência da aplicação de aldicarbe nos teores de N-P-K, nas folhas de limoeiro "Tahiti". **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 13, p. 48-52, 1988a.
- ANANIA, P.F.R.; TEIXEIRA, N.T.; CALAFIORI, M.H.; ZAMBON, S. Influência de inseticidas granulados nos teores de N-P-K nas folhas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Ecossistema,** Espírito Santo do Pinhal, v. 13, p. 121-124, 1988b.
- ARTECA, R.N. **Plant growth substances:** principles and applications. New York: Chapman and Hall, 1996. 332 p.
- VIVANCO, J.M.; FLORES, H.E. Control of root formation by plant growth regulators In: BASRA, A.S. (Ed.) **Plant growth regulators in agriculture and horticulture:** their role and commercial uses. Binghamton: Food Products Press, 2000. p. 1-25.
- BOTELHO, G. Brasil supera EUA no uso de agroquímicos. **Gazeta Mercantil**, São Paulo, 20 jan. 2009. Finanças & Mercados, p. 9.
- 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<sup>-</sup>1, p. 97-104, 2001.
- CAMPOS, B.C. de; SILVA, M.T.B. Ação do inseticida tiametoxam na fixação biológica de nitrogênio da cultura da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 250-264.
- CARVALHO, V.M. de; MARQUES, R.M.; LAPENTA, A.S.; MACHADO, M.F.P.S. Functional classification of esterases from leaves of *Aspidosperma plyneuron* M. Arg. (Apocinaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 2, p.195-198, 2003.
- CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical.** Piracicaba: ESALQ, Divisão de Biblioteca e Documentação, 2006. 46 p. (Série Produtor Rural, 32).
- CASTRO, P.R.C.; PITELLI, A.M.C.M.; PERES, L.E.P.; ARAMAKI, P.H. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de tiometoxam através de biotestes. **Publicatio, UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.,** Ponta Grossa, v. 13, n. 3, p. 25-29, 2007.
- 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.

CASTRO, G.S.A.; BOGIANI, J.C.; SILVA, M.G. da; 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

CATANEO, A.C. Ação do tiametoxam (thiamethoxam) sobre a germinação de sementes de soja (*Glycine max*, L.): enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situações de estresses (deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 126-194.

DAMICO, C. Interação entre época de semeadura, ciclo de maturação de cultivares e dose de tiametoxam sobre características agronômicas e produtividade da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 284-308.

DAVIES, P.J. **Plant hormones:** biosyntesis, signal transduction, action! Dordrecht: Kluwer Academic, 2004. 750 p.

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

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.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; COELHO, A.L.; FERREIRA, J.M.G. Influência da época de aplicação de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), na qualidade e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, Londrina v.33(1), 2004. p. 91-98.

FACHINI, A.C.; RAMOS, C.K.; MIRANDA, P.V.; BARBOSA, L.J.; CALAFIORI, M.H.; TEIXEIRA, N.T.; RODRIGUES, C.S. Tratamento de semente com inseticida e zinco influindo sobre os nutrientes do milho (*Zea mays* L.) e controle da *Spodoptera frugiperda*. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 16, p. 69-87, 1990.

FERNANDES, F.B.; CALAFIORI, M.H.; ANDRADE, R.C.; BUENO NETO, J.R.; TEIXEIRA, N.T. Efeito de cruiser em soja plantada em solo arenoso, com diferentes adubações e correção de solo. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 218-240.

FOUCHE, P.S.; BESTER, D.H.; VLEDMAN, G.H. The influence of potassium applications and nematicides on the potassium nutrition of "Valencia" orange trees on replant citrus soil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 102, n. 5, p. 546-548, 1977.

- GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. 342 p.
- GOULART, A.C.P. Tratamento de sementes de soja com Cruiser (tiametoxam) e Apron Maxx RFC (fludioxonil+mefenoxan) In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 208-217.
- GREEN, T.; TOGHILL, A.; LEE, R.; WAECHTER, F.; WEBER, E.; NOAKES, J. Thiamethoxam induced mouse liver tumors and their relevance to humans. Part 1: Mode of action studies in the mouse. **Toxicological Sciences**, Oxford, v. 86, n. 1, p. 36–47, 2005
- GRÜTZMACHER, A.D.; LOECK, A.E; FACHINELLO, J.C.; GRÜTZMACHER, D.; GARCIA, M. Eficiência dos inseticidas fisiológicos Mimic 240SC (tebufenozide) e Intrepid 240SC (methoxifenozide) no controle da mariposa oriental *Grapholita molesta* (Busck, 1916) (Lepidoptera: Tortricidae) na cultura da pereira. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, n. 3, p. 211-215, 1999.
- MEDINA C.L.; MACHADO, E.C.; GOMES M.M.A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.
- NEILL, S.J.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HANCOCK, J.T. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. **Plant Physiology**, Rockville, v. 128, p. 13-16, 2002.
- OYA, K.L.; SANTOS, J.B.D.; TEIXEIRA, N.T. Influência de inseticidas granulados sistêmicos nos teores de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea do tomateiro (*Lycopersicon esculentum*, Mill. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 16, p. 104-110, 1990.
- RAIJ, B. van. **Fertilidade do solo e adubação.** Campinas: Agronômica Ceres; Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato, 1991. 343 p.
- PEREIRA, M.A.; SILVA, F.M.L.; DUARTE, R.M.; CASTRO, P.R.C. Efeito de Tiametoxam e Fludioxonil no comprimento das raízes da batata. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE BATATA, 13., 2007, Holambra. **Resumos ...** Holambra: ENPAB, 2007. 1 CD-ROM.
- PETRETE, V.G.; PETRETE, C.; FIORIN, J.E.; SILVA, M.T.B. Efeito de tiametoxam sobre a soja em solo argiloso na presença ou ausência de adubo e calcário. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 242-248.
- REDDY, K.R.; REDDY, V.R.; BAKER, D.N.; MCKINION, J.M. Effects of Aldicarb on photosynthesis, root growth and flowering of cotton. In: PLANT GROWTH REGULATION

SOCIETY OF AMERICA. ANNUAL MEETING, 16., 1989, Arlington. **Proceedings...** Arlington: Plant Growth Regulation Society of America, 1989. p. 168-169.

REDDY, V.R.; HODGES, H.F.; MCKINION, J.M. Is Aldicarb (Temik) a plant growth regulator? PLANT GROWTH REGULATION SOCIETY OF AMERICA. ANNUAL MEETING, 17., 1990, Saint Paul. **Proceedings...** Saint Paul: Plant Growth Regulation Society of America, 1990. p. 79-80.

RHODIA. **Temik 150:** saiba mais sobre este defensivo agrícola. São Paulo: Rhodia Agro, 1991. 11 p.

SCARPELLINI, J.R.; CASSANELLI JR, J.R.; FARIA, A.M. Efeito do Thiamethoxan em tratamento de sementes sobre o desenvolvimento da cultura da soja. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, supl. 3, p. 1-5, 2003. Apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 16., 2003, São Paulo.

SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.

SIVEIRA, E.R.; LORENZATTO, H.; JAMHOUR, J. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 278-282

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

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.

TREWAVAS, A. How do plant growth substances act? I. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 4, p. 203-228, 1981.

WEAVER, R.J., **Plant growth substances in agriculture.** San Francisco: W.H.Freeman, 594 p. 1972.

WHEATON, T.A., CHILDERS, C.C.; TIMMER, L.W.; DUNCAN, L.W.; NIKDEL, S. Effects of aldicarb on the production, quality of fruits and situation of citrus plants in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society,** Tallahasse, v. 1, p. 1-18, 1985.

# 2 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO E CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DE RAÍZES DE CANA-DE-AÇÚCAR

#### Resumo

Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito da pulverização foliar de tiametoxam sobre a área foliar, massa seca de folhas, colmos e raízes, comprimento da raiz, espessura do córtex da raiz, diâmetro do cilindro central e número de metaxilemas de plantas de cana-de-acúcar cultivar RB 83-5486, sendo realizado no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALO/USP, entre 01/09/06 e 09/11/06. Para simular cana soca, foram cortados rizomas de cana-de-acúcar em cubos de 1,0 kg, os quais foram plantados em vasos preenchidos com 20 litros de substrato composto por solo argiloso, calcário e adubos, que após cinco dias do plantio, após surgirem os primeiros colmos, tiveram a parte aérea podada, de modo uniformizar as brotações. As plantas foram irrigadas a fim de manter o substrato próximo à capacidade de campo. Foram avaliados três tratamentos: controle, 400 g ha<sup>-1</sup> e 800 g ha<sup>-1</sup> do produto comercial (p.c.) Actara® 250WG (250 g tiametoxam kg<sup>-1</sup>) em pulverização foliar, utilizando-se calda de 300 L ha<sup>-1</sup>. Os tratamentos foram aplicados 30 dias após a poda, quando as plantas estavam com as folhas com cerca de 50 cm de altura. Após 7 dias da aplicação, iniciou-se a primeira avaliação, sendo repetida a cada 7 dias, totalizando 5 avaliações, momento em que o sistema radicular ocupou todo o volume do interior do vaso. Em cada avaliação, utilizaram-se 3 repetições por tratamento, que consistiram em retirar as plantas com as raízes dos vasos, com auxílio de jato de água, e separar as folhas, colmos e raízes. As raízes tiveram seus comprimentos mensurados pelo programa SIARCS. A área foliar foi determinada com o aparelho LI-COR LI-3100. A avaliação das características histológicas da raiz foi realizada por meio de cortes transversais, a 5 cm da ponta da raiz para a base, passando pelos processos usuais de microtomia. Após a confecção das lâminas para microscopia ótica, foram obtidas imagens por meio de captador acoplado a microscópio ótico Leica DMLB, seguido de digitalização através do software IM50. Concluiu-se que a aplicação de tiametoxam em pulverização foliar, em cana soca de cana-de-açúcar, aumenta a área foliar e o comprimento das raízes, amplia a espessura do córtex da raiz, incrementa o diâmetro do cilindro vascular e aumenta o número de metaxilemas.

Palavras-chave: Saccharum officinarum; Efeito fisiológico; Actara; Histologia de raízes

#### **Abstract**

The objective of this experiment was to evaluate the effect of foliar spraying of thiamethoxan on leaf area, dry weight of leaves, stems and roots, root length, thickness of the cortex of the root, diameter of the central cylinder and the number of metaxylems in young plants of sugar cane 'RB 83-5486', held in the Experimental Field of the Biological Sciences Department of ESALQ / USP, between 09/01/06 and 11/09/06. To simulate sugar cane ratoon, root systems of sugar cane were cut in cubes of 1.0 kg, which were planted in pots filled with 20 liters of substrate consisting of clay soil, lime and fertilizer, that after five days of planting, after the first stalks emergence, the shoots were pruned in order to standardize the shoots. The plants were irrigated to maintain the substrate near to the field capacity. Three treatments were evaluated: control, 400 g ha<sup>-1</sup> and 800 g ha<sup>-1</sup> of commercial product (c.p.) Actara® 250WG

(thiamethoxan 250 g kg<sup>-1</sup>) as foliar spray using 300 L of water ha<sup>-1</sup>. The treatments were applied 30 days after pruning, when the plants had their leaves with about 50 cm height. After 7 days of application, started the first evaluation, being repeated every 7 days, totalizing 5 evaluations, when the root system occupied the entire volume inside the pot. In each evaluation, 3 replications per treatment were used. The evaluations were carried out removing the plants with their roots from the pots, with help of water jet, and separated leaves, stems and roots. The roots had their lengths measured by SIARCS program. The leaf area was determined with LI-COR LI-3100. The assessment of histological features of the root was performed by transverse sections cuts, 5 cm from the root tip to the base, passing through the usual processes of microtomy. After slides preparation for optic microscopy, images were obtained by means of pickup coupled to optical microscope Leica DMLB and scanning using the software IM50. It was concluded that the application of thiamethoxan as foliar spray on sugar cane ratoon, increases leaf area and root length, the thickness of the cortex of the roots, the diameter of the vascular cylinder and the number of metaxylem.

Keywords: Saccharum officinarum; Physiological effect; Actara; Histology of roots

## 2.1 Introdução

O Brasil destaca-se como maior produtor de cana-de-açúcar do planeta. Esta cultura avança em várias partes do território brasileiro, sendo uma das mais importantes do país. Apesar de alguns considerarem ser responsável pela alta mundial no preço dos alimentos, das restrições ambientais em certas regiões brasileiras e competitividade com combustíveis fósseis, o etanol brasileiro vislumbra um futuro promissor. A Companhia Nacional de Abastecimento – Conab – estima para safra brasileira 2008/2009 de cana-de-açúcar, uma área de 8,9 milhões de hectares, dos quais 7 milhões destinam-se à produção de açúcar e álcool, com cerca de 558,6 milhões de toneladas de cana, e outros 151,6 milhões de toneladas para outros fins, como produção de mudas, cachaça e rapadura (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009).

Inseticidas e fungicidas geralmente são estudados quanto a sua eficiência no controle de pragas e doenças, respectivamente, entretanto podem provocar efeitos fisiológicos capazes de influenciar o desenvolvimento das culturas e que não têm sido devidamente avaliados por serem pouco conhecidos. Produtores de cana-de-açúcar relataram que após a pulverização com tiametoxam, um dos inseticidas mais utilizados atualmente, as plantas apresentavam maior vigor e desenvolvimento.

É comum o uso de agroquímicos para resolver problemas no campo, contudo, as pesquisas sobre aspectos morfo-fisiológicos dos cultivos podem revelar informações que incrementem o desempenho das plantas em função das condições impostas pelos manejos.

O xilema primário consiste em protoxilema e metaxilema. O protoxilema é o primeiro a se formar em regiões de intenso crescimento, sendo diferenciado em metaxilema. A análise histológica de órgãos vegetais pode revelar alterações estruturais responsáveis por modificações na fisiologia das plantas e no desempenho em cultivo. As raízes sofrem influência dos mais diversos hormônios vegetais. A sua formação primária (origem da radícula do embrião) e o seu crescimento estão submetidos à atuação sinérgica e proporcional das auxinas e das citocininas (MERCIER, 2004). Diferentes tratos culturais utilizados na agricultura, podem provocar alterações na organização estrutural dos vegetais (Silva et al., 2005).

O tiametoxam é registrado no Brasil para a cultura da cana-de-açúcar, recomendado para controle de cigarrinha-da-raiz (*Mahanarva fimbriolata*), na dose de 1000 g ha<sup>-1</sup>, e cupins (*Heterotermes tenuis*), na dose de 400 g a 800 g ha<sup>-1</sup>, em volume de calda de 200 a 300 litros ha<sup>-1</sup>.

Considerou-se que o tiametoxam apresenta efeito bioativador, uma vez que mesmo na ausência de insetos, promove aumento do desenvolvimento, vigor e produtividade do cultivo. Em função da grande importância da cultura da cana-de-açúcar, juntamente com um dos defensivos mais utilizados para a cultura, o trabalho de avaliação dos efeitos do tiametoxam, pode agregar informações para o desenvolvimento da cultura no Estado e no país. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da pulverização foliar de tiametoxam em diferentes épocas, sobre a área foliar, massa seca de folhas, colmos e raízes, comprimento da raiz, espessura do córtex da raiz, diâmetro do cilindro central radicular e número de metaxilemas na raiz de plantas jovens de cana-de-açúcar variedade RB 83-5486.

#### 2.2 Desenvolvimento

## 2.2.1 Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado com plantas de cana-de-açúcar 'RB 83-5486', no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, entre 01/09/06 e 09/11/06. Para simular cana soca, foram plantados rizomas cortados em vasos plásticos preenchidos com 20 litros de substrato composto por solo argiloso, originário de horizonte B, areia, vermiculita, calcário e adubos. Foram utilizados rizomas cortados em cubos de 1,0 kg, que após cinco dias do plantio, após surgirem as primeiras brotações, tiveram a parte aérea podada, de modo uniformizar as brotações. As plantas foram irrigadas a fim de manter o substrato próximo à capacidade de campo.

Foram avaliados três tratamentos: controle, 400 g ha<sup>-1</sup> e 800 g ha<sup>-1</sup> de produto comercial (p.c.) Actara® 250WG (250 g tiametoxam kg<sup>-1</sup>) em pulverização foliar, utilizando-se calda de 300 L ha<sup>-1</sup>.

Os tratamentos foram aplicados 30 dias após a poda, quando as plantas estavam com as folhas com cerca de 50 cm de altura. Após 7 dias da aplicação, iniciou-se a primeira avaliação, sendo repetida a cada 7 dias, totalizando 5 avaliações, momento em que o sistema radicular ocupou todo o volume interior do vaso. Em cada avaliação, utilizaram-se 3 repetições por tratamento. A distribuição dos vasos foi em delineamento inteiramente casualizado. Cada parcela foi composta por um vaso, com um rizoma.

As avaliações consistiram em retirar as plantas com as raízes dos vasos, com auxílio de jato de água, e separar as folhas, colmos e raízes. A área foliar foi determinada com o aparelho LI-COR LI-3100.

As raízes foram separadas do solo com água corrente e secas com auxílio de toalha. Após este procedimento, tiveram suas imagens digitalizadas por um *scanner* e seus comprimentos mensurados pelo programa SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo), desenvolvido pela EMBRAPA/CNPDIA – São Carlos, SP (CRESTANA et al., 1994).

Para obtenção da massa seca, cada material foi colocado individualmente em sacos de papel devidamente identificados e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar à 65°C, até peso constante, quando o material foi pesado em balança de precisão de 0,001 g.

A avaliação das características histológicas da raiz foi realizada no Laboratório de Imagens do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, por meio de cortes transversais, a 5 cm da ponta da raiz para a base, com 10 repetições, passando pelos processos usuais de microtomia, que incluem: fixação em FAA 70% (à vácuo) por 24 horas, desidratação em série alcoólica (etílica), infiltração em resina sintética GMA (glicolmetacrilato), emblocamento, seccionamento em micrótomo rotativo (ajustado para 5 μm), coloração e montagem de lâminas permanentes. Foi usado o corante azul de toluidina 1% com borato de sódio 1% em 100 mL de água destilada (GERRITS, 1991). Após a confecção das lâminas para microscopia ótica, obtiveram-se imagens por meio de captador acoplado a microscópio ótico Leica DMLB, seguido de digitalização através do software IM50.

Após o período experimental, os dados dos parâmetros de desenvolvimento foram avaliados e os resultados obtidos foram transformados por log<sub>10</sub>, segundo o método potência

ótima de BOX-COX (1964), implementado no programa SAS (2003). Os dados transformados foram submetidos à análise de variância e quando significativos, tiveram as médias comparadas utilizando-se o teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados da análise histológica da raiz foram submetidos à análise de variância e quando significativos, tiveram as médias comparadas utilizando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 2.3 Resultados e Discussões

## Parâmetros de desenvolvimento

As aplicações de tiametoxam aumentaram significativamente a área foliar (Tabela 2.1) das plantas de cana-de-açúcar, nas doses de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> e 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>, em relação ao controle. Não foi observada diferença entre as duas doses aplicadas.

Semelhantemente, Tavares at al. (2007), em plantas de soja plantadas em vasos, observaram que a aplicação de tiametoxam aumentou significativamente a área foliar aos 20 e 30 dias do plantio, embora utilizado em tratamento de sementes.

Oliveira et al. (2007) afirmaram que o estudo da área foliar em cana-de-açúcar permite correlacioná-la a com seu potencial produtivo de açúcar, entretanto esses autores verificaram que variedades com valores de IAF muito altos não eram os mais produtivos.

Tabela 2.1 - Área foliar em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época - dados originais em  ${\rm cm}^2$  (dados transformados em  $\log_{10}$ )

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	108 (2,13)	157 (2,19)	105 (2,02)	123 (2,11) d
2	734 (2,85)	754 (2,84)	845 (2,87)	778 (2,86) c
3	700 (2,82)	1572 (3,15)	1810 (3,25)	1361 (3,08) b
4	1173 (3,06)	1758 (3,24)	1646 (3,20)	1526 (3,16) b
5	1903 (3,24)	2632 (3,41)	2685 (3,42)	2407 (3,36) a
Médias	924 (2,82) B	1375 (2,97) A	1418 (2,95) A	CV 5,5%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

Segundo Machado et al. (1982) o índice de área foliar (IAF) para a cana-de-açúcar estaria em torno de 4,0, portanto seria necessário avaliar quanto de incremento da área foliar o tiametoxam poderá proporcionar no IAF de plantas adultas.

Durante as cinco semanas avaliadas, foram observados aumentos significativos na área foliar semanalmente, exceto entre a 3ª e 4ª semana. Não foi observada interação significativa entre os tratamentos e as épocas de coleta.

Apesar do aumento significativo verificado na área foliar, não foi observada diferença significativa na massa seca das folhas (Tabela 2.2) com a aplicação de tiametoxam nas doses de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> e 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>. Entretanto, é possível verificar tendência dos tratamentos com tiametoxam aumentarem a massa seca das folhas.

Denardin (2008) observou, em plantas de soja, aumento da massa seca da parte aérea, com os tratamentos de sementes nas doses de 100 e 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> sementes. Tavares at al. (2007), também em plantas de soja, observaram aumento da massa seca da parte aérea aos 30 dias, em tratamento de sementes com tiametoxam.

Tabela 2.2 - Massa seca de folhas em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época - dados originais em g (dados transformados em  $log_{10}$ )

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	1,34 (0,26)	1,62 (0,20)	1,19 (0,07)	1,39 (0,16) c
2	5,43 (0,72)	5,76 (0,72)	6,55 (0,77)	5,91 (0,74) b
3	4,81 (0,66)	10,91 (0,99)	12,20 (1,08)	9,31 (0,91) b
4	11,30 (1,04)	18,58 (1,26)	15,95 (1,18)	15,28 (1,16) a
5	15,61 (1,15)	22,95 (1,34)	21,94 (1,33)	20,17 (1,28) a
Médias	7,70 (0,77) A	11,97 (0,90) A	11,57 (0,89) A	CV 20,7%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

Foi observado aumento significativo na massa seca de folhas ao longo das 5 semanas de coleta, exceto entre as últimas duas semanas. Como era esperado, o desenvolvimento da cana soca nos meses de setembro e outubro, com temperaturas altas, água e nutrientes disponíveis, é bastante elevado.

Não foi observada interação significativa entre a massa seca de folhas e os períodos de coleta.

Não foi notada diferença significativa na massa seca dos colmos (Tabela 2.3) com a aplicação de tiametoxam nas doses de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> e 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>.

CV 26,1%

	pulverização ioliai e epoca - dados originais em g (dados transformados em $\log_{10}$ )					
Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias		
1	0,92 (0,13)	1,34 (0,09)	0,69 (-0,17)	0,99 (0,02) c		
2	5,71 (0,74)	3,64 (0,53)	4,03 (0,57)	4,46 (0,61) b		
3	3,81 (0,57)	8,23 (0,83)	8,84 (0,94)	6,96 (0,78) b		
4	10,63 (1,01)	16,96 (1,23)	14,10 (1,11)	13,90 (1,12) a		
5	15,39 (1,14)	22,55 (1,34)	21,55 (1,32)	19,83 (1,26) a		

9,84 (0,75) A

Tabela 2.3 - Massa seca de colmos em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época - dados originais em g (dados transformados em log<sub>10</sub>)

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

10,54 (0,80) A

7,29 (0,76) A

Médias

Dinardo-Miranda et al. (2004), avaliando a eficiência de vários inseticidas no controle da cigarrinha das raízes (*Mahanarva fimbriolata*) na cultura da cana-de-açúcar, observaram que o tiametoxam aumentou significativamente a massa do colmo e a produtividade, entretanto, os autores trabalharam no campo, com plantas adultas e em presença da praga, o que impede uma avaliação mais rigorosa dos efeitos fisiológicos deste inseticida.

Semelhantemente aos resultados da massa seca das folhas, a massa seca dos colmos apresentou aumento significativo semanalmente nas primeiras 4 semanas, permanecendo igual nas 2 últimas. Também não foi observada interação significativa entre a massa seca de colmos e as épocas de coleta.

Não foi observada diferença significativa na massa seca das raízes (Tabela 2.4) com a aplicação de tiametoxam nas doses de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup>e 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>. Embora verifique-se tendência do tiametoxam em aumentar a massa seca das raízes.

Tabela 2.4 - Massa seca de raízes em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época - dados originais em g (dados transformados em  $log_{10}$ )

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	0,31 (-0,17)	0,28 (-0,15)	0,39 (-0,05)	0,33 (-0,12) c
2	0,98 (0,13)	0,82 (0,04)	1,06 (0,08)	0,95 (0,09) c
3	0,76 (0,07)	3,95 (0,60)	2,78 (0,48)	2,49 (0,38) b
4	5,89 (0,78)	10,28 (1,03)	6,03 (0,79)	7,40 (0,87) a
5	10,54 (0,98)	13,62 (1,13)	11,63 (1,06)	11,93 (1,06) a
Médias	3,70 (0,36) A	5,79 (0,53) A	4,38 (0,47) A	CV 48,2%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados das análises apresentaram alto coeficiente de variação, talvez devido a metodologia utilizada, de plantio de rizomas de cana-de-açúcar, que provavelmente apresentavam variação de reservas e gemas meristemáticas.

Foi observado aumento significativo na massa seca de raízes entre a segunda e quarta semana de avaliação. Não foi notada interação na massa seca das raízes, entre as doses de tiametoxam e as épocas de avaliação.

Foi observado aumento significativo no comprimento das raízes (Tabela 2.5) com a aplicação de tiametoxam na dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup>, enquanto o tratamento com 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> não diferiu do controle, sendo que a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> não diferiu significativamente da dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup>. Como não foi observado aumento na massa seca das raízes, mas observou-se aumento no comprimento das raízes, possivelmente o tiametoxam aumentou o número de raízes finas, característica desejável, desde que, quanto menor o diâmetro da raiz, maior sua área específica e maior o contato com a solução do solo para a absorção de água e nutrientes.

Embora na grande maioria dos experimentos comprovando os efeitos fisiológicos do tiametoxam ter sido aplicado em sementes, a pulverização foliar realizada nas plantas de cana-de-açúcar, mostrou-se eficaz em aumentar sistema radicular. O rápido desenvolvimento inicial é muito importante para a cultura. Segundo Terauchi e Matsuoka (2000), as características ideais de variedades de cana-de-açúcar estão relacionadas com o rápido crescimento e desenvolvimento na fase inicial.

Tabela 2.5 - Comprimento de raízes em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época - dados originais em cm (dados transformados em log<sub>10</sub>)

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	12,14 (0,95)	22,74 (1,35)	14,36 (1,16)	16,41 (1,15) d
2	43,68 (1,62)	46,02 (1,61)	48,18 (1,48)	45,96 (1,57) c
3	52,69 (1,71)	177,76 (2,20)	133,46 (2,08)	121,30 (1,99) b
4	240,49 (2,35)	384,65 (2,58)	236,33 (2,34)	287,16 (2,42) a
5	424,85 (2,60)	445,53 (2,60)	405,31 (2,60)	425,23 (2,60) a
Médias	154,77 (1,85) B	215,34 (2,07) A	167,53 (1,93) AB	CV 11,8%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade

Alguns autores não verificarem aumento no comprimento de raízes em soja (SCARPELLINI et al., 2003) com o uso de tiametoxam, entretanto, talvez o aumento radicular

seja o efeito fisiológico mais comum em plantas promovido pelo tiametoxam (TAVARES et al., 2007; DENARDIN, 2008; FERNANDES et al., 2008; SILVA et al., 2008).

O comprimento das raízes aumentou durante a primeira e quarta semana de avaliação, permanecendo igual entre a quarta e quinta semana, o que pode ser explicado pelo confinamento das raízes em vasos com volume de 20 litros. Não foi observada interação entre o comprimento de raízes e épocas de coleta.

Portanto, observa-se nesta pesquisa, que a aplicação de tiametoxam em plantas jovens de cana soca favorece o desenvolvimento das folhas, aumentando a superfície foliar, que pode proporcionar ganhos fotossintéticos e maior produção de carboidratos, possibilitando o aumento do teor de sacarose no colmo. Por outro lado, o aumento no comprimento das raízes pode aumentar a capacidade de absorção de nutrientes e água, favorecendo o aprofundamento das raízes, podendo tornar as plantas mais resistentes ao déficit hídrico.

## Avaliações histológicas da raiz

Através das análises das secções transversais de raízes jovens de cana-de-açúcar, foi possível descrever a ação do tratamento com tiametoxam nas concentrações 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> e 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> comparados a plantas controle, com análises aos 7, 14, 21 e 28 dias (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> semana) após o tratamento. Externamente foi observada a epiderme com raros pêlos absorventes em desenvolvimento, logo em seguida, internamente, temos a exoderme, que consiste de uma simples camada de células de paredes suberizadas, seguida de poucas células de esclerênquima abaixo da exoderme. Há um largo córtex com células de parênquima de paredes finas com muitos espaços intercelulares arranjados em fileiras radiais irregulares entremeadas entre estas células do parênquima cortical. Internamente ao córtex, encontra-se a endoderme, camada com células de paredes suberificadas, tangencialmente e radialmente, que limita do lado interno, a medula e do lado externo, o córtex. A estele, apresenta xilema e floema arranjados radialmente. Os elementos de protofloema e protoxilema, alternos aos raios, são numerosos, como resultado da ausência de desenvolvimento secundário. Entre os pólos de protoxilema e protofloema, há tecido parenquimatoso e células do mesmo tecido separando-os, a partir do metaxilema e do metafloema. O xilema é formado por círculos conspícuos de aproximadamente 10 - 12 vasos de metaxilema, sendo que esse número aumenta com o espessamento da raiz e a idade. O centro da raiz é ocupado pela medula que é contínua e formada por células arredondadas.

Artschwager (1925), publicou em detalhes a estrutura da raiz de cana-de-açúcar e Van Dillewijn (1952), analisou muitos dos detalhes dados por Artschwager (1925).

Em relação à espessura do córtex da raiz (Tabela 2.6), foi observado interação significativa entre a época de coleta e as doses de tiametoxam.

Logo na primeira semana após aplicação do tiametoxam, verificou-se que a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> proporcionou aumento significativo na espessura do córtex da raiz, em relação aos demais tratamentos. Na segunda semana, observou-se o inverso, ou seja, a dose de 800 g ha<sup>-1</sup> reduziu este parâmetro. Na terceira semana, verificou-se que a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> promoveu aumento significativo na espessura do córtex em relação ao controle e à dose de 800 g ha<sup>-1</sup>.

Na quarta semana foi observado que as doses de tiametoxam não apresentaram diferença significativa na espessura do córtex da raiz.

Queiroz-Voltan et al. (1998), estudaram aspectos estruturais das raízes de cana-de-açúcar e observaram que há uma tendência de raízes desenvolvidas em solo compactado apresentarem a relação CO/CV (espessura do córtex / espessura do cilindro vascular) maior .

Tabela 2.6 - Espessura do córtex (µm) de raízes em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época de amostragem

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	87,1 Bb	88,2 Bb	108,6 Ab	94,6
2	92,0 Ab	87,5 Ab	79,0 Bc	86,2
3	123,4 Ba	141,3 Aa	125,2 Ba	130,0
4	60,7 Ac	56,0 Ac	60,7 Ad	59,1
Médias	90,8	93,2	93,3	CV 7,2%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Com os períodos de coleta, observa-se que o tratamento controle e a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> apresentaram desempenho semelhante, mantendo a espessura do córtex da raiz constante da primeira para a segunda semana, aumentando na terceira semana e reduzindo na quarta semana. Enquanto, na dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup>, a espessura do córtex reduziu da primeira para segunda semana, aumentou na terceira semana e reduziu na quarta semana.

O diâmetro do cilindro vascular apresentou interação significativa entre as épocas de coleta e as doses de tiametoxam aplicadas (Tabela 2.7).

Na primeira semana, foi observado que a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> aumentou o diâmetro do cilindro vascular em relação ao tratamento controle e a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup>. Na segunda

semana, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos. Na terceira semana, a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> promoveu aumento significativo do diâmetro do cilindro enquanto a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> reduziu em relação ao controle. Entretanto, na quarta semana as duas doses de tiametoxam reduziram o diâmetro do cilindro central em relação ao controle.

Tabela 2.7 - Diâmetro do cilindro vascular (μm) de raízes em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época de amostragem

Sem	ana Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	79,2 Bc	86,9 Ba	113,2 Ab	93,1
2	102,1 Ab	97,2 Aa	98,5 Ac	99,3
3	124,4 Ba	92,7 Ca	136,4 Aa	117,8
4	124,8 Aa	60,2 Bb	62,0 Bd	82,3
Méd	lias 107,6	84,2	102,5	CV 10,1%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Comparando-se as quatro épocas de coleta, dentro de cada tratamento, observou-se que o tratamento controle apresentou um crescimento gradativo, mantendo-se igual nas duas primeiras semanas, aumentando na terceira e quarta semana.

O número de metaxilemas apresentou interação significativa entre as semanas de coleta e as doses de tiametoxam (Tabela 2.8).

Na primeira semana após aplicação do tiametoxam, a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> não diferiu do controle, enquanto a dose 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> reduziu significativamente o número de metaxilemas da raiz. Na segunda semana de aplicação, a dose de 400 g ha<sup>-1</sup> de tiametoxam aumentou o número de metaxilemas enquanto a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> aumentou significativamente ainda mais, em relação à dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup>, sendo observado o mesmo desempenho na terceira e quarta semana.

Entre as épocas de avaliação, observou-se que no tratamento controle o número de metaxilemas diminuiu significativamente da primeira para a segunda semana, permanecendo igual até a quarta semana. Com a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> observou-se aumento da primeira para a segunda semana de avaliação, permanecendo igual na terceira semana e aumentando significativamente na quarta semana. Com a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> observou-se que houve aumento significativo da primeira para a terceira semana, reduzindo na quarta semana.

O número de metaxilemas representa a capacidade da planta em absorver água e nutrientes, sendo favorável o aumento do número dos mesmos para que a planta aumente a eficiência de absorção.

Tabela 2.8 - Número de metaxilemas de raízes em plantas de cana-de-açúcar em função de doses de tiametoxam em pulverização foliar e época de amostragem

Semana	Controle	400 g ha <sup>-1</sup>	800 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	10,0 Aa	10,0 Ac	9,2 Bd	9,7
2	9,0 Cb	11,2 Bb	12,0 Ab	10,7
3	9,0 Cb	10,6 Bbc	15,2 Aa	11,6
4	9,2 Cb	12,9 Aa	11,2 Bc	11,1
Médias	9,3	11,2	11,9	CV 5,3%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Esses resultados corroboram a hipótese de Castro (2006) de que a aplicação de tiametoxam em plantas ativa a transcrição e repressão/expressão de determinados genes, promovendo a ação de enzimas metabólicas e proteínas de membrana que favorece a absorção de água e nutrientes, levando a aumentos na produtividade.

Esses dados permitem observar que na fase inicial do crescimento das raízes, a aplicação de tiametoxam apresentou maior desenvolvimento das células do córtex. As plantas jovens com maior espessura do parênquima cortical podem apresentar melhor fixação no solo beneficiandose com maior vigor. Observa-se também que o tiametoxam proporcionou maior crescimento do cilindro central nas primeiras semanas, o que pode favorecer a fixação da plantas, e ainda aumentou o número de metaxilemas que favorece a absorção de água e nutrientes.

A fase inicial do desenvolvimento da raiz de cana-de-açúcar (1ª semana) confirma os dados obtidos nas análises estatísticas, visualizando-se que para o tratamento com tiametoxam 800g p.c. ha<sup>-1</sup> há ampliação do tecido cortical e desaparecimento do aerênquima, aumento do diâmetro do cilindro vascular e aumento no número de vasos de metaxilema (Figura 2.1). Essas alterações anatômicas incrementam a eficiência do sistema radicular em sua fixação e absorção de nutrientes. Ravnikar et al. (1992) também observaram efeitos similares na aplicação de ácido jasmônico em batata, sendo que Bausher e Yelenosky (1986) notaram restrições no desenvolvimento radicular em plantas de citros tratadas com triazóis.

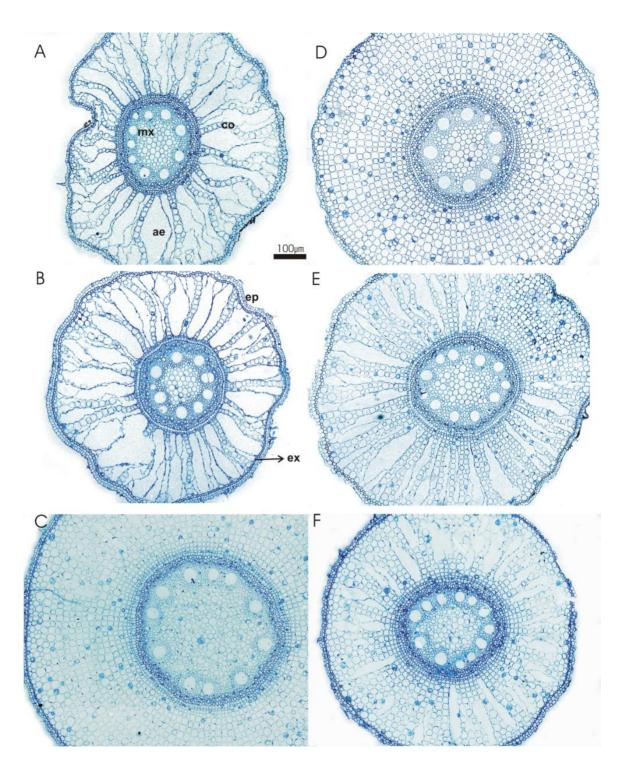


Figura 2.1 - Corte transversal da raiz de cana-de-açúcar (x5), tratadas com tiametoxam A, B, C = semana 1; D, E, F = semana 2; A – D = Controle; B – E =  $400g \text{ ha}^{-1}$ ; C – F =  $800g \text{ ha}^{-1}$ ; co – córtex; mx – metaxilema; ep – epiderme; ex – exoderme; ae – aerênquima

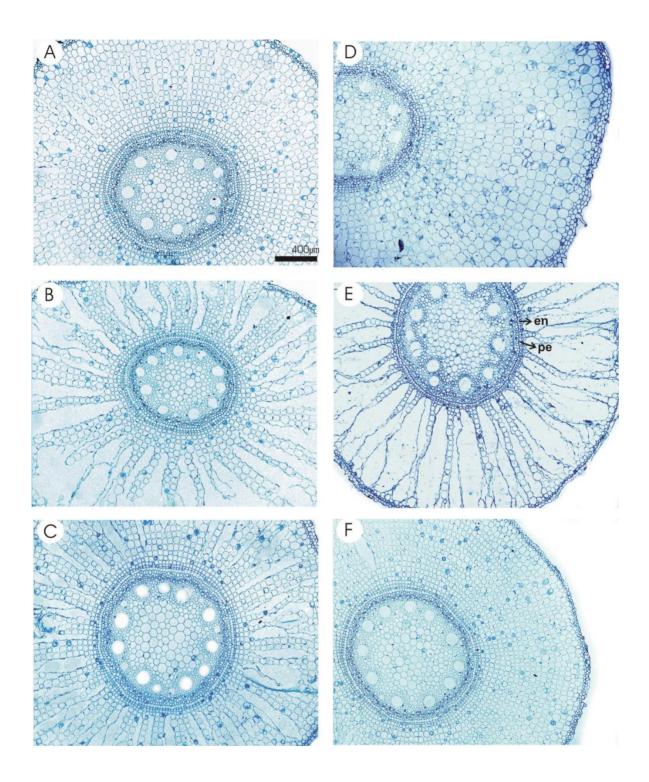


Figura 2.2 - Corte transversal da raiz de cana-de-açúcar (x5), tratadas com tiametoxam; A, B, C = 21 DAT; D, E, F = 28 DAT; A – D = Controle; B – E = 400 g ha $^{-1}$ ;  $\mathbf{e}\mathbf{n}$  – endoderme;  $\mathbf{p}\mathbf{e}$  – periciclo

Na análise da Figura 2.2, visualiza-se que na 3ª semana o tratamento com a dose de 400 g p.c. ha<sup>-1</sup> aumentou a espessura do córtex e reduziu o cilindro central em relação ao controle, enquanto a dose de 800 g p.c. ha<sup>-1</sup> aumentou o diâmetro do cilindro central. Na quarta semana, a espessura do córtex nos três tratamentos é igualada, o diâmetro do cilindro central nas duas doses de tiametoxam é reduzido, mas o número de metaxilemas nos dois tratamentos com tiametoxam permaneceu superior em relação ao controle.

Neste sentido, pode-se concluir que na fase inicial do desenvolvimento de raízes de canade-açúcar, a aplicação de tiametoxam, melhora a instalação da cultura no campo, ampliando a
espessura de córtex da raiz, incrementando o diâmetro do cilindro vascular e aumentando o
número de metaxilemas nos feixes vasculares, provavelmente melhorando a eficiência da raiz na
suas funções específicas, que são a de fixação, absorção e condução de água e nutrientes
minerais.

#### 2.4 Conclusões

A aplicação de tiametoxam em pulverização foliar, em cana-de-açúcar soca 'RB 83-5486', aumenta a área foliar e o comprimento das raízes, amplia a espessura do córtex da raiz, incrementa o diâmetro do cilindro vascular e aumenta o número de metaxilemas em plantas jovens.

#### Referências

ARTSCHWAGER, E. Anatomy of the vegetative organs of sugar cane. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 30, n. 3, p. 197-221, 1925.

BAUSHER, M.G.; YELENOSKY, G. Sensitivity of potted citrus plants to top sprays and soil applications of paclobutrazol. **HortScience**, Alexandria, v. 21, p. 141-143, 1986.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, Series B, v.26, p. 211-252. 1964.

CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliado por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo,** Viçosa, v. 18, p. 365-371, 1994.

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

DILLEWIJN, C. van. Botany of sugarcane. Walthham: Chronica Botanica, 1952. 371p.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; COELHO, A.L.; FERREIRA, J.M.G. Influência da Época de Aplicação de Inseticidas no Controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), na Qualidade e na Produtividade da Cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology,** Londrina v.33(1), 2004. p. 91-98.

FERNANDES, F.B.; CALAFIORI, M.H.; ANDRADE, R.C.; BUENO NETO, J.R.; TEIXEIRA, N.T. Efeito de cruiser em soja plantada em solo arenoso, com diferentes adubações e correção de solo. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 218-240.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Cana: mercados & perspectivas. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2009**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2009. p. 235-250.

GERRITTS, P.O. **The application of glycol metacrylate in histotechnology:** some fundamental principles. Gröningen: Department of Anatomy and Embriology, 1991. 239 p.

MACHADO, E.C.; PEREIRA, A.R.; FAHL, J.I.; ARRUDA, H.V.; CIONE, J. Índices biométricos de duas variedades de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 1323-1329, 1982.

MERCIER, H. Auxinas. In: KERBAUY, G.B. (Ed.). **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 217-249.

OLIVEIRA, R.A.; DAROS, E.; ZAMBON, H.W.; IDO, O.T.; BESPALHOK-FILHO, J.C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; SILVA, D.K.T. Área foliar em três cultivares de cana-de-açúcar e sua correlação com a produção de biomassa. **Pesquisa Agropecuária Tropical,** Brasília, v. 37, n. 2, p. 71-76, 2007.

RAVNIKAR, M.; VILHAR, B., GOGALA, N. Stimulatory effects of jasmonic acid on potato stem node and protoplast culture. **Journal Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v. 11, p. 29-33, 1992.

SCARPELLINI, J.R.; CASSANELLI JR, J.R.; FARIA, A.M. Efeito do Thiamethoxan em tratamento de sementes sobre o desenvolvimento da cultura da soja. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, supl. 3, p. 1-5, 2003. Apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 16., 2003, São Paulo.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 183-194, 2005.

SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT:** user's guide, version 6.11. 4<sup>th</sup> Cary, 1996. v. 2, 842 p.

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.

TERAUCHI, T.; MATSUOKA, M. Ideal characteristics for the early growth of sugarcane. **Japanese Journal of Crop Science**, Tokyo, v. 69, p. 286-292, 2000.

## 3 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM PLANTAS DE FELIOEIRO

#### Resumo

Este trabalho foi realizado objetivando estudar os efeitos do tiametoxam em plantas de feijoeiro (Phaseolus vulgaris), sobre parâmetros de desenvolvimento (área foliar, massa seca da parte aérea, altura das plantas, massa seca e comprimento das raízes) e bioquímicos (atividade das enzimas nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase nas folhas). O experimento foi conduzido em vasos sob condições naturais, com sementes de feijoeiro 'Pérola', inoculadas com Rhizobium tropici antes dos tratamentos. Foram avaliados quatro tratamentos: controle, tratamento de sementes, pulverização foliar com dose de 100 g ha<sup>-1</sup> e pulverização foliar com dose de 200 g ha<sup>-1</sup>. O tratamento de sementes foi realizado com o produto comercial (p.c.) Cruiser® 350FS, com a dose correspondendo à 350 ml do p.c. diluído em 300 mL de água para 100 kg de sementes. Os tratamentos com pulverizações foliares foram aplicados com o produto comercial Actara® 250 WG, com as doses proporcionais em g por hectare, utilizando-se volume de calda de 200 litros por hectare. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 10 repetições para os parâmetros de desenvolvimento, sendo cada parcela constituída pela média de duas plantas por vaso. As análises da atividade enzimática foram realizadas com 4 repetições, sendo cada parcela representada por uma planta de cada repetição. As pulverizações foliares com tiametoxam foram realizadas no estádio fenológico V<sub>3</sub>, 14 dias após a semeadura (DAS). A altura foi determinada a cada sete dias, pela mensuração das plantas, do solo até o meristema apical. As demais avaliações foram realizadas quando as plantas estavam na floração, no estádio fenológico R<sub>6</sub> (58 DAS). Concluiu-se que a aplicação de tiametoxam em feijoeiro 'Pérola', em tratamento de sementes, aumenta a área foliar, a massa seca da parte aérea e a atividade da nitrato redutase em folhas, enquanto em pulverização foliar, aumenta a atividade da nitrato redutase e a atividade da fenilalanina amônia-liase em folhas.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*; Efeito fisiológico; Nitrato redutase; Fenilalanina amônialiase

## **Abstract**

This work was carried out to evaluate the effect of thiamethoxan in common bean (*Phaseolus vulgaris*) on growth parameters (leaf area, shoot dry weight, plant height, dry weight and root length) and biochemicals (nitrate reductase and phenylalanine ammonia-lyase activity in the leaves). The experiment was led in pots under natural conditions, using bean seeds 'Pérola', inoculated with *Rhizobium tropici* before the treatments. Four treatments had been evaluated: control, seed treatment, foliar spray with dose of 100 g ha<sup>-1</sup> and foliar spray with a dose of 200 g ha<sup>-1</sup>. Seed treatment was carried out with the commercial product (c.p.) Cruiser ® 350FS, with the dose corresponding to 350 ml of c.p. for 100 kg of seeds diluted in 300 mL of water. The foliar spray treatments were applied with a commercial product Actara® WG 250, with proportional doses in g per hectare, using a volume of 200 liters of water per hectare. Was used a completely randomized design with 10 replications for the parameters of development, considering the average of two plants per pot. The analysis of enzyme activity were performed with 4 replicates, each represented by a plant of each repetition. The foliar spray with thiamethoxan were performed at V<sub>3</sub> growth stage, 14 days after sowing (DAS). The height was

determined every seven days, by measuring the plants, from the ground to the apical meristem. Other evaluations were conducted when the plants were in bloom, in the  $R_6$  growth stage (58 DAS). The results allowed to conclud that the application of thiamethoxan in seed treatment, in bean 'Pérola', increases the leaf area, dry mass of shoots and the activity of nitrate reductase in leaves, while foliar spray, increases the activity of nitrate reductase and increases the activity of phenylalanine ammonia-lyase in leaves.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*; Physiological effects; Nitrate reductase; Phenylalanine ammonialyase

## 3.1 Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos principais alimentos da população brasileira, entretanto o mercado se caracteriza por grande volatilidade de preços, a oferta é extremamente sujeita a variações, determinada principalmente pelas condições climáticas, havendo freqüentemente a necessidade de importação do produto (UNIFEIJÃO, 2009). A área de plantio no Brasil no ano-safra 2008/09 aumentou entre 10% e 15%, em função da cultura, no ano de 2008, oferecer aos produtores uma das melhores remunerações. A produção brasileira na safra 2007/08 foi de 3,5 milhões de toneladas em uma área de 3,9 milhões de hectares, evidenciando a baixa produtividade brasileira de 0,89 ton ha<sup>-1</sup> (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009).

A aplicação de alguns inseticidas e fungicidas exercem efeitos fisiológicos em plantas ainda pouco conhecidos, modificando a morfologia e a fisiologia de diversas culturas. Alguns produtores de feijão relataram que após aplicação do inseticida tiametoxam as plantas apresentavam maior vigor e desenvolvimento. Calafiori e Barbieri (2001), na cultura do feijão, concluíram que o tratamento de tiametoxam com NPK proporcionou maior número de plantas germinadas, maior número de nódulos viáveis e maior produtividade, comparados com os tratamentos com o adubo NPK e tiometoxam isolados.

O tiametoxam é um inseticida registrado no Brasil para a cultura do feijoeiro, através dos produtos comerciais Actara® 250 WG e Cruiser® 350 FS. O Actara® 250 WG para o feijoeiro é recomendado em pulverização foliar, para controle de mosca branca (*Bemisia tabaci*), cigarrinha verde (*Empoasca kraemeri*) e vaquinha verde-amarela (*Diabrotica speciosa*), nas doses de 100-200 g ha<sup>-1</sup>, 100-200 g ha<sup>-1</sup> e 150-200 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente, em volume de calda de 100-200 litros ha<sup>-1</sup>. Em alguns casos, como de alta infestação de mosca branca, é recomendada a aplicação sucessiva em intervalos de 7 dias. O Cruiser® 350 FS é recomendado em tratamento de sementes, para controle de cupim-de-montículo (*Procornitermes triacifer*) e cigarrinha-das-

pastagens (*Deois flavopicta*) na dose de 200-400 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, lagarta-elasmo (*Elasmopalpus lignosellus*) na dose de 300-400 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes e mosca branca (*Bemisia tabaci*) e vaquinha verde-amarela (*Diabrotica speciosa*), na dose de 200-300 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes.

Diante da grande importância desta cultura, associada a aplicações constantes com este inseticida, é necessário conhecer os efeitos fisiológicos do tiametoxam em parâmetros vegetativos e bioquímicos. O nitrogênio é o elemento que as plantas exigem em maiores quantidades, constituinte das clorofilas, proteínas, ácidos nucléicos, entre outros. As plantas absorvem a maior parte deste elemento na forma de amônio e nitrato, sendo geralmente o nitrato, em solos tropicais bem aerados, a principal forma de absorção, pois os micro-organismos convertem rapidamente o nitrogênio orgânico em nitrato (MARSCHNER, 1995). A enzima nitrato redutase (NR) (E.C. 1.6.6.1) é uma das principais do metabolismo primário, pois cataliza a primeira etapa do processo de assimilação do nitrogênio pelas plantas que é a redução do nitrato em nitrito no citoplasma das células da raiz ou da folha, para posteriormente ser convertido em amônio (OAKS, 1994). Esta enzima está universalmente presente nas plantas superiores. É formada por duas subunidades idênticas, onde cada uma contém três cofatores: FAD, Fe-heme e um complexo formado pelo molibdênio e uma molécula orgânica denominada pterina (CAMPBELL, 1999). O nitrato, a luz e os carboidratos regulam a NR. Mesmo sob condições similares de disponibilidade de nitrato, o balanço do metabolismo do nitrato entre raízes e parte aérea varia de espécie para espécie. Em plantas de feijão cerca de 30% do nitrato é assimilado nas partes aéreas, o restante nas raízes (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os vegetais podem produzir grandes quantidades de compostos aparentemente sem função direta no seu crescimento e desenvolvimento, chamados, por esta razão, de metabólitos secundários (TAIZ; ZEIGER, 2004). Estes metabólitos podem ser divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados. A fenilalanina amônia-liase (PAL) (E.C.4.1.1.5), localizada na rota do ácido chiquímico, é uma das enzimas mais importantes do metabolismo secundário, pois esta cataliza a retirada da amônia da L-fenilalanina, transformando-a em ácido trans-cinâmico, o qual é o precursor de uma grande variedade de compostos fenólicos que realizam funções vitais nas plantas (RITTER; SCHULZ, 2004), como ligninas, taninos, antocianinas, fitoalexinas (isoflavonóides), entre outros (TAIZ; ZEIGER, 2004). A PAL é encontrada dispersa no citoplasma das células em geral, podendo estar associada

a organelas membranosas (DIXON; PAIVA, 1995). Esta enzima é bastante estável e de fácil análise pelo espectrofotômetro. Sua atividade é aumentada por um grande número de fatores como lesões, infecções, deficiência de nutrientes, sendo que existem múltiplos genes que codificam esta enzima, tornando a regulação da sua atividade bastante complexa (CAMM; TOWERS, 1973).

Alguns trabalhos são encontrados apresentando aumento da atividade enzimática em plantas após aplicação de tiametoxam (ACEVEDO; ZAMORA; CLAVIJO, 2008; ACEVEDO; CLAVIJO, 2008; CATANEO, 2008), entretanto esse efeito foi verificado, na maior parte dos trabalhos, a curto prazo. No feijoeiro o momento da floração é crucial para determinação da produtividade, sendo utilizado para a diagnose do estado nutricional das plantas (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989). Sendo assim, é importante conhecer os efeitos do tiametoxam na fase de floração do feijoeiro, pois nesta fase será determinado o potencial produtivo das plantas.

Portanto, esse trabalho foi realizado objetivando estudar os efeitos do tiametoxam em plantas de feijoeiro, sobre parâmetros de desenvolvimento (área foliar, massa seca da parte aérea, altura das plantas, massa seca e comprimento das raízes) e bioquímicos (atividade das enzimas nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase nas folhas).

## 3.2 Desenvolvimento

#### 3.2.1 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em vasos sob condições naturais, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, no período de 15/02/07 e 14/04/07 (58 dias), com sementes de feijoeiro 'Pérola', inoculadas com *Rhizobium tropici* antes dos tratamentos. Foram semeadas seis sementes por vaso, que foi preenchido com 20 litros de substrato, composto por solo Latossolo vermelho distrófico argiloso corrigido e adubado, sendo que, após a germinação das sementes, deixou-se 2 plantas por vaso. Não foram aplicadas adubações em cobertura.

Foram avaliados quatro tratamentos: controle, tratamento de sementes (TS), pulverização foliar (PF) com dose de 100 g ha<sup>-1</sup> e pulverização foliar com dose de 200 g ha<sup>-1</sup>.

O tratamento de sementes foi realizado com o produto comercial (p.c.) Cruiser® 350FS, com a dose correspondendo à 350 ml do p.c. diluído em 300 mL de água para 100 kg de sementes. A aplicação foi feita com a mistura da calda com as sementes em sacos plásticos de 5

kg, sendo vigorosamente agitados durante alguns minutos, até total recobrimento das sementes. Os tratamentos com pulverizações foliares foram aplicados com o produto comercial Actara® 250 WG, com as doses proporcionais em g por hectare, utilizando volume de calda de 200 litros por hectare.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com 10 repetições para os parâmetros de desenvolvimento, sendo cada parcela constituída pela média de duas plantas por vaso. As análises da atividade enzimática foram realizadas com 4 repetições, sendo cada parcela representada por uma planta de cada repetição.

As pulverizações foliares com tiametoxam foram realizadas no estádio fenológico  $V_3$  (14 dias após a semeadura – DAS), segundo Gepts e Fernandez (1982).

A altura foi determinada a cada sete dias, pela mensuração das plantas, do solo até o meristema apical. Foram realizadas em quatro épocas, a partir do estádio  $V_3$  (14 DAS), quando foi realizada a aplicação dos tratamentos em pulverização foliar, até no estádio  $R_5$  (35 DAS), momento do surgimento dos botões florais e consequentemente paralisação do crescimento.

As demais avaliações foram realizadas quando as plantas estavam na floração, no estádio fenológico R<sub>6</sub> (58 DAS). As plantas foram cortadas na altura do solo, separadas das raízes. As folhas foram separadas do caule, determinando-se a área foliar utilizando o aparelho LI-COR LI-3100. Em seguida, a parte aérea (folhas e caules) foi colocada em estufa de ventilação forçada, sob temperatura de 65° C, até peso constante. O sistema radicular foi deixado nos vasos para posterior avaliação da massa e comprimento das raízes.

As amostragens para análise da atividade enzimática foram realizadas entre 7:00 e 8:00 h da manhã com a coleta da 1ª folha totalmente expandida, a partir do ápice para o caule, de cada planta. Para atividade da PAL foi realizada a pesagem em amostras de 0,5 g, e inseridas em sacos plásticos herméticos, armazenados em recipientes de isopor contendo gelo e transportados imediatamente ao laboratório, sendo mantidos em congelador (-20°C) para posterior análise. Para análise da NR as folhas foram coletadas, inseridas sacos plásticos em gelo, transportadas para o laboratório e analisadas imediatamente.

A atividade da nitrato redutase *in vivo* foi determinada de acordo com o método descrito por Mulder et al. (1959). Foram pipetados 4 mL de KNO<sub>3</sub> a 0,25 M em tampão fosfato pH 7,4 utilizando tubos de ensaio de 15 mL, providos de rolha de borracha. As folhas das plantas amostradas foram cortadas em pequenos fragmentos, evitando-se as nervuras principais e

secundárias e adicionadas nos tubos, na quantidade de 200 mg de folha por amostra. Os tubos de ensaio foram tampados e cada conjunto de 3 tubos foram envolvidos em papel de alumínio e colocados em banho maria a 35°C durante 2 horas, agitando de 5 em 5 minutos. Após isto, foi retirado 1 mL do sobrenadante e adicionado em 25 mL de  $H_2O$  destilada com 1 mL de ácido sulfanílico. Após repouso durante 10 minutos, foi adicionado 1 mL de alfa-naftilamina e misturado. Em seguida, foi adicionado 1 mL do tampão de acetato de sódio a 2,0 M, completado o volume para 50 mL com água destilada em balão volumétrico e misturado novamente. Entre 10 a 30 minutos após, foi realizada a leitura em colorímetro fotoelétrico com filtro verde, correspondente a leitura em 540 nm, acertando o zero com  $H_2O$  destilada. A concentração de nitrito foi calculada através da curva padrão de nitrito, utilizando concentrações de 0, 5, 10, 15, 20 e 25  $\mu$ g  $L^{-1}$  de N na forma de  $NO_2^-$ , junto com os reagentes anteriores. A partir das absorbâncias calculadas, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear (y = ax + b). Os valores foram expressos em  $\mu$ g  $N-NO_2^-$  por g de fitomassa verde por hora.

A obtenção dos extratos protéicos, para análise da atividade da fenilalanina amônia-liase e teor de proteínas totais, foi realizada utilizando amostras de 0,5 g de folhas, homogenizadas mecanicamente em 4 mL de tampão acetato de sódio a 100 mM (pH 5,0), com auxílio de almofariz e nitrogênio líquido, sendo em seguida centrifugadas a 20.000g durante 20 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi considerado como extrato protéico e armazenado em eppendorf à - 20°C.

O teor de proteínas totais foi determinado pelo teste de Bradford (1976). Foram adicionados 0,2 mL do reagente de Bradford a 0,8 mL do extrato protéico e agitados, sendo efetuada após 5 minutos, leitura da absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. A concentração de proteínas foi calculada utilizando curva padrão com concentrações de 0 a 20 μg L<sup>-1</sup> de albumina de soro bovino (ASB). Esses valores foram expressos em termos de equivalentes de μg de ASB em 1 mL de amostra (μg proteína mL<sup>-1</sup>).

A atividade da PAL foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido transcinâmico liberado pelo substrato fenilalanina (UMESHA, 2006), relacionado com o conteúdo de proteínas. Foram adicionados 100 μL do extrato protéico junto com 400 μL do tampão Tris HCl a 25 mM (pH 8,8) e 500 μL de L-fenilalanina (50 mM em tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8), sendo em seguida incubados a 40°C por 2 h. Imediatamente após a incubação, a reação foi paralizada com a adição de 200 μL de HCl a 0,5 M. A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm

utilizando lâmpada UV, sendo que cada amostra teve o valor subtraído do controle, que consistia em uma solução de 100 μL do extrato protéico com 900 μL de tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8. As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para ácido trans-cinâmico e a atividade da PAL foi expressa em μg de ácido trans-cinâmico por minuto por mg de proteína.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2003). Os dados foram submetidos a análise de variância e quando significativos foi utilizado o teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

## 3.3 Resultados e Discussão

Foi observado aumento significativo na área foliar (Tabela 3.1) com a utilização de tiametoxam em tratamento de sementes na dose de 350 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, não havendo diferença significativa com as aplicações em pulverização foliar, nas doses de 100 g e 200 g p.c. ha<sup>-1</sup>.

Tabela 3.1 - Área foliar e massa seca da parte aérea de feijoeiro, no estádio R5, em função do tratamento de sementes com tiametoxam e doses em pulverização foliar

_	Controle	TS	PF 100 g ha <sup>-1</sup>	PF 200 g ha <sup>-1</sup>	CV%
Área foliar (cm²)	1742 B	2762 A	1813 B	1852 B	22,9
Massa seca de folhas (g)	14,4 B	19,1 A	13,7 B	15,1 AB	23,3

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A aplicação do tiametoxam via sementes apresenta vantagem cronológica entre os tratamentos por ser realizada anteriormente à pulverização foliar, podendo ativar genes relacionados com o desenvolvimento da planta antes mesmo da emergência. Além disso, as doses de 100 g e 200 g p.c. ha<sup>-1</sup> em pulverização foliar, podem não ter sido eficientes para agir na área foliar e massa seca da parte aérea, havendo necessidade da pesquisa de outras doses.

A maioria dos trabalhos com efeitos fisiológicos com tiametoxam se refere às aplicações em tratamento de sementes. Tavares et al. (2007) com aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes em soja, verificaram aumento na área foliar, aos 30 dias após emergência, obtendo valores máximos com a dose de 101 mL. O feijoeiro e a soja apesar de serem da mesma família, Leguminoseae, apresentam reações distintas, sendo que, a dose de 350 mL utilizada no feijoeiro para aumentar esse parâmetro, foi bem superior à considerada ideal por Tavares et al. (2007) em soja.

O aumento da área foliar pode favorecer a cultura do feijoeiro, pois o fechamento rápido da lavoura aumenta a competitividade com plantas invasoras, além disso, a avaliação da área foliar fornece uma indicação da superfície fotossintética (LOPES et al., 2004) e permite calcular o índice de área foliar (IAF), definido como área foliar total por área de superfície do terreno (WATSON, 1947), e também a duração da área foliar (DAF), que consiste na integral do IAF em relação ao tempo (SANT'ANA; SILVEIRA, 2008). O IAF está diretamente relacionado à evapotranspiração das plantas (OLIVEIRA; SILVA, 1990) e a DAF apresenta alta correlação positiva com a produtividade do feijoeiro (SANT'ANA; SILVEIRA, 2008). Entretanto, valores muito altos de IAF podem não significar aumento de produtividade devido ao autosombreamento provocado pelo excesso de folhas (NÓBREGA et al., 2001), além de que, a correlação entre área foliar e rendimento pode ser positiva ou negativa, em função da partição de fotoassimilados influenciada pelos fatores de produção no florescimento e produção de vagens. Contudo, é possível inferir que plantas de feijoeiro com tratamento de sementes com tiametoxam na dose de 350 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes podem utilizar espaçamentos de plantio maiores do que plantas sob ausência deste tratamento.

Semelhantemente, a massa seca da parte aérea apresentou aumento significativo com a aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes, não havendo diferença com a aplicação em pulverização foliar nas doses de 100 g e 200 g p.c. ha<sup>-1</sup>. Entretanto, verifica-se que a dose de 200 g p.c. ha<sup>-1</sup> em pulverização foliar, não diferiu do tratamento de sementes, mostrando que existe tendência em apresentar resultados significativos.

Denardin (2008) observou em plantas de soja, aumento da massa seca da parte aérea. Tavares et al. (2007) verificaram aumento na massa seca da parte aérea de soja, aos 30 dias após emergência, com aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes, obtendo valores máximos destes parâmetros com a dose de 90 mL.

A avaliação das raízes (massa seca e comprimento radicular) não pode ser realizada pois o sistema radicular permaneceu por mais de 15 dias nos vasos e no momento da separação do solo, algumas raízes encontravam-se apodrecidas, perdendo-se parte dos tratamentos. Portanto, este parâmetro não foi exibido nos resultados.

Em relação à altura das plantas (Tabela 3.2), não foi verificada diferença significativa com tiametoxam nas três formas e doses aplicadas, em nenhuma das épocas avaliada. Como não foi observado aumento na altura das plantas, mas observou-se aumento da massa seca da parte aérea,

possivelmente as plantas aumentaram a massa da parte aérea em função do aumento da área foliar.

Tabela 3.2 - Altura (em cm) de plantas de feijoeiro, em função de tratamento de sementes (TS) com tiametoxam, doses em pulverização foliar (PF) e época de amostragem (semana)

Semana	Controle	TS	PF 100 g ha <sup>-1</sup>	PF 200 g ha <sup>-1</sup>	Médias
1	9,35	9,20	9,75	9,68	9,49 c
2	14,70	14,40	15,60	15,38	15,02 c
3	41,25	39,45	46,63	46,05	43,34 b
4	90,40	92,75	96,05	97,30	94,13 a
Médias	38,93 A	38,95 A	42,01 A	42,10 A	CV% 33,7

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Semelhante a isso, Tavares et al. (2007) verificaram aumento na altura de plantas de soja 'Monsoy', com tratamento de sementes com tiametoxam, aos 41 dias de emergência, obtendo a altura máxima com 96 mL de p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, mas não verificaram diferença neste parâmetro aos 21 e 31 dias da emergência. Petrere et al. (2008) também verificaram aumento significativo na altura de plantas de soja 'Fundacep 39', aos 20 dias, com aplicação de tiametoxam sem adubos e com calcário, e aos 30 dias, com tiametoxam sem calcário e com adubos, embora aos 40 dias, a aplicação de tiametoxam apresentasse redução significativa no tratamento sem adubos e sem calcário e a maior parte dos tratamentos não apresentasse diferença. Silva et al. (2008) também observaram aumento significativo na altura das plantas de soja 'RR6001' e 'RR8000', com tratamentos com tiametoxam aplicado em sementes, na dose de 100 ml p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, na primeira época de plantio testada, não ocorrendo nas outras duas épocas.

Embora contrariamente, Campos e Silva (2008) estudando no campo, o uso de tiametoxam em soja 'Fundacep Missões', não verificaram aumento significativo na altura das plantas nos estádios  $V_5$ - $V_6$ , em tratamento de sementes, com as doses de 100 ml e 200 ml do p.c.  $100 \text{ kg}^{-1}$  de sementes. E também Silveira et al. (2008) não notaram diferença na altura de plantas de soja 'Spring' e 'BRS154' no estádio  $R_2$ , com tiametoxam em tratamento de sementes, na dose de 100 mL de p.c.  $100 \text{ kg}^{-1}$  de sementes.

A altura das plantas (Tabela 3.2), com início da mensuração na segunda semana de semeadura (Semana 1 = 14 DAS), não apresentou aumento significativo entre as duas primeiras semanas de avaliação, mas foi observado aumento significativo na altura entre a segunda e quarta

semana de avaliação. As curvas de crescimento do feijoeiro apresentam característica sigmóide, sendo o crescimento inicialmente lento até os 37 DAS (NÓBREGA et al., 2001), mas em seguida começa a crescer rapidamente (URCHEI; RODRIGUES; STONE, 2000; NÓBREGA et al., 2001).

Foi observado aumento da atividade da nitrato redutase com aplicação de tiametoxam nas três formas e doses aplicadas (Tabela 3.3).

Não foi encontrado na literatura justificativa para o aumento da atividade da nitrato redutase em plantas sob tratamento com tiametoxam. O que se aventa é que o tiametoxam altera fatores de transcrição e modifica a expressão gênica, aumentando a atividade enzimática (CASTRO, 2006).

Existem alguns trabalhos mostrando modificações na atividade enzimática com tiametoxam, embora tais alterações foram em prazo curto, no máximo 120 h após a aplicação do tiametoxam. Cataneo (2008) estudou o efeito de tiametoxam em tratamento de sementes de soja, 'BRS-133' e 'Pintado', nas doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, na ausência e sob condições de estresses, sobre a atividade enzimática de eixos embrionários, por períodos de 12 a 36 h após a embebição das sementes e verificou aumento da atividade da amilase, protease, urease e peroxidase, embora em alguns momentos o uso de tiametoxam tenha reduzido a atividade destas enzimas. Acevedo, Zamora e Clavijo (2008) avaliaram a ação do tiametoxam sobre atividade enzimática no eixo embrionário de sementes de algodão, arroz, feijão, milho e soja tratadas com tiametoxam, por períodos de 24 a 120 h após a embebição das sementes e verificaram incrementos na atividades da alfa-amilase, glucose-6-fosfato deshidrogenase e peroxidase em alguns desses períodos.

O aumento da atividade da nitrato redutase pode ser responsável pelo incremento da área foliar e da massa seca da parte aérea, no tratamento de sementes com tiametoxam. Embora não tenha sido observado aumento significativo da área foliar e da massa seca da parte aérea com as doses de 100 g e 200 g p.c. ha<sup>-1</sup> em pulverização foliar, observa-se uma tendência desses valores serem superiores ao controle.

Alguns autores acreditam que a seleção para maior atividade da nitrato redutase é um parâmetro importante para obtenção de genótipos eficientes no uso do nitrogênio (SHERRARD et al., 1984). Camacho et al. (1995) trabalhando com níveis de nitrogênio em adubação de feijoeiro verificaram que a atividade da nitrato redutase aumenta rapidamente nas menores

concentrações de nitrogênio, tendendo a ficar constante a partir de concentrações mais altas deste nutriente, em função da enzima ficar saturada com seu substrato. Como as plantas deste experimento não receberam qualquer adubação de plantio ou cobertura com nitrogênio, possivelmente se encontravam com baixa disponibilidade deste elemento e o aumento da atividade da nitrato redutase proporcionou maior aproveitamento do nitrogênio, levando ao aumento na massa seca das plantas.

Tabela 3.3 - Atividade da nitrato redutase (µg NO<sub>3</sub> MF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) e atividade da fenilalanina amonialiase (PAL) (µg ácido trans-cinâmico min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> proteína) em folhas de feijoeiro em função de tratamento de sementes com tiametoxam e diferentes doses em pulverização foliar

	Controle	TS	PF 100 g ha <sup>-1</sup>	PF 200 g ha <sup>-1</sup>	CV%
Nitrato redutase	7,5758 B	9,5845 A	8,9397 A	8,6225 A	6,4
PAL	1,1665 B	1,7318 AB	2,0354 A	1,1845 B	26,0

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados da atividade da PAL, mostraram que o tratamento com tiametoxam em pulverização foliar na dose de 100 g p.c. ha<sup>-1</sup> apresentou aumento significativo na atividade desta enzima (Tabela 3.3), enquanto a pulverização foliar com 200 g p.c. ha<sup>-1</sup> e o tratamento de sementes não apresentaram diferença do controle, sendo que os valores mostraram-se bastante baixos.

Esses resultados são contrários aos dados de Denardin (2008), que verificou redução na atividade da PAL na soja 'BRS-Macota', com aplicação de tiametoxam, na dose de 200 mL p.c.100 kg<sup>-1</sup> sementes, na ausência do inoculante, mas não diferiu do controle quando as plantas estavam inoculadas com *Bradyrhizobium elkanni* e *B. japonicum* e com outra dose de tiametoxam.

O aumento da atividade da PAL pode indicar aumento na síntese de compostos fenólicos, como ligninas, taninos, antocianinas, fitoalexinas, entre outros, entretanto nem sempre é possível correlacionar o aumento da atividade da PAL com algum composto específico (CAMM; TOWERS, 1973), em função da grande variedade de compostos sintetizados. Esta enzima também está relacionada com a defesa da planta, que pode mostrar que a pulverização foliar de tiametoxam com 100 g p.c. ha<sup>-1</sup> induziu algum tipo de estresse na planta.

Não se conhece qualquer efeito do tiametoxam como elicitor de defesa vegetal, entretanto o aumento da atividade de enzimas do metabolismo secundário sugere que haja indução de algum metabólito de defesa.

#### 3.4 Conclusões

A aplicação de tiametoxam em feijoeiro 'Pérola', em tratamento de sementes, na dose de  $350 \text{ mL p.c. } 100 \text{ kg}^{-1}$  de sementes, aumenta a área foliar, a massa seca da parte aérea e a atividade da nitrato redutase em folhas no estádio fenológico  $R_5$ , enquanto em pulverização foliar, nas doses de 100 g e 200 g p.c. ha<sup>-1</sup>, aumenta a atividade da nitrato redutase e a dose de 100 g p.c. ha<sup>-1</sup> aumenta a atividade da fenilalanina amônia-liase em folhas, no estádio fenológico  $R_5$ .

## Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronômica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 41-91.

ACEVEDO, J.C.; ZAMORA, H; CLAVIJO, J. Investigación bioquímica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 93-122.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantifies of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, 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.

CAMACHO R.; CALVACHE A.M.; FALCÃO N.; FERNANDEZ F.; DEMATTÊ J.A.M.; MALAVOLTA E. Avaliação do estado nutricional do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em solução nutritiva, com variação no fornecimento de N, P e K **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 52, n. 3, p. 422-425, 1995

CAMM, E.L.; TOWERS, G.H.N. Review article phenylalanine ammonia lyase. **Phytochemistry.** Oxford, v. 12, p. 961-973, 1973.

CAMPBELL, W.H. Nitrate reductase structure, function and regulation: Bridging the gap between biochemistry and physiology. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** Palo Alto, v. 50, p. 277-303, 1999

CAMPOS, B.C. de; SILVA, M.T.B. Ação do inseticida tiametoxam na fixação biológica de nitrogênio da cultura da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 250-264.

CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical.** Piracicaba: ESALQ, Divisão de Biblioteca e Documentação, 2006. 46 p. (Série Produtor Rural, 32).

CATANEO, A.C. Ação do tiametoxam (thiamethoxam) sobre a germinação de sementes de soja (*Glycine max*, L.): enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situações de estresses (deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 126-194.

CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliado por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 18, p. 365-371, 1994.

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

DIXON, R.A.; PAIVA, N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, Baltimore, v. 7, p. 1085-1097, 1995

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Feijão: mercados & perspectivas. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2009**: anuário de agricultura brasileira, São Paulo, 2009. p. 312-316.

LOPES, C.M.; ANDRADE, I.; PEDROSO, V.; MARTINS, S. Modelos empíricos para estimativa da área foliar da videira na casta Jaen. **Ciência e Técnica Vitivinícola**. Dois Portos, v. 19, n. 2, p. 61-75. 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFOS, 1989. 201 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants.** 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

- MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VEEN W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.
- NÓBREGA, J.Q.; RAO, T.V.R., BELTRÃO, N.E.M., FIDELES FILHO, J. Análise de crescimento do feijoeiro submetido a quatro níveis de umidade do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, n. 3, p. 437-443, 2001
- OAKS, A. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 72, p. 739-750, 1994
- OLIVEIRA, F.A.; SILVA, J.J.S. Evapotranspiração, índice de área foliar e desenvolvimento radicular do feijão irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 317-322, 1990.
- PETRETE, V.G.; PETRETE, C.; FIORIN, J.E.; SILVA, M.T.B. Efeito de tiametoxam sobre a soja em solo argiloso na presença ou ausência de adubo e calcário. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 242-248.
- RITTER, H.; SCHULZ, G.E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Cell**, Baltimore, v. 16, p. 3426-3436, 2004.
- SANT'ANA, E.V.P.; SILVEIRA, P.M. da. Crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* 1.) influenciado por doses de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 2, p. 134-140, 2008
- SHERRARD, J.H.; LAMBERT, R.J.; NESSNER, N.J.; BELOW, F.E.; HAGEMAN, R.H. **Nitrogen in crop production.** Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1984. p. 363-378.
- SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.
- SIVEIRA, E.R.; LORENZATTO, H.; JAMHOUR, J. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 278-282
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- 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

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

UNIFEIJÃO. O comércio de feijão no Brasil. Disponível em:

<a href="http://www.unifeijao.com.br/telas/comerci\_brasil.php">http://www.unifeijao.com.br/telas/comerci\_brasil.php</a>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2009.

URCHEI, M.A.; RODRIGUES, J.D.; STONE, L.F. Análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 497-506, mar. 2000.

WATSON, D.J. Comparative physiological studies on growth of field crops. I. Variation in net assimilation rate and leaf area between species and varieties, and within and between years. **Annals of Botany**, London, v. 11, p. 41-76, 1947.

# 4 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO, PRODUÇÃO, TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM PLANTAS DE SOJA

#### Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tiametoxam na cultura da soja (Glycine max) utilizando como parâmetros área foliar, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, comprimento das raízes, massa seca de vagens, número de vagens, teores foliares de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio e enxofre, atividade das enzimas nitrato redutase e fenilalanina amônialiase nas folhas. O estudo foi realizado em vasos, sob ambiente natural, utilizando-se sementes de soja 'BRS-Macota', inoculadas com Rhyzobium Semia 5079 e 587, antes dos tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com tratamentos em arranjo fatorial 3 x 2, constituídos por controle e duas doses de tiametoxam em tratamento de sementes, com e sem pulverização foliar, com 10 repetições, prevendo-se a análise destrutiva de 5 repetições nas análises e outras 5 repetições para avaliação de produção. Cada unidade experimental foi constituída pela média de duas plantas por vaso. No tratamento de sementes foram utilizadas as doses de 100 mL e 200 mL de p.c. (Cruiser® 350 FS) 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. Na pulverização foliar, utilizou-se dose de 100 g de p.c. (Actara® 250 WG) ha<sup>-1</sup>, em calda de 200 litros ha<sup>-1</sup>, que foi aplicada no estádio V<sub>6</sub> (6 nós). As plantas foram coletadas para análises no estádio fenológico R<sub>2</sub> (florescimento), 70 dias após semeadura (DAS). A colheita das vagens foi realizada aos 172 DAS. Conclui-se que a aplicação de tiametoxam em soja 'BRS-Macota' em tratamento de sementes, aumenta a área foliar, a massa seca e o comprimento das raízes e proporciona plantas com teores foliares de cálcio e magnésio mais altos. A pulverização foliar com tiametoxam reduz os teores foliares de fósforo e cálcio, mas aumenta os teores de potássio.

Palavras-chave: Glycine max; Bioativadores; Área foliar; Macronutrientes

## **Abstract**

The objective of this work was to evaluate the effects of thiamethoxan in soybean (*Glycine max*) using parameters such as leaf area, shoot dry weight, dry weight of roots, root length, dry weight of pods, number of pods, nitrogen, phosphorus, calcium, magnesium and sulfur leaf content, activities of nitrate reductase and phenylalanine ammonia-lyase in the leaves. The study was conducted in pots under natural environment, using soybeans 'BRS-Macota', inoculated with *Rhyzobium* Semia 5079 and 587 before the treatment. The experimental design was completely randomized, in 3 x 2 factorial scheme, consisting of control and two levels of thiamethoxan in seed treatment, with and without foliar spray, with 10 replications, providing the destruction of 5 replications for analysis and other 5 replications for yield evaluation. Each experimental unit was constituted by the average of two plants per pot. In the seeds treatment was used doses of 100 mL and 200 mL of commercial product (p.c.) Cruiser ® 350 FS 100 kg<sup>-1</sup> seed. In the foliar spray was used dose of 100 g p.c. Actara® 250 WG ha<sup>-1</sup> diluted in 200 liters of water ha<sup>-1</sup>, which was applied at V<sub>6</sub> growth stage. The plants were collected for analysis at the R<sub>2</sub> growth stage (flowering), 70 days after sowing (DAS). The harvest of pods was carried through

at 172 DAS. The results allowed to conclud that application of thiamethoxan in soybean 'BRS-Macota' by seed treatment, increases leaf area, dry weight of roots, root length and provides plants with higher foliar calcium and magnesium. The foliar spray with thiamethoxan reduces the amount of phosphorus and calcium in the leaves, but increased levels of potassium.

Keywords: Glycine max; Bioactivator; Leaf area; Macronutrients

## 4.1 Introdução

O Brasil é um dos principais produtores de soja (*Glycine max* L. Merrill) do mundo. O consumo desta oleaginosa cresce em ritmo superior ao da produção, resultando em redução de estoques e valorização do preço desta *commodity*. A produção de soja no Brasil na safra 2008/09 foi prevista próxima de 61 milhões de toneladas, ocupando área de 22 milhões de hectares (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009).

O tiametoxam é um inseticida registrado no Brasil para a cultura da soja, através do produto comercial (p.c.) Cruiser® 350 FS, recomendado em tratamento de sementes, para controle de cupim-de-montículo (*Procomitermes triacifer*), lagarta-elasmo (*Elasmopalpus lignosellus*), mosca branca (*Bemisia tabaci*), tamanduá-da-soja (*Sternechus subsignatus*) e torrãozinho (*Aracanthus mourei*), nas doses de 100-200 mL, 200 mL, 200-300 mL, 200 mL, 50-70 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, respectivamente.

Na literatura encontra-se diversos trabalhos mostrando efeitos fisiológicos do tiametoxam na cultura da soja (TAVARES et al., 2007; GAZZONI, 2008; CLAVIJO, 2008). A avaliação dos efeitos de tiametoxam em tratamento de sementes e em pulverização foliar, na época da floração, se justifica, porque a floração é um dos momentos mais importantes em culturas anuais, sendo utilizado para a diagnose do estado nutricional das plantas (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989).

Um dos métodos mais utilizados na avaliação do estado nutricional das culturas é a análise química do tecido vegetal, sendo utilizada para diagnosticar deficiências, toxidez ou indicar se determinado elemento foi absorvido (SILVA, 1999). A diagnose foliar é um método de avaliação do estado nutricional das plantas em que se analisam as folhas. As folhas em geral refletem melhor o estado nutricional do que outras partes da planta, pois respondem mais às variações no suprimento de nutrientes (MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA et al., 1997). O principal conceito sobre a folha a ser amostrada é o de que essa não seja nem muito nova nem

muito velha, pois o teor de nutrientes está diretamente ligado ao estádio de desenvolvimento em que essa folha se encontra (SOBRAL, 1998).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do tiametoxam na cultura da soja utilizando como parâmetros área foliar, massa seca da parte aérea, massa seca das raízes, comprimento das raízes, massa seca de vagens, número de vagens, teores foliares de nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio e enxofre, atividade das enzimas nitrato redutase e fenilalanina amônialiase nas folhas.

## 4.2 Desenvolvimento

#### 4.2.1 Material e Métodos

O estudo foi realizado em ambiente natural no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, entre 07/12/07 e 27/05/08 (172 dias), utilizando sementes de soja 'BRS-Macota', inoculadas com *Rhyzobium* Semia 5079 e 587, antes dos tratamentos. Foram utilizados vasos contendo 15 litros de substrato, composto por solo Latossolo vermelho distrófico argiloso, corrigido para elevar a saturação de bases a 70%, e adicionado 200 mg de fósforo e 150 mg de potássio kg<sup>-1</sup> de solo, 30 dias antes do plantio. O vasos receberam irrigação periodicamente, de modo manter o substrato à 80% da capacidade de campo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com tratamentos em arranjo fatorial 3 x 2, constituídos por controle e duas doses de tiametoxam em tratamento de sementes, com e sem pulverização foliar, com 10 repetições, prevendo-se a análise destrutiva de 5 repetições para os parâmetros de desenvolvimento e outras 5 repetições para avaliação de produção. Cada unidade experimental foi constituída pela média de duas plantas por vaso.

No estádio fenológico R<sub>2</sub> (florescimento), 70 dias após semeadura (DAS), as plantas foram coletadas e determinada a área foliar, massa seca da parte aérea, massa seca de raízes, comprimento de raízes, teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e S e atividade das enzimas nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase em folhas. A colheita das vagens foi realizada aos 172 DAS. As vagens foram colhidas, secas em estufa e determinadas a massa seca das vagens e seu número.

No tratamento de sementes foram utilizadas as doses de 100 mL e 200 mL de p.c. (Cruiser® 350 FS) 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. A pulverização foliar com dose de 100 g de p.c. (Actara® 250 WG) ha<sup>-1</sup>, utilizando calda de 200 litros ha<sup>-1</sup>, foi aplicada no estádio V<sub>6</sub> (6 nós), segundo a escala fenológica proposta por Fehr e Caviness (1977).

Na primeira avaliação, as plantas foram coletadas, separadas em raízes, folhas e caule. A área foliar foi determinada com o aparelho LI-COR LI-3100. A massa seca da parte aérea foi composta pelas folhas com os caules da cada planta. Para obtenção da massa seca, cada material foi acondicionado individualmente em sacos de papel devidamente identificados e colocados em estufa de circulação forçada de ar à 65°C, até peso constante, quando o material foi pesado em balança.

As raízes das plantas foram separadas do solo com auxílio de água corrente e peneira de malha 2 mm. O comprimento radicular das raízes foi determinado por meio do "software" SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo), desenvolvido pela EMBRAPA/CNPDIA – São Carlos, SP (CRESTANA et al., 1994), após a aquisição das imagens digitais, através de *scanner*.

As análises de nutrientes e atividade enzimática foram realizadas utilizando-se 4 repetições (2 folhas por planta/tratamento). As folhas amostradas para análise química de nutrientes foram retiradas na terceira e quarta posição, do ápice para a base, totalmente expandidas (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989). Em seguida foram transportadas para o laboratório em sacos de papel, onde esse material foi seco em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, durante 48 horas, pesado e moído em moinho tipo Wiley, usando peneira de 20 mesh. A massa destas folhas foi acrescentada na massa da parte aérea de cada planta.

As análises de nutrientes nas folhas foram realizadas pelo Laboratório de Solos da ESALQ/USP.

As amostragens para análise da atividade enzimática foram realizadas entre 7:00 e 8:00 h da manhã com a coleta da 1ª folha totalmente expandida, a partir do ápice para o colo, de cada planta, com 4 repetições (4 plantas de diferentes vasos por tratamento). Para atividade da PAL foi realizada a pesagem em amostras de 0,5 g, e inseridas em sacos plásticos herméticos, armazenadas em recipientes de isopor contendo gelo e transportadas imediatamente ao laboratório, sendo armazenadas em congelador (-20°C) para posterior análise. Para análise da NR as folhas foram coletadas, inseridas sacos plásticos em gelo, transportadas para o laboratório e analisadas imediatamente.

A atividade da nitrato redutase *in vivo* foi determinada de acordo com o método descrito por Mulder et al. (1959). Foram pipetados 4 mL de KNO<sub>3</sub> a 0,25 M em tampão fosfato pH 7,4 utilizando-se tubos de ensaio de 15 mL, providos de rolha de borracha. As folhas das plantas

amostradas foram cortadas em pequenos fragmentos, evitando-se as nervuras principais e secundárias e adicionadas nos tubos, na quantidade de 200 mg de folha por amostra. Os tubos de ensaio foram tampados e cada conjunto de 3 tubos foi envolvido em papel de alumínio e colocado em banho maria a 35°C durante 2 horas, agitando-se de 5 em 5 minutos. Após isto, foi retirado 1 mL do sobrenadante e adicionado em 25 mL de  $H_2O$  destilada com 1 mL de ácido sulfanílico. Após repouso durante 10 minutos, foi adicionado 1 mL de alfanaftilamina e misturado. Em seguida, foi adicionado 1 mL do tampão de acetato de sódio a 2,0 M, completado o volume para 50 mL com água destilada em balão volumétrico e misturado novamente. Entre 10 a 30 minutos após, foi realizada a leitura em colorímetro fotoelétrico com filtro verde, correspondente a leitura em 540 nm, acertando-se o zero com  $H_2O$  destilada. A concentração de nitrito foi calculada através da curva padrão de nitrito, utilizando-se concentrações de 0, 5, 10, 15, 20 e 25  $\mu$ g  $L^{-1}$  de N na forma de  $NO_2^-$ , junto com os reagentes anteriores. A partir das absorbâncias calculadas, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear (y = ax + b). Os valores foram expressos em  $\mu$ g  $N-NO_2^-$  por g de fitomassa verde por hora.

A obtenção dos extratos protéicos, para análise da atividade da fenilalanina amônia-liase e do teor de proteínas totais, foi realizada utilizando-se amostras de 0,5 g de folhas, homogenizadas mecanicamente em 4 mL de tampão acetato de sódio a 100 mM (pH 5,0), com auxílio de almofariz e nitrogênio líquido, sendo em seguida centrifugadas a 20.000g durante 20 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi considerado como extrato protéico e armazenado em eppendorf à - 20°C.

O teor de proteínas totais foi determinado pelo teste de Bradford (1976). Foram adicionados 0,2 mL do reagente de Bradford a 0,8 mL do extrato protéico e agitado, sendo efetuada após 5 minutos, leitura da absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. A concentração de proteínas foi calculada utilizando-se curva padrão com concentrações de 0 a 20 μg L<sup>-1</sup> de albumina de soro bovino (ASB). Esses valores foram expressos em termos de equivalentes de μg de ASB em 1 mL de amostra (μg proteína mL<sup>-1</sup>).

A atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado pelo substrato fenilalanina (UMESHA, 2006), relacionado com o conteúdo de proteínas. Foram adicionados 100 μL do extrato protéico junto com 400 μL do tampão Tris HCl a 25 mM (pH 8,8) e 500 μL de L-fenilalanina (50 mM em tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8), sendo em seguida incubados a 40°C por 2 h. Imediatamente

após a incubação, a reação foi paralizada com a adição de 200 μL de HCl a 0,5 M. A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm utilizando-se lâmpada UV, sendo que cada amostra teve o valor subtraído do controle, que consistia em uma solução de 100 μL do extrato protéico com 900 μL de tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8. As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para ácido trans-cinâmico e a atividade da PAL foi expressa em μg de ácido trans-cinâmico por minuto por mg de proteína.

Os dados foram submetidos a análise de variância e quando significativos, foi utilizado o teste de comparação de médias de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003).

## 4.3 Resultados e Discussão

## 4.3.1 Parâmetros de desenvolvimento

Foi observado aumento da área foliar de plantas de soja (Tabela 4.1) com uso de tiametoxam em tratamento de sementes, nas duas doses utilizadas, 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. Não foi observada diferença significativa com a aplicação de tiametoxam em pulverização foliar. Também não foi verificada interação significativa entre as doses em tratamento de sementes e a pulverização foliar com tiametoxam. O tiametoxam não é registrado para a cultura da soja no Brasil, mas a hipótese deste trabalho é de que a aplicação foliar poderia potencializar os efeitos fisiológicos em aumentar a área foliar, ou mesmo, causar fitotoxidez reduzindo a área foliar, sendo que, ambas as situações não foram observadas.

Tabela 4.1 - Área foliar (cm²) de plantas de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS	TS 100	TS 200	Médias
Sem PF	1887	2558	2363	2269 a
Com PF	1797	2390	2340	2176 a
Médias	1842 I	B 2474 A	2352 A	CV 14,0%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Tavares et al. (2007) avaliaram aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes, em soja 'Monsoy', nas doses de 0, 50, 100, 200 e 300 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, e observaram aumento significativo na área foliar, com efeito quadrático, sendo que, a dose de 101 mL

proporcionou maior aumento deste parâmetro. No presente experimento, não foi observado diferença significativa entre as doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes.

Não foi observada diferença significativa na massa seca da parte aérea (Tabela 4.2) com a aplicação de tiametoxam, tanto em tratamento de sementes, quanto em pulverização foliar.

Tabela 4.2 - Massa seca (g) da parte aérea de plantas de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS	TS 100	TS 200	Médias	
Sem PF	15,1	19,1	15,6	16,6	a
Com PF	15,0	22,6	20,4	19,4	a
Médias	15,1 A	20,9 A	18,0 A	CV 27,0%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Esses resultados divergem ao observados por Denardin (2008), que verificou em plantas de soja do mesmo cultivar do presente experimento, aumento da massa seca da parte aérea com doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes.

Mas no presente experimento, observou-se tendência no tratamento de sementes com 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes em aumentar esse parâmetro.

Como a área foliar aumentou, sem que a massa seca da parte aérea acompanhasse, demonstra que o tratamento de semente com tiametoxam produz folhas maiores e mais finas.

A massa seca de raízes (Tabela 4.3) e comprimento das raízes (Tabela 4.4) apresentaram interação significativa entre as doses de tiametoxam em tratamento de sementes e a pulverização foliar.

Na ausência de pulverização foliar, a massa seca das raízes (Tabela 4.3), na dose de 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes não diferiu do controle, enquanto a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, reduziu significativamente.

Possivelmente a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes causou algum tipo de fitotoxidez à planta. Tavares et al. (2007) também verificaram redução da massa seca radicular, em soja 'Monsoy', com a dose de 200 ml mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, apesar de que, verificaram aumento significativo com a aplicação de tiametoxam, obtendo o valor máximo com a dose de 106 mL do produto.

Tabela 4.3 - Massa seca (g) das raízes de plantas de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

						` /	1 3	
	Sem TS		TS 100		TS 200		Médias	
Sem PF	2,01	Aa	2,21	Aa	1,30	Bb	1,84	
Com PF	1,32	Bb	2,15	Aa	1,80	ABa	1,76	
Médias	1,66		2,18		1,55		CV 18,7%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Em relação ao comprimento das raízes (Tabela 4.4), na ausência de pulverização foliar, a aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes, nas doses de 100 mL e 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, não modificou o comprimento das raízes.

Tabela 4.4 - Comprimento de raízes (cm) de plantas de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS		TS 100	TS 200	Médias
Sem PF	1478	Aa	1409 Al	1209	Aa 1365
Com PF	1809	Ba	2496 Aa	1046	Ca 1784
Médias	1643		1953	1127	CV 18,2%

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Esses dados são divergentes aos encontrados por Denardin (2008), que verificou aumento significativo da massa seca e no comprimento das raízes com o mesmo cultivar de soja, BRS-Macota, e com as mesmas doses de tiametoxam em tratamento de sementes, 100 mL e 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, coletadas também na floração.

Entretanto, existem dados na literatura que mostram grande variabilidade de resposta à aplicação de tiametoxam nas raízes. Castro et al. (2008) avaliaram em soja, tratamentos de três inseticidas de efeito fisiológico, tiametoxam, imidacloprid, aldicarb e um bioestimulante (Stimulate), concluindo que os inseticidas e o bioestimulante não proporcionam maior crescimento de raízes, sendo que o tiametoxam prejudicou a germinação e aumentou o número de plantas anormais e mortas. Fernandes et al. (2008) não observaram aumento significativo na massa seca de raízes em tratamento de sementes na dose de 100 mL do produto, em soja 'BRS-133' na época do florescimento, e também, apesar de verificarem aumento significativo no comprimento de raízes, no tratamento com tiametoxam em relação ao controle absoluto, não observaram diferença significativa entre o tratamento com tiametoxam e adubos, com o tratamento somente com adubos. Silva et al. (2008) avaliaram os cultivares RR6001 e RR8000 de

soja, no campo, sob plantio direto, em três épocas de semeadura, com e sem tiametoxam em tratamento de sementes, com dose de 100 ml do produto. Aos 10 dias de semeadura, o cultivar precoce RR6001 apresentou aumento no comprimento de raízes no tratamento com tiametoxam, mas o cultivar semi-tardio RR8000 não apresentou diferença. Aos 40 dias da semeadura, a aplicação de tiametoxam não apresentou diferença significativa no comprimento das raízes, na primeira e segunda época de plantio, mas mostrou aumento, na terceira época de plantio.

A explicação para este fato reside nas interações que podem ocorrer entre tiametoxam e época, variedade, temperatura, umidade, entre outros fatores.

Quando foi aplicada pulverização foliar com tiametoxam, a massa seca de raízes (Tabela 4.3) aumentou com o tratamento de sementes na dose de 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, enquanto a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes não diferiu do controle. Quanto ao comprimento das raízes (Tabela 4.4), observou-se que a dose de 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes apresentou aumento significativo, enquanto a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes apresentou redução.

Estes dados novamente confirmam as observações de Tavares et al. (2007) de que a dose de 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> sementes, em tratamento de sementes, foi benéfica, aumentando a massa e seca e comprimento das raízes, mas a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> sementes, foi prejudicial, pois tendeu a reduzir a massa seca e reduziu o comprimento das raízes.

Na comparação entre os tratamentos com e sem pulverização foliar, a massa seca das raízes reduziu com a pulverização foliar enquanto com a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> em tratamento de sementes, a pulverização aumentou este parâmetro. No comprimento de raízes, a pulverização foliar apresentou aumento com tratamento de sementes na dose de 100 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, mas na ausência do tratamento de sementes ou na dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, a pulverização não alterou.

Portanto, é possível inferir que o tratamento de sementes com tiametoxam, na dose de 100 mL p.c. mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes favorece o sistema radicular, aumentando o comprimento e a massa seca das raízes.

Não foram observadas diferenças significativas na produção de massa seca de vagens (Tabela 4.5) nem no número de vagens por planta (Tabela 4.6), com as doses e formas de tiametoxam utilizadas.

Fernandes et al. (2008), pesquisaram a interação de tiametoxam com calcário e fertilizantes minerais, na produção de soja 'BRS-133' em vasos. Segundo os autores, o número

de vagens aumentou significativamente nos tratamentos fertilizante + tiametoxam e fertilizante + calcário + tiametoxam, em relação ao controle absoluto, entretanto o ensaio não apresentou diferença significativa entre o controle absoluto e o tratamento somente com tiametoxam, nem entre o tratamento com tiametoxam e adubos e o tratamento somente com adubos, o que não permitiu concluir que o aumento na produtividade seja atribuído à aplicação de tiametoxam.

Tabela 4.5 - Massa seca (g) de vagens de plantas de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

			` /	1 3	` /
	Sem TS	TS 100	TS 200	Médias	
Sem PF	140	135	142	139	a
Com PF	152	146	163	153	a
Médias	146 A	140 A	153 A	CV 14,8%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Petrere et al. (2008) avaliaram, em casa de vegetação, a aplicação de tiametoxam (100 mL p.c.) em tratamento de sementes em soja 'Fundacep 39', sobre solo tratado ou não com adubos e calcário. A aplicação de tiametoxam aumentou a produtividade, em gramas por vaso, no tratamento com adubo, e incrementou a massa de 100 sementes no tratamento sem adubo com calcário e no tratamento com adubo sem calcário. Damico (2008) avaliou a aplicação de tiametoxam na dose de 100 mL de p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, em função de três épocas de plantio, em dois cultivares de soja, em condições de campo, e verificou aumento de produtividade no cultivar 'Conquista', em diversas épocas, e com o cultivar 'Embrapa 48' em um plantio.

Tabela 4.6 - Número de vagens de soja, no estádio R3, em função de doses de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS		TS 100	TS 200	Médias	
Sem PF	358		359	344	353	a
Com PF	380		334	374	363	a
Médias	369	A	346 A	359 A	CV 18,2%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Entretanto, outros autores não verificaram aumento significativo na produção de soja com o uso de tiametoxam. Campos e Silva (2008), estudando a aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes em soja 'Fundacep Missões', no campo, verificaram que as doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, não apresentaram diferença significativa na produtividade. Silva et al. (2008) verificaram, que a aplicação de tiametoxam, em soja sob

tratamento de sementes na dose de 100 ml mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, com três épocas de semeadura e dois cultivares, não apresentou diferença significativa na produção. Silveira et al. (2008) avaliaram a cultura da soja no campo, utilizando dois cultivares, duas épocas de semeadura, com e sem tiametoxam em tratamento de sementes na dose de 100ml de produto comercial para 100 kg de sementes. O uso de tiametoxam não apresentou diferença significativa na produtividade da cultura.

Apesar dos efeitos fisiológicos benéficos apresentados pelo inseticida tiametoxam, esses efeitos podem mostrar grande interação em função do manejo da cultura, de difícil previsão, se tornando inócuos.

Os resultados obtidos nas condições deste experimento, não permitem concluir que a aplicação de tiametoxam aumenta a produção em soja.

## 4.3.2 Análise foliar de nutrientes

Os teores foliares de nitrogênio não apresentaram diferença significativa com aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes nas doses de 100 mL e 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes ou em pulverização foliar na dose de 100 g p.c. ha<sup>-1</sup> (Tabela 4.7).

Denardin (2008), observou em soja 'BRS-Macota" na época da floração, aumento significativo do teor de nitrogênio da parte aérea em plantas não inoculadas com *Bradyrhizobium* mas não verificou diferença em plantas com inoculação. Isto pode demonstrar que o tiametoxam apresenta efeito bioativador mais acentuado em condições de estresses ou deficiências (CATANEO, 2008). O fato das plantas de soja estarem bem supridas com nutrientes e água pode ter reduzido o efeito bioativador neste experimento.

Tabela 4.7 - Teores de nitrogênio foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS	TS	100	TS 200	) Médias	
Sem PF	45,5	44	1,9	45,4	45,3	a
ComPF	41,0	4]	1,9	50,0	44,3	a
Médias	43,3	A 43	3,4 A	47,7	A CV 11,19	6

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os tratamentos de sementes com tiametoxam, nas doses de 100 mL e 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, não modificaram significativamente os teores de fósforo da folha (Tabela 4.8). A pulverização foliar com tiametoxam reduziu os teores foliares de fósforo em todos os

tratamentos. A massa seca das raízes no tratamento "Sem TS" reduziu com a aplicação de tiametoxam em pulverização foliar, o que poderia justificar o fato do teor baixo deste elemento, desde que, o fósforo é absorvido por interceptação radicular, entretanto nos tratamentos "TS100" e "TS200" isto não ocorreu.

Tabela 4.8 - Teores de fósforo foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS		TS 100	TS 200	Médias	
Sem PF	5,93		5,34	5,75	5,67	a
Com PF	4,36		4,64	4,17	4,39	b
Médias	5,14	A	4,99 A	A 4,96	A CV 22,5%	_

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os teores foliares de potássio apresentaram interação significativa entre as doses do tratamento de sementes e a pulverização foliar (Tabela 4.9).

Não foi observada diferença significativa com as aplicações de tiametoxam em tratamento de sementes nas doses avaliadas. O tratamento controle com pulverização foliar, apresentou aumento dos teores de potássio, mas observou-se que os valores com tratamento de sementes nas doses de 100 mL e 200 mL, sem pulverização, foram semelhantes ao tratamento significativo, mostrando tendência desses valores serem considerados relevantes.

Tabela 4.9 - Teores de potássio foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS		TS 100		TS 200		Médias	
Sem PF	12,5	Ab	15,8	Aa	16,1	Aa	14,8	
Com PF	15,8	Aa	14,2	Aa	14,7	Aa	14,9	
Médias	14,2		15,0		15,4		CV 13,3%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os teores foliares de cálcio apresentaram interação significativa entre tiametoxam em tratamento de sementes e em pulverização foliar (Tabela 4.10).

O tratamento de sementes com tiametoxam, na dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, aumentou os teores de cálcio, na ausência de tiametoxam em pulverização foliar, mas na dose de 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, não diferiu do controle. Em presença de pulverização foliar com tiametoxam, os tratamentos de sementes, nas duas doses de tiametoxam, não diferiram do controle. Comparando cada tratamento de sementes, com e sem pulverização foliar com

tiametoxam, observou-se que a pulverização foliar reduziu o teor de cálcio foliar no tratamento de sementes com dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, mas não alterou os teores na dose de 200 p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes e na ausência de tratamento de sementes.

Tabela 4.10 - Teores de cálcio foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS	ı	TS 100		TS 200		Médias	
Sem PF	19,2	Ba	24,4	Aa	20,4	Ba	21,3	
Com PF	20,1	Aa	20,8	Ab	21,8	Aa	20,9	
Médias	19,7		22,6		21,1		CV 10,1%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os teores foliares de magnésio com tiametoxam apresentaram interação significativa entre tratamento de sementes e pulverização foliar (Tabela 4.11). Na ausência de pulverização foliar com tiametoxam, o tratamento de sementes na dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, aumentou os teores de magnésio em relação ao controle, enquanto a dose 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, não diferiu do controle e da dose de 100 mL. Quando adicionados à pulverização foliar com tiametoxam, os tratamentos de sementes nas doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, não apresentaram diferença significativa em relação ao controle e entre si. Não foi verificada diferença significativa nos tratamentos quando foram comparados com e sem pulverização foliar com tiametoxam.

Tabela 4.11 - Teores de magnésio foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS		TS 100		TS 200		Médias	
Sem PF	3,70	Ba	5,23	Aa	4,43	ABa	4,45	
Com PF	4,25	Aa	4,18	Aa	4,08	Aa	4,17	
Médias	3,98		4,70		4,25		CV 17,9%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Os teores foliares de enxofre não apresentaram diferença significativa com as aplicações de tiametoxam em tratamento de sementes ou em pulverização foliar (Tabela 4.12).

Tabela 4.12 - Teores de enxofre foliar (em g kg<sup>-1</sup>) em soja, no estádio R3, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Sem TS	TS 100	TS 200	Médias	
Sem PF	2,66	2,51	2,87	2,68	a
Com PF	3,07	2,76	2,61	2,81	a
Médias	2,86 A	2,63 A	2,74 A	CV 21,2%	

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Esses dados demonstraram que, o nitrogênio e o enxofre, nutrientes estruturais que são absorvidos e assimilados na forma de moléculas, não demonstraram alterações nos teores foliares das plantas tratadas com tiametoxam. Já o potássio, o cálcio e o magnésio, que são cátions, que permanecem na forma iônica, apresentaram diferenças significativas quanto aos teores foliares quando sob aplicação de tiametoxam.

De uma forma geral, a aplicação de tiametoxam em tratamentos de sementes na dose de 100 mL p.c.  $100^{-1}$  sementes foi benéfica, aumentando significativamente os teores de cálcio e magnésio, por outro lado, a pulverização foliar prejudicou, pois reduziu os teores de fósforo, cálcio, exceto pelo potássio que aumentou.

#### 4.3.3 Análise da atividade enzimática

A atividade das enzimas nitrato redutase (Tabela 4.13) e fenilalanina amônia-liase (Tabela 4.14) não apresentaram diferença significativa com as aplicações de tiametoxam, na época amostrada.

Tabela 4.13 - Atividade de nitrato redutase (NR) em folhas de plantas de soja, no estádio R<sub>3</sub>, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	Controle	TS 100	TS 200	Médias			
(μg NO <sub>3</sub> MF <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )							
Sem PF	3,1377	3,4220	3,4828	3,3475	a		
ComPF	3,6928	4,0003	3,7254	3,8061	a		
Médias	3,4152 A	3,7112 A	3,6041 A	CV 42,78%			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Entretanto observa-se que o coeficiente de variação das duas análises foi alto, indicando algum problema nas amostragens ou análises. O cultivar de soja utilizado, BRS-Macota, é considerado uma planta alta, de crescimento indeterminado, sendo que algumas plantas estavam

com ápice mais alto e outras voltadas para baixo, o que prejudicou a uniformidade da amostragem das folhas, pois a atividade das enzimas NR e PAL são dependentes de luz.

Tabela 4.14 - Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) em folhas de plantas de soja, no estádio R<sub>3</sub>, em função de tiametoxam em tratamento de sementes (TS) e em pulverização foliar (PF)

	em languo de tambetoram em tratamento de sementes (15) e em parverzação forar (17)						
	Controle	TS 100	TS 200	Médias			
	(μg ácido tran	s-cinâmico min <sup>-1</sup> mg <sup>-</sup>	<sup>1</sup> proteína)				
Sem PF	0,3261	0,3349	0,3393	0,3334	a		
ComPF	0,3231	0,3311	0,3494	0,3345	a		
Médias	0,3246 A	0,3330 A	0,3443 A	CV 45,7%			

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Outro fator relevante, que poderia justificar a ausência de diferença significativa, foram as boas condições hídricas e nutricionais em que se encontravam as plantas, fator que reduz o efeito bioativador do tiametoxam.

#### 4.4 Conclusões

A aplicação de tiametoxam em soja 'BRS-Macota' em tratamento de sementes, nas doses de 100 mL e 200 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes, aumenta a área foliar, sendo que a dose de 100 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> de sementes aumenta também o comprimento e a massa seca das raízes.

O tratamento de sementes aumenta os teores foliares de cálcio e magnésio. A pulverização foliar com tiametoxam reduz os teores foliares de fósforo e cálcio, mas aumenta os teores de potássio.

#### Referências

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

CAMPOS, B.C. de; SILVA, M.T.B. Ação do inseticida tiametoxam na fixação biológica de nitrogênio da cultura da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 250-264.

CASTRO, G.S.A.; BOGIANI, J.C.; SILVA, M.G. da; 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

CATANEO, A.C. Ação do tiametoxam (thiamethoxam) sobre a germinação de sementes de soja (*Glycine max*, L.): enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situações de estresses (deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 126-194.

CLAVIJO, J. (Ed.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 196p. 2008.

DAMICO, C. Interação entre época de semeadura, ciclo de maturação de cultivares e dose de tiametoxam sobre características agronômicas e produtividade da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 284-308.

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

FHER, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development.** Ames: Iowa Agricultural Experimental Station, 1977. 81 p.

FERNANDES, F.B.; CALAFIORI, M.H.; ANDRADE, R.C.; BUENO NETO, J.R.; TEIXEIRA, N.T. Efeito de cruiser em soja plantada em solo arenoso, com diferentes adubações e correção de solo. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 218-240.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.6: Sistema de Análises Estatísticas. Lavras: UFLA, 2003. s/p.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Soja: mercados & perspectivas. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2009**: anuário de agricultura brasileira, São Paulo, 2009. p. 433-459.

GAZZONI, D.L. **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008, 342 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFOS, 1989. 201 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**.  $2^{nd}$  ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VEEN W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.

PETRETE, V.G.; PETRETE, C.; FIORIN, J.E.; SILVA, M.T.B. Efeito de tiametoxam sobre a soja em solo argiloso na presença ou ausência de adubo e calcário. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 242-248.

SILVA, F.C. **Manual de análises químicas de solos plantas e fertilizantes.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370 p.

SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.

SIVEIRA, E.R.; LORENZATTO, H.; JAMHOUR, J. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 278-282

SOBRAL, L.F. Nutrição e adubação do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARNICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. (Ed.). **A cultura do coqueiro no Brasil.** 2ed. Aracajú: Embrapa, CPATC, 1998. p. 129-157.

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.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

# 5 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO, TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES E ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM MUDAS DE LARANJEIRA

#### Resumo

Este trabalho foi conduzido com objetivo de avaliar os efeitos de tiametoxam, em mudas de laranjeira 'Valência' (Citrus sinensis) enxertadas em porta-enxerto de limão Cravo, sobre a área foliar, massa seca de folhas, ramos, raízes grossas e finas, comprimento de raízes, número de folhas, área foliar média, teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, atividade da nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase. O ensaio foi conduzido em vasos, em ambiente natural, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALO/USP, no período de 13/09/07 a 18/03/08 (187 dias). Mudas de 6 meses de idade, foram plantadas em vasos com 20 litros de substrato, corrigido e adubado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por 5 tratamentos, utilizando 8 repetições para os parâmetros de desenvolvimento e 4 repetições para os parâmetros bioquímicos, sendo que cada repetição foi constituída por uma planta. O tiametoxam foi aplicado duas vezes por planta, através do produto comercial (p.c.) Actara® 250WG, na forma drench, ou seja, cada dose por planta foi diluída em 20 mL de água e aplicada no solo cerca de 5 cm do caule das mudas. Os tratamentos foram: controle (2 aplicações de H<sub>2</sub>O), 2 aplicações de 0,6 g p.c. planta<sup>-1</sup>, 2 aplicações de 1,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, 2 aplicações de 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> e 2 aplicações de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. As épocas de aplicação do tiametoxam foram de 15 e 75 dias após o plantio das mudas. As mudas foram retiradas para análise cerca de 6 meses após o plantio nos vasos, ou 111 dias após a última aplicação de tiametoxam. As folhas para análises de nutrientes e atividade enzimática foram amostradas com a coleta da 3ª folha totalmente expandida, do ápice para a base do ramo. Concluiu-se que a aplicação de tiametoxam em mudas de laranjeira 'Valência', aumenta a área foliar, a massa seca das folhas, a massa seca do caule e ramos e a área foliar média, mas reduz os teores foliares de nitrogênio, fósforo e enxofre.

Palavras-chave: Citrus sinensis; Actara; Área foliar; Efeitos fisiológicos

#### **Abstract**

This study was conducted to evaluate the effects of thiamethoxan on citrus seedlings 'Valência' (*Citrus sinensis*) grafted on lemon Cravo rootstock, on the leaf area, dry weight of leaves, branches, coarse and fine roots, root length, number of leaves, mean leaf area, nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium and sulfur leaf content, activity of nitrate reductase and phenylalanine ammonia-lyase. The assay was conducted in pots under natural conditions in the Experimental Field of the Biological Sciences Department, ESALQ / USP, from 09/13/07 to 03/18/08 (187 days). Six-months orange seedlings, were planted in pots containing 20 liters of substrate, limed and fertilized. A completely randomized design was used, consisting of 5 treatments, using 8 replications for parameters of development and 4 replications for biochemical parameters, each replication consisted of one plant. Thiamethoxan was applied two times for plant, through the commercial product (c.p.) Actara® 250WG, in the drench way that is each

dose per plant diluted in 20 mL of water and applied on the soil surface about 5 cm from the seedlings stem. The treatments were: control (2 applications of H<sub>2</sub>O), 2 applications of 0.6 g c.p. plant<sup>-1</sup>, 2 applications of 1.0 g c.p. plant<sup>-1</sup>, 2 applications of 2.0 g c.p. plant<sup>-1</sup> and 2 applications of 3.0 g c.p. plant<sup>-1</sup>. The applications of thiamethoxan were at 15 and 75 days after seedlings planting. The seedlings were taken for analysis approximately 6 months after planting in pots, or 111 days after the last application of thiamethoxan. The leaves sampled for analysis of nutrients content and enzymes activity were carried through with the collection of the 3rd fully expanded leaf from the apex to the base of the branch. It was concluded that the application of thiamethoxan in 'Valência' orange seedlings, increases the leaf area and leaf area average, leaf dry weight, stems and branches dry weight, but reduces the nitrogen, phosphorus and sulfur leaf content.

Keywords: Citrus sinensis; Actara; Leaf area; Physiological effects

## 5.1 Introdução

O Brasil é o maior produtor de citros e suco de laranja (*Citrus sinensis*) do mundo, sendo o Estado de São Paulo responsável por mais de 80% da produção. Apesar disso, a safra encerrada em 2008 foi marcada pelo aumento dos custos. Para os citricultores as despesas cresceram em função da elevação do preço dos fertilizantes e do avanço do *greening* Para as indústrias, a matéria-prima subiu e os preços do suco concentrado (66°Brix) despencou nos principais mercados, devido principalmente ao elevado estoque nas mãos dos compradores e a redução do consumo de suco de laranja nos Estados Unidos. Além disso, produção de suco não concentrado, que cresce ano a ano, exige frutas de melhor qualidade e mais caras, exigindo cada vez mais do produtor (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009).

O cultivar 'Valência', que apresenta maturação tardia, é uma das principais variedades plantadas no Brasil, principalmente em função da boa produtividade e do tamanho adequado dos frutos, sendo a principal variedade em vários países citrícolas (PIO et al., 2005). Esta variedade produz frutos utilizados para os três tipos de comercialização disponíveis: exportação de fruta fresca, mercado interno e suco concentrado congelado (FIGUEIREDO, 1991).

O consumo anual de agroquímicos no Brasil supera 300 mil toneladas de produtos comerciais, ou cerca de 130 mil toneladas de ingrediente ativo, o que representa nos últimos 40 anos um aumento de 700%, enquanto a área agrícola aumentou, no mesmo período, 78% (SPADOTTO, 2006). Entre os principais agroquímicos utilizados, se destacam os inseticidas, que normalmente são estudados quanto a sua eficiência no controle de pragas, entretanto, alguns exercem outros efeitos, pouco avaliados, que podem influenciar fortemente no desempenho das culturas.

O tiametoxam é um inseticida de ação sistêmica, do grupo dos neonicotinóides, da família nitroguanidina, com nome químico 3-(2-cloro-tiazol-5-ilmetil)-5-metil[1,3,5] oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina, classe toxicológica III, considerado medianamente tóxico. Este produto atua no receptor nicotínico acetilcolina de insetos, lesando o sistema nervoso, levando-os à morte.

O inseticida tiametoxam é registrado para a cultura dos citros no Brasil, através do produto comercial (p.c.) Actara® 250WG (250g i.a. kg<sup>-1</sup>), recomendado para o controle de cochonilha-orthezia (*Orthesia praelonga*), na dose de 20 g 100 L<sup>-1</sup> água ou 10 g L<sup>-1</sup> água + óleo mineral em pulverização foliar com 15 L planta<sup>-1</sup>, cochonilha-parlatoria (*Parlatoria cinerea*), cochonilha-pardinha (*Selenaspidus articulatus*) e psilídeo (*Diaphorina citri*), na dose de 3 g planta<sup>-1</sup> em pulverização no tronco e ramos com calda de 500 mL planta<sup>-1</sup> ou aplicação no solo com calda de 200 ml planta<sup>-1</sup>, e cigarrinha vetora do CVC (*Oncometopia fascialis*) na dose de 3g planta<sup>-1</sup> em jato dirigido ao tronco e solo sob a copa.

Considera-se que o inseticida tiametoxam apresenta ação fisiológica em plantas tratadas, demonstrando maior vigor e desenvolvimento, aumento do sistema radicular, maior absorção de nutrientes e maior atividade enzimática (GAZZONI, 2008).

Poucos estudos foram realizados avaliando o efeito fisiológico da aplicação de tiametoxam em plantas de citros. A hipótese testada neste estudo foi de que o tiametoxam modifica a massa e o tamanho dos órgãos da laranjeira, além de alterar as concentrações de nutrientes e a atividade enzimática nas folhas. Em geral, as folhas recém-maduras são as mais adequadas para a análise foliar (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de tiametoxam, em mudas de laranjeira 'Valência', sobre parâmetros de desenvolvimento: área foliar, massa seca de folhas, ramos, raízes grossas e finas, comprimento de raízes, número de folhas e área foliar média, além de parâmetros bioquímicos: teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e S, atividade da nitrato redutase e fenilalanina amônia-liase.

## 5.2 Desenvolvimento

#### **5.2.1** Material e Métodos

O experimento foi realizado com plantas de laranja 'Valência' enxertadas em portaenxerto de limão Cravo. O ensaio foi conduzido em vasos, em ambiente natural, no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, no período de 13/09/07 a 18/03/08 (187 dias). As mudas, que no momento do plantio estavam com 6 meses de idade, foram plantadas em vasos de 30 cm de diâmetro, os quais foram preenchidos com 20 litros de substrato composto por vermiculita e solo Latossolo vermelho distrófico argiloso, corrigido para elevar a saturação de bases a 70% e adubado com fósforo e potássio, 30 dias antes do plantio.

O solo foi bem peneirado e todas as plantas receberam aplicações com inseticida endosulfan e inseticida/acaricida abamectina com óleo mineral, de modo evitar a influência de pragas. As plantas foram irrigadas a fim de manter o substrato próximo à capacidade de campo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por 5 tratamentos, utilizando 8 repetições para os parâmetros de desenvolvimento e 4 repetições para os parâmetros bioquímicos, sendo que cada repetição foi constituída por uma planta. Os vasos foram mantidos em espaçamento de 1,2 m entre si, sendo trocados de posição aleatoriamente, a cada 15 dias, para evitar o efeito de bordadura.

O tiametoxam foi aplicado duas vezes por planta, através do produto comercial (p.c.) Actara® 250WG, na forma "drench", ou seja, cada dose por planta foi diluída em 20 mL de água e aplicada no solo cerca de 5 cm do tronco das mudas.

Foram avaliados 5 tratamentos: controle (2 aplicações de  $H_2O$ ), 2 aplicações de 0.6 g p.c. planta $^{-1}$ , 2 aplicações de 1.0 g p.c. planta $^{-1}$ , 2 aplicações de 2.0 g p.c. planta $^{-1}$ , 2 aplicações de 3.0 g p.c. planta $^{-1}$ .

As doses foram determinadas baseadas na recomendação do fabricante (informação pessoal) de 1,0 g p.c. muda<sup>-1</sup> no viveiro (pré-plantio) e 1,25 g por metro de altura da copa para mudas plantadas.

As épocas de aplicação do tiametoxam foram de 15 e 75 dias após o plantio das mudas. As mudas foram retiradas para análise cerca de 6 meses após o plantio nos vasos, ou seja, 111 dias após a última aplicação de tiametoxam.

#### 5.2.1.1 Parâmetros de desenvolvimento

A área foliar foi determinada com o aparelho LI-COR LI-3100, o número de folhas foi quantificado pela contagem de todas as folhas com 5 cm, ou mais, de comprimento e a área foliar média foi determinada pela divisão da área foliar de cada planta pelo número de folhas de cada planta.

As plantas foram retiradas dos vasos e o sistema radicular, que foi separado do solo com auxílio de água corrente e peneira de malha 2 mm, foi dividido em raízes finas, com diâmetro igual ou menor de 2 mm, e raízes grossas.

As raízes finas foram secas com toalha e em seguida distribuídas em um *scanner* e digitalizadas para posterior medição do comprimento utilizando o programa SIARCS (Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo), desenvolvido pela EMBRAPA/CNPDIA – São Carlos, SP (CRESTANA et al., 1994).

Para obtenção da massa seca, cada material foi colocado individualmente em sacos de papel devidamente identificados e acondicionados em estufa de circulação forçada de ar à 65°C, até peso constante, quando o material foi pesado em balança de precisão de 0,001 g.

## 5.2.1.2 Parâmetros bioquímicos

As folhas para análises de nutrientes e atividade enzimática foram amostradas com a coleta da 3ª folha totalmente expandida, do ápice para a base do ramo.

Para a análise de nutrientes, as folhas foram transportadas para o laboratório em sacos de papel, onde esse material foi seco em estufa, de circulação forçada de ar a 65<sup>0</sup> C, durante 48 horas, pesado e moído em moinho tipo Wiley, usando peneira de 20 mesh. A massa e número destas folhas foram acrescentadas na massa seca e número de folhas de cada planta.

Os teores de nutrientes foliares foram analisados pelo laboratório de Solos da ESALQ/ USP.

As amostragens foliares para análise da atividade enzimática foram efetuadas entre 7:00 e 8:00 h da manhã. Para atividade da PAL, foi realizada a pesagem em amostras de 0,5 g, e inseridas em sacos plásticos herméticos, armazenados em recipientes de isopor contendo gelo e transportados imediatamente ao laboratório, sendo armazenados em congelador (-20°C) para posterior análise. Para análise da nitrato redutase as folhas foram coletadas, inseridas em sacos plásticos herméticos em gelo, transportadas para o laboratório e analisadas imediatamente.

A atividade da nitrato redutase *in vivo* foi determinada de acordo com o método descrito por Mulder et al. (1959). Foram pipetados 4 mL de KNO<sub>3</sub> a 0,25 M em tampão fosfato pH 7,4 utilizando tubos de ensaio de 15 mL, providos de rolha de borracha. As folhas das plantas amostradas foram cortadas em pequenos fragmentos, evitando-se as nervuras principais e secundárias e adicionadas nos tubos, na quantidade de 200 mg de folha por amostra. Os tubos de

ensaio foram tampados e cada conjunto de 3 tubos foi envolvido em papel de alumínio e colocado em banho maria a 35°C durante 2 horas, agitando de 5 em 5 minutos. Após isto, foi retirado 1 mL do sobrenadante e adicionado em 25 mL de  $H_2O$  destilada com 1 mL de ácido sulfanílico. Após repouso durante 10 minutos, foi adicionado 1 mL de alfanaftilamina e misturado. Em seguida, adicionado 1 mL do tampão de acetato de sódio a 2,0 M, completado o volume para 50 mL com água destilada em balão volumétrico e misturado novamente. Entre 10 a 30 minutos após, foi realizada a leitura em colorímetro fotoelétrico com filtro verde, correspondente a leitura em 540 nm, acertando-se o zero com  $H_2O$  destilada. A concentração de nitrito foi calculada através da curva padrão de nitrito, utilizando concentrações de 0, 5, 10, 15, 20 e 25  $\mu$ g  $L^{-1}$  de N na forma de  $NO_2^-$ , junto com os reagentes anteriores. A partir das absorbâncias calculadas, ajustou-se o gráfico (concentração x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear (y = ax + b). Os valores foram expressos em  $\mu$ g  $N-NO_2^-$  por g de fitomassa verde por hora.

A obtenção dos extratos protéicos, para análise da atividade da fenilalanina amônia-liase e teor de proteínas totais, foi realizada utilizando-se amostras de 0,5 g de folhas, homogenizadas mecanicamente em 4 mL de tampão acetato de sódio a 100 mM (pH 5,0), com auxílio de almofariz e nitrogênio líquido, sendo em seguida centrifugadas a 20.000g durante 20 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi considerado como extrato protéico e armazenado em *eppendorf* à - 20°C.

O teor de proteínas totais foi determinado pelo teste de Bradford (1976). Foram adicionados 0,2 mL do reagente de Bradford a 0,8 mL do extrato protéico e agitados, sendo efetuada após 5 minutos, leitura da absorbância em espectrofotômetro a 595 nm. A concentração de proteínas foi calculada utilizando curva padrão com concentrações de 0 a 20 μg L<sup>-1</sup> de albumina de soro bovino (ASB). Esses valores foram expressos em termos de equivalentes de μg de ASB em 1 mL de amostra (μg proteína mL<sup>-1</sup>).

A atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado pelo substrato fenilalanina (UMESHA, 2006), relacionado com o conteúdo de proteínas. Foram adicionados 100 μL do extrato protéico junto com 400 μL do tampão Tris HCl a 25 mM (pH 8,8) e 500 μL de L-fenilalanina (50 mM em tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8), sendo em seguida incubados a 40°C por 2 h. Imediatamente após a incubação, a reação foi paralizada com a adição de 200 μL de HCl a 0,5 M. A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm utilizando lâmpada UV, sendo que cada amostra teve o

valor subtraído do controle, que consistia em uma solução de 100 μL do extrato protéico com 900 μL de tampão Tris HCl 25 mM, pH 8,8. As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para ácido trans-cinâmico e a atividade da PAL foi expressa em μg de ácido trans-cinâmico por minuto por mg de proteína.

Os resultados dos parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância, para verificar a significância dos efeitos dos tratamentos. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003).

## 5.3 Resultados e Discussão

## 5.3.1 Avaliação dos parâmetros de desenvolvimento

Os efeitos da aplicação de doses de tiametoxam em parâmetros de desenvolvimento estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Mudas de laranjeira 'Valência', em função de doses de tiametoxam aplicadas em *drench* (g p.c. planta<sup>-1</sup>)

∖C I		,					
		Controle	0,6	1,0	2,0	3,0	
	_			Dose de p.c. p	olanta <sup>-1</sup> (em g)		CV%
Área Foliar	cm <sup>2</sup>	2998 B	3466 B	3688 AB	3550 AB	4215 A	14,1
Massa seca de folhas	g	31,0 B	36,2 B	39,6 AB	38,4 AB	46,2 A	15,7
Massa seca de caule e ramos	g	73,7 B	81,1 AB	81,1 AB	78,5 AB	88,4 A	12,0
Massa seca de raízes grossas	g	53,6 A	56,1 A	55,5 A	48,6 A	50,2 A	19,4
Massa seca de raízes finas	g	11,1 A	10,5 A	10,6 A	11,3 A	12,5 A	21,4
Comprimento de raízes	cm	11625 A	11697 A	11160 A	11244 A	13651 A	25,7
Número de folhas		115 A	124 A	122 A	125 A	137 A	12,3
Área foliar média	cm <sup>2</sup>	25,9 B	28,3 AB	30,3 A	28,5 AB	30,8 A	9,0

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probalidade

Aos 28 dias de plantio, uma aplicação excessiva de óleo mineral com inseticida/acaricida abamectina, associada com altas temperaturas, provocou forte fitotoxidez em todas as plantas, sendo que todos os meristemas apicais dos ramos necrosaram. Após 2 semanas surgiram novas brotações nos ramos, sendo realizado o desbaste, deixando-se apenas a brotação mais vigorosa para desenvolvimento.

## Área foliar

Foi observado aumento significativo na área foliar em mudas de laranjeira 'Valência' com a aplicação de tiametoxam nas raízes, na dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. As doses de 0,6 g, 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não diferiram do controle, mas também, as doses 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não diferiram da dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>.

Vários autores relataram aumento de área foliar com aplicação de tiametoxam em outras culturas. Tavares at al. (2007) em plantas de soja plantadas em vasos, observaram que a aplicação de tiametoxam em tratamento de sementes aumentou significativamente a área foliar aos 20 e 30 dias de plantio e também incrementou a massa seca da parte aérea aos 30 dias. Acevedo e Clavijo (2008) avaliaram o tratamento de sementes com tiametoxam após 15 dias da embebição das sementes sob casa-de-vegetação e verificaram aumento significativo da área foliar em plântulas de arroz, feijão, soja e milho.

A taxa fotossíntética em citros é considerada baixa quando comparada com outras espécies arbóreas (KRIEDEMANN, 1971). A área foliar fornece uma indicação da superfície fotossintética (LOPES et al., 2004) e permite calcular o índice de área foliar (IAF), definido em relação a área do terreno ocupada pela planta. O IAF está diretamente relacionado à evapotranspiração das plantas (OLIVEIRA; SILVA, 1990). Medina et al. (1999) trabalhando com laranjeira 'Valência', verificaram que, em geral, sob deficiência hídrica, a queda da taxa de fotossíntese inicialmente é devida ao fechamento dos estômatos. A aplicação de tiametoxam em mudas de laranjeira 'Valência', na dose 3,0 g p.c. planta-1, propiciou forte expansão foliar, isto pode representar maior taxa fotossintética e maior condutância estomática, proporcionando maiores estruturas para produção. Entretanto, outros estudos devem ser conduzidos com plantas adultas de modo averiguar aumentos na produção de citros com o uso de tiametoxam.

#### Massa seca de folhas

A massa seca de folhas, concomitantemente à área foliar, aumentou significativamente com a aplicação de tiametoxam na dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> e as doses 0,6 g, 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não apresentaram diferença significativa, apesar das doses 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não apresentaram diferença significativa em relação à dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>.

Denardin (2008) utilizando tiametoxam em tratamento de sementes de soja verificou aumento significativo da massa seca da parte aérea na época da floração, nas doses de 100 mL e

200 mL 100 kg<sup>-1</sup> de sementes. Tavares et al. (2007) em soja 'Monsoy' sob tratamento de sementes com tiametoxam, aos 30 dias após emergência, verificaram aumento significativo na massa seca da parte aérea.

A dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> aplicada neste experimento mostrou que houve aumento da área foliar associada ao aumento da massa das folhas, tornando as folhas mais vigorosas.

## Massa seca de caule e ramos

A massa seca de caule e ramos aumentou com tiametoxam na dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. As doses de 0,6 g, 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não diferiram do controle, mas também não diferiram da dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, mostrando tendência em aumentar.

Silva et al. (2008) avaliaram na soja sob plantio direto, o efeito de três épocas de semeadura, com dois cultivares (RR6001 e RR8000) na dose de 100 mL do produto comercial para 100kg de sementes e observou aumento significativo na altura das plantas, nos tratamentos com tiametoxam, na primeira época de plantio, não ocorrendo nas outras épocas.

Portanto, podemos observar que a dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, em mudas de laranja 'Valência', proporciona aumento de toda a copa em todos os órgãos da parte aérea, como área foliar, massa das folhas, do ramos e do caule, podendo promover incrementos na produção. Entretanto, este efeito pode não ser percebido pelo produtor, desde que, a dose de 3,0 g do produto comercial é recomendada apenas para árvores adultas, pois a dose recomendada para mudas está em torno de 1,2 g p.c. planta<sup>-1</sup>.

É possível que o efeito do tiametoxam sobre a parte aérea em mudas de laranjeiras tenha sido potencializado pela fitotoxidez sofrida pelas plantas com a aplicação excessiva de óleo mineral com abamectina, desde que, os efeitos do tiametoxam são mais pronunciados em plantas sob estresses.

Como as doses crescentes de tiametoxam, aumentaram linearmente a parte aérea das plantas, não se determinou a dose que proporciona o incremento máximo, podendo ser acima de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. Todavia, se faz necessário determinar os níveis de contaminação que essas doses podem conferir aos frutos da laranjeira. Estudos realizados por Pessini (2003), para determinar possíveis contaminações de tiametoxam na cultura do tomate, que possui LMR (limite máximo de resíduo) de 0,02 mg kg <sup>-1</sup> para frutos, revelaram que a aplicação de 50 g i.a. ha<sup>-1</sup> de

tiametoxam (p.c.Actara®) em pulverização foliar, não apresentou resíduos detectáveis nos frutos, mas as folhas apresentaram níveis de 0,3 mg kg<sup>-1</sup>.

## Número de folhas

Não foi observada diferença significativa no número de folhas nas mudas de laranjeira 'Valência' com a aplicação em *drench* de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. Entretanto, observando os valores numéricos é possível verificar uma tendência de doses superiores às testadas aumentarem o número de folhas.

## Área foliar média

A área foliar média, calculada pela área foliar total dividida pelo número de folhas, aumentou significativamente, com a aplicação de tiametoxam, na doses de 1,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. As doses de 0,6 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, apesar de não diferirem do controle, não apresentaram diferença significativa das demais doses. Esses dados demonstraram que a dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> aumentou a área foliar através da expansão do limbo foliar e não através do aumento do número de folhas.

## Massa seca de raízes grossas

Não foi observado diferença significativa na massa seca de raízes grossas (acima de 2 mm) com a aplicação de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. No momento da avaliação foi verificado que as raízes não haviam atingido as paredes e o fundo do vaso, evidenciando que as raízes não estavam limitadas em espaço.

## Massa seca de raízes finas

Não foi observada diferença significativa na massa seca de raízes finas (abaixo de 2 mm) em mudas de laranjeira 'Valência' com a aplicação em *drench* de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. Esses dados são contrários aqueles obtidos por vários autores que verificaram aumento da massa radicular com aplicação de tiametoxam em plantas. Acevedo e Clavijo (2008) observaram aumento significativo na massa seca de raízes em algodão, arroz, feijão, soja e milho. Petrere et al. (2008) verificaram aumento significativo com tiametoxam na massa seca de raízes de soja. Denardin (2008) observou em soja, nas duas doses de tiametoxam

utilizadas, aumento da massa seca das raízes, apesar de não verificar diferença neste parâmetro entre os tratamentos com sementes inoculadas com *Bradyrhizobium*. Tavares et al. (2007) também obteve resultados diferentes em função da dose e época amostrada, sendo que doses mais altas não aumentaram este parâmetro.

## Comprimento das raízes

O comprimento das raízes não apresentou diferença significativa com a aplicação de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>.

O desenvolvimento radicular geralmente é o efeito mais evidente de plantas tratadas com tiametoxam. Denardin (2008), Fernandes et al. (2008), Silva et al. (2008) verificaram aumento significativo do comprimento de raízes em soja. Acevejo e Clavijo (2008) verificaram aumento significativo no comprimento de raízes em algodão, arroz, milho, soja e feijão 'Calima'.

Possivelmente, o tiametoxam alterou a produção de hormônios responsáveis pelo crescimento radicular ou modificou a partição de fotoassimilados alterando a relação fonte-dreno em mudas de laranjeira em função do estresse sofrido pela parte aérea, por ocasião da fitotoxidez provocada pela aplicação de defensivos, que favoreceu o desenvolvimento da parte aérea em detrimento ao sistema radicular.

## 5.3.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

## 5.3.2.1 Teores de macronutrientes foliares

As análises foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, em função das doses de tiametoxam, estão expostas na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Teores de macronutrientes na matéria seca (g kg<sup>-1</sup>), em folhas de mudas de laranieira 'Valência', em função de doses de tiametoxam aplicadas

	J	, , ,	3		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	Controle	0,6	1,0	2,0	3,0	CV%
			Dose de p.c. pl	lanta <sup>-1</sup> (em g)		
N	23,0 A	17,0 B	16,3 B	18,2 B	17,0 B	11,1
P	5,91 A	3,75 B	5,01 AB	4,02 AB	4,41 AB	21,1
K	36,6 A	32,3 A	34,2 A	30,9 A	33,8 A	9,1
Ca	16,8 A	12,8 A	13,2 A	13,6 A	15,0 A	14,1
Mg	2,68 A	2,53 A	2,48 A	2,53 A	2,40 A	14,4
S	3,05 A	1,87 B	1,95 B	1,98 B	2,23 AB	21,3

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

## Nitrogênio

Foi observada alta redução do nitrogênio foliar em todas as doses de tiametoxam aplicadas. Os valores foram significativamente menores com as doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> em relação ao controle.

Esses resultados contrariam a afirmação de alguns autores que a aplicação de tiametoxam incrementa os teores de nutrientes foliares, como Denardin (2008) que verificou aumento significativo do teor de nitrogênio da parte aérea de soja, na floração, quando foram inoculadas com *Bradyrhizobium*, apesar de não verificar aumento quando as plantas não foram inoculadas. Mas também, outros autores, não observaram diferença significativa no teor de nitrogênio da parte aérea, ao estudar o uso de tiametoxam em tratamentos de sementes em soja 'Fundacep Missões' (CAMPOS; SILVA, 2008).

O nitrogênio é considerado o nutriente mais importante na cultura dos citros, com participação no crescimento, produção e qualidade dos frutos (QUAGGIO; MATTOS JUNIOR; CANTARELLA, 2005), faz parte dos compostos de carbono, sendo assimilado, principalmente, nas formas de nitrato e amônio (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os dados demonstraram que o conteúdo de nitrogênio foliar foi diluído em função da forte expansão foliar, possivelmente causada pelo não acompanhamento do aumento do sistema radicular. E também, o tempo de amostragem após aplicação de tiametoxam, pode ter sido inadequado para detectar aumentos significativos dos teores de nutrientes, que estavam, possivelmente maiores no início.

A faixa de teores foliares adequados de nitrogênio em laranjeiras com frutos, na primavera, é de 23 a 27 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994), que pode fornecer alguma informação sobre o estado nutricional das mudas, de que o controle se encontrava com os níveis adequados e os tratamentos estavam deficientes.

As plantas não receberam qualquer adubação com este elemento, com objetivo de que o tiametoxam pudesse aumentar a eficiência de absorção das plantas, mas como esses dados indicam, as plantas tratadas com tiametoxam não aumentaram a absorção de nitrogênio.

## Fósforo

A aplicação de tiametoxam, na dose de 0,6 g p.c. planta<sup>-1</sup>, reduziu os teores de fósforo nas folhas, enquanto as doses de 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, não diferiram significativamente do controle, mas também não diferiram da doses de 0,6 g p.c. planta<sup>-1</sup>, evidenciando tendência em reduzir esses teores.

Não foram encontrados na literatura trabalhos com efeitos fisiológicos de tiametoxam em citros, entretanto outro bioativador conhecido, o inseticida aldicarb, quando aplicado em laranja 'Valência', apresentou aumento do teor de potássio nas folhas quando comparado à aplicação de KNO<sub>3</sub>, KCl e K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, em pulverização (FOUCHE et al., 1977). Outros pesquisadores, também em laranja 'Valência', confirmaram o aumento dos teores de fósforo, além de cálcio em plantas tratadas com aldicarb (WHEATON et al., 1985), sendo que na lima ácida 'Tahiti' promoveu aumento dos nutrientes P e K (ANANIA et al., 1988).

O fósforo também foi diluído com a expansão foliar, embora sendo observado que todos os tratamentos se encontravam acima da faixa recomendada para laranjeiras em produção, que é de 1,2 a 1,6 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994), possivelmente porque o solo havia sido adubado com este elemento.

## Potássio

Não foi observada diferença significativa nos teores foliares de potássio, com as aplicações de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. A faixa de teores foliares adequados de potássio em laranjeiras com frutos, na primavera, é de 10 a 15 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994), o que pode fornecer informação que todos os tratamentos se

encontravam acima dos níveis adequados, considerando que o solo havia sido previamente adubado com este nutriente.

## Cálcio

Os teores foliares de cálcio não apresentaram diferença significativa com as doses de tiametoxam. Contudo, os teores encontrados em todos os tratamentos ficaram abaixo do considerado adequado para a cultura em produção, que é de 35 a 45 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994).

## Magnésio

Em relação aos teores foliares de magnésio, a aplicação de tiametoxam nas doses 0,6 g, 1,0 g, 2,0 e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não apresentou diferença significativa. Considerando a faixa de teores foliares adequados de magnésio em laranjeiras com frutos, na primavera, que é de 3,0 a 4,0 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994), os teores observados neste experimento estavam adequados.

## **Enxofre**

A aplicação de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> reduziu significativamente os teores de enxofre das folhas, sendo que a dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não apresentou diferença significativa em relação ao controle mas também não apresentou diferença das demais doses. Semelhantemente ao nitrogênio, o teor de enxofre sofreu alta diluição nas folhas e ficou abaixo dos níveis considerados adequados para laranjeiras em produção, que é de 2,0 a 3,0 g kg<sup>-1</sup> (GRUPO PAULISTA, 1994), o que permite inferir que os nutrientes que fazem parte de compostos de carbono, como o N e o S, foram os mais prejudicados com a aplicação de tiametoxam.

## Eficiência da utilização de nutrientes

Segundo Israel e Rufty Júnior (1988), eficiência nutricional é a relação entre a biomassa total e a quantidade de nutriente absorvido. Eficiência nutricional relaciona a produção obtida e os insumos aplicados, podendo ser expresso em quantidade de matéria seca por unidade de nutriente aplicado.

A eficiência nutricional pode ser encontrada de diferentes maneiras na literatura, porém as mais comuns são: eficiência agronômica, que é a produção obtida por unidade de nutriente aplicado; eficiência fisiológica, que é a produção biológica obtida (grãos e palha) por unidade de nutriente acumulado; e eficiência de recuperação do nutriente aplicado, que é a quantidade de nutriente acumulado na planta por unidade de nutriente aplicado (FAGERIA et al., 2004). Todos os tipos de eficiência mencionados podem ser influenciados por cultivares, tipo de solo e práticas de manejo.

A eficiência de utilização de nutrientes (EUN) pode ser calculada pela fórmula:

Que representa 1000 g de matéria seca produzida, pelo teor de nutriente absorvido, de cada repetição, permitindo avaliar as plantas tratadas com tiametoxam, descritos na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Eficiência de utilização de nutrientes (g g<sup>-1</sup>), em mudas de laranjeira 'Valência', em função de diferentes doses de tiametoxam aplicadas

	em ranção de diferences doses de dametoxam apileadas						
	Controle	0,6	1,0	2,0	3,0	CV%	
			Dose de p.c. 1	planta <sup>-1</sup> (em g) -			
N	44,10 B	59,16 A	61,87 A	55,53 AB	59,10 A	10,9	
P	172,4 A	272,2 A	212,3 A	260,2 A	231,6 A	21,0	
K	27,45 A	31,09 A	29,51 A	32,64 A	29,69 A	9,5	
Ca	60,54 A	80,55 A	77,09 A	74,79 A	66,89 A	16,1	
Mg	375,6 A	397,4 A	407,8 A	418,6 A	418,5 A	14,6	
S	338,4 A	540,6 A	529,8 A	529,7 A	474,5 A	22,5	

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Foi observado aumento significativo na eficiência da utilização de nitrogênio com a aplicação de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. A dose de 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> não diferiu do controle, mas também não diferiu estatisticamente das outras doses.

Em relação aos nutrientes foliares, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, não foram observadas diferenças significativas com tiametoxam nas doses aplicadas, entretanto observou-se que os valores foram todos numericamente maiores que o controle.

Segundo Clark e Brown (1974), as plantas eficientes na absorção de P, são aquelas que acumulam maiores quantidades do elemento quando cultivadas em baixo nível de P.

Esses dados mostram, que embora haja redução dos teores de nitrogênio com a aplicação de tiametoxam, foi produzido mais matéria seca por unidade de nutriente absorvido, mostrando que o tiametoxam aumenta a eficiência de utilização de nutrientes.

#### 5.3.2.2 Atividade enzimática

#### Nitrato redutase

Não foi observada diferença significativa na atividade da nitrato redutase (Tabela 5.4) em folhas de laranjeira 'Valência' com a aplicação de tiametoxam em *drench*, nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>. Foram observados valores muito baixos da atividade desta enzima. A grande expansão foliar com a aplicação de tiametoxam, associada ao baixo suprimento de nitrogênio no solo, causando redução dos teores foliares deste elemento, podem ter sido responsáveis pela baixa atividade desta enzima.

Os trabalhos, de forma geral, dos efeitos de tiametoxam em atividade enzimática de plantas, verificaram diferenças significativas a curto prazo (ACEVEDO; ZAMORA; CLAVIJO, 2008; ACEVEJO; CLAVIJO, 2008; CATANEO, 2008). Possivelmente, a avaliação da atividade da nitrato redutase em prazo mais curto, em relação a aplicação de tiametoxam, poderia detectar valores de atividade mais altos e significativamente diferentes.

Tabela 5.4 - Atividade da nitrato redutase (μg NO<sub>3</sub> MF<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) e fenilalanina amônia-liase (PAL) (μg ácido trans-cinâmico min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> proteína) em folhas de mudas de laranjeira 'Valência', em função de doses de tiametoxam (g p.c. planta<sup>-1</sup>)

	Controle	0,6	1,0	2,0	3,0	CV%			
			Dose de p.c. planta <sup>-1</sup> (em g)						
Nitrato redutase	0,8774 A	0,7672 A	0,6017 A	0,6569 A	0,7119 A	27,8			
PAL	0,1427 A	0,1756 A	0,1648 A	0,1799 A	0,1791 A	47,8			

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

# Fenilalanina amônia-liase (PAL)

A atividade da PAL (Tabela 5.4) em folhas de mudas de laranjeira 'Valência' não apresentou diferença significativa com a aplicação de tiametoxam nas doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, entretanto evidenciou-se alto coeficiente de variação, que pode ter sido causado por algum problema na amostragem ou nas análises bioquímicas.

Denardin (2008) trabalhando com soja sob tiametoxam em tratamento de sementes, verificou que a dose de 200 mL 100 kg<sup>-1</sup> sementes, reduziu a atividade da PAL na ausência de inoculante, mas não diferiu quando as plantas estavam inoculadas com *Bradyrhizobium* e na outra dose de tiametoxam utilizada.

#### 5.4 Conclusões

A aplicação de tiametoxam em raízes (*drench*), de mudas de laranjeira 'Valência', em duas aplicações, na dose de 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup>, aumenta a área foliar, a massa seca das folhas, a massa seca do caule e ramos e a área foliar média, após 170 dias da primeira aplicação, enquanto que a dose de 1,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> aumenta a área foliar média.

Nas mesmas condições, as doses de 0,6 g, 1,0 g, 2,0 g e 3,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> reduzem os teores foliares de nitrogênio, a dose de 0,6 g p.c. planta<sup>-1</sup> reduz os teores foliares de fósforo e as doses de 0,6 g, 1,0 g e 2,0 g p.c. planta<sup>-1</sup> reduzem os teores foliares de enxofre.

# Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronômica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 41-91.

ACEVEDO, J.C.; ZAMORA, H; CLAVIJO, J. Investigación bioquímica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 93-122.

ANANIA, P.F.R.; OLIVEIRA, C.L.; TEIXEIRA, N.T.; ZAMBON, S.; CALAFIORI, M.H. Influência da aplicação de aldicarbe nos teores de N-P-K, nas folhas de limoeiro "Tahiti". **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 13, p. 48-52, 1988a.

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

CAMPOS, B.C. de; SILVA, M.T.B. Ação do inseticida tiametoxam na fixação biológica de nitrogênio da cultura da soja. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 250-264.

CATANEO, A.C. Ação do tiametoxam (thiamethoxam) sobre a germinação de sementes de soja (*Glycine max*, L.): enzimas envolvidas na mobilização de reservas e na proteção contra situações

de estresses (deficiência hídrica, salinidade e presença de alumínio). In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 126-194.

CLARK, R.B.; BROWN, J.C. Differential phosphorus uptake by P stressed corn inbreds. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 505-508, 1974.

CRESTANA, S.; GUIMARÃES, M.F.; JORGE, L.A.C.; RALISCH, R.; TOZZI, C.L.; TORRE, A.; VAZ, C.M.P. Avaliação da distribuição de raízes no solo auxiliado por processamento de imagens digitais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 18, p. 365-371, 1994.

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

FAGERIA, N.K.; BARBOSA FILHO, M.P.; STONE, L.F.; GUIMARÃES, C.M. Nutrição de fósforo na produção de arroz de terras altas. In: SIMPÓSIO SOBRE FÓSFORO NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2003, São Pedro. **Anais ...** Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 2004. cap 15, p. 401-418.

FERNANDES, F.B.; CALAFIORI, M.H.; ANDRADE, R.C.; BUENO NETO, J.R.; TEIXEIRA, N.T. Efeito de cruiser em soja plantada em solo arenoso, com diferentes adubações e correção de solo. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 218-240.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.6: Sistema de Análises Estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.

FIGUEIREDO, J.O. Variedades copas. In: RODRIGUEZ, O. (Ed.). **Citricultura brasileira.** 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v. 1, p. 228-257.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Laranja: mercados & perspectivas. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2009**: anuário de agricultura brasileira, São Paulo, 2009. p. 267-284.

FOUCHE, P.S.; BESTER, D.H.; VLEDMAN, G.H. The influence of potassium applications and nematicides on the potassium nutrition of "Valencia" orange trees on replant citrus soil. **Journal of the American Society for Horticultural Science,** Alexandria, v. 102, n. 5, p. 546-548, 1977.

GAZZONI, D.L. **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. 342 p.

GRUPO PAULISTA DE ADUBAÇÃO E CALAGEM PARA CITROS. **Recomendações de adubação e calagem para citros no Estado de São Paulo.** 3. ed. Laranja, 1994. 27 p.

ISRAEL, D.W.; RUFTY JUNIOR, T.W. Influence of phosphorus nutrition on phosphorus and nitrogen utilization efficiencies and associated physiological response in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 28, p. 954-960, 1988.

KRIEDEMANN, P.E. Photosynthesis and transpiration as a function of gaseous diffusive resistence in orange leaves. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 24, p. 218-225, 1971.

LOPES, C.M.; ANDRADE, I.; PEDROSO, V.; MARTINS, S. Modelos empíricos para estimativa da área foliar da videira na casta Jaen. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, Dois Portos, v. 19, n. 2, p. 61-75. 2004.

MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas.** Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fosfato, 1997. 319 p.

MEDINA C.L.; MACHADO, E.C.; GOMES M.M.A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VEEN W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 10, p. 335-355, 1959.

OLIVEIRA, F.A.; SILVA, J.J.S. Evapotranspiração, índice de área foliar e desenvolvimento radicular do feijão irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 317-322, 1990.

PESSINI, M.M. de. **Resíduos de acetamiprid e thiamethoxam em tomate estaqueado** (*Lycopersicon esculentum* Mill.), em diferentes modalidades de aplicação. 2003. 71 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PETRETE, V.G.; PETRETE, C.; FIORIN, J.E.; SILVA, M.T.B. Efeito de tiametoxam sobre a soja em solo argiloso na presença ou ausência de adubo e calcário. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 242-248.

PIO, R.M.; FIGUEIREDO, J.O. de; STUCHI, E.S.; CARDOSO, S.A.B. Variedades copas. In: MATTOS JUNIOR, D. de, NEGRI, J.D. de; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros.** Campinas: IAC; FUNDAG, 2005. p. 37-60.

QUAGGIO, J.A.; MATTOS JUNIOR D.de; CANTARELLA, H. Manejo da fertilidade do solo na citricultura. In: MATTOS JUNIOR, D. de, NEGRI, J.D. de; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros.** Campinas: IAC; FUNDAG, 2005. p. 483-507.

SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.

SPADOTTO, C.A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar,** São Manuel, maio 2006. Disponível em: <a href="http://www.fmr.edu.br/npi\_2.php">http://www.fmr.edu.br/npi\_2.php</a>>. Acesso em: 26 out. 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

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

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

WHEATON, T.A., CHILDERS, C.C.; TIMMER, L.W.; DUNCAN, L.W.; NIKDEL, S. Effects of aldicarb on the production, quality of fruits and situation of citrus plants in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society,** Tallahasse, v. 1, p. 1-18, 1985.

# 6 EFEITOS DE TIAMETOXAM SOBRE PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO E TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES EM MUDAS DE CAFEEIRO

#### Resumo

Este experimento foi conduzido no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALO/USP, entre 07/12/07 e 09/06/08 (185 dias), utilizando-se mudas de cafeeiro 'Catuaí 99' (Coffea arabica) com 2 pares de folhas, plantadas em vasos contendo 20 litros de solo, corrigido e adubado. Os tratamentos foram aplicados após 3 meses do plantio, quando as mudas apresentavam 6 pares de folhas. Todas as plantas receberam aplicações periódicas com inseticida endosulfan e fungicida mancozeb, de modo evitar a influência de pragas e doenças nas plantas. As plantas foram irrigadas diariamente a fim de manter o substrato próximo à capacidade de campo. O tiametoxam foi aplicado através do produto comercial (p.c.) Actara® 250 WG diluído em 20 ml de água e colocado na superfície do solo, em círculo, na distância de 5 cm do caule das mudas. Foram utilizados 5 tratamentos: controle (20 mL de água planta<sup>-1</sup>), 10 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, 20 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, 40 mg p.c. planta<sup>-1</sup> e 80 mg p.c. planta<sup>-1</sup>. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 7 repetições para os parâmetros de desenvolvimento e 4 repetições para as análises de macronutrientes. As plantas foram avaliadas cerca de 3 meses após a aplicação dos tratamentos. Foi concluído que a aplicação de tiametoxam em mudas de café 'Catuaí 99' aumenta o número de folhas, a massa seca de raízes finas e o comprimento das raízes, obtendo-se os valores máximos desses parâmetros com as doses de 47,9 mg, 45,4 mg e 47,2 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, respectivamente.

Palavras-chave: Coffea arabica; Actara; Sistema radicular; Número de folhas

### **Abstract**

This experiment was conducted at the Experimental Field of the Biological Sciences Department, ESALQ / USP, between 12/07/07 and 06/09/08 (185 days), using coffee seedlings 'Catuaí 99' (Coffea arabica) with 2 pairs of leaves, planted in pots containing 20 liters of soil, limed and fertilized. The treatments were applied after 3 months of planting, when the seedlings had 6 pairs of leaves. All plants received regular applications of insecticide endosulfan and fungicide mancozeb in order to avoid the influence of pests and diseases in plants. The plants were irrigated daily in order to maintain the substrate near to the field capacity. Thiamethoxan was applied through the commercial product (c.p.) Actara® 250WG diluted in 20 mL of water and applied on the soil surface in a circle, at a distance of 5 cm from the stem of seedlings. Five treatments was used: control (20 mL of water plant<sup>-1</sup>), 10 mg c.p. plant<sup>-1</sup>, 20 mg c.p. plant<sup>-1</sup>, 40 mg c.p. plant<sup>-1</sup> and 80 mg c.p. plant<sup>-1</sup>. A completely randomized design was used with 7 replications for the parameters of development and 4 replications for chemical analysis. The plants were evaluated about 3 months after the application of the treatments. It was concluded that the application of thiamethoxan on coffee seedlings 'Catuaí 99' increases the number of leaves, dry mass of fine roots and root length, obtaining maximum values of these parameters at doses of 47.9 mg, 45.4 mg and 47.2 mg c.p. plant<sup>-1</sup>, respectively.

Keywords: Coffea arabica; Actara; Root system; Number of leaves

# 6.1 Introdução

A produção brasileira de café beneficiado em 2008, foi de cerca 46 milhões de sacas em uma área de 2,2 milhões de hectares. A safra de 2008/09 mostra crescimento em função do clima e da bienalidade positiva, entretanto algumas instituições que analisam o mercado afirmam que a safra mundial será maior que a prevista, o que aumentaria os estoques mundiais, refreando as cotações do mercado internacional (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009). Tudo isso, determina que a produção seja cada vez mais competitiva, tendendo a se aumentar a produtividade e reduzir os custos.

O tiametoxam é registrado, para a cultura do cafeeiro no Brasil, com o produto comercial Actara® 250WG, recomendado para controle de cigarrinha (*Oncometopia facialis*), na dose de 2000 g ha<sup>-1</sup>, bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*), na dose de 1400 a 2000 g ha<sup>-1</sup> e cigarra-docafeeiro (*Quesada gigas*), na dose de 1400 g ha<sup>-1</sup>. A forma de aplicação é em esguicho no solo, sob a copa do cafeeiro (*drench*), com as respectivas doses diluídas em água, de modo aplicar 50 mL de calda por planta.

Segundo Matiello, Almeida e Garcia (2009), o cobre tem três funções principais no cafeeiro: como micronutriente, como fungicida e bactericida, e como efeito tônico, atuando na supressão do efeito do etileno, produzido nos processos de dano da folhagem, provocando a morte de microrganismos que exercem epifilia, promovendo assim, maior retenção foliar.

Pouco se conhece dos efeitos fisiológicos de tiametoxam na cultura do cafeeiro, portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de tiametoxam em mudas de cafeeiro, sobre a área foliar, massa seca de folhas, ramos e raízes, número de folhas, comprimento das raízes e os teores foliares de N, P, K, Ca, Mg e S.

# **6.2** Desenvolvimento

#### **6.2.1** Material e Métodos

Este experimento foi conduzido em ambiente natural no Horto Experimental do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP, entre 07/12/07 e 09/06/08 (185 dias), utilizando-se vasos contendo 20 litros de substrato composto por solo Latossolo vermelho distrófico argiloso, corrigido para elevar a saturação de bases a 70%, e adicionada adubação com fósforo e potássio, 30 dias antes do plantio.

Escolheram-se 45 mudas bem homogêneas de um lote de 100 mudas de cafeeiro 'Catuaí 99' com 2 pares de folhas, para plantio nos vasos. Após 3 meses do plantio, quando as mudas apresentavam 6 pares de folhas, foram selecionadas as 35 plantas mais uniformes para aplicação dos tratamentos.

Todas as plantas receberam aplicações periódicas com inseticida endosulfan e fungicida mancozeb, de modo evitar a influência de pragas e doenças nas plantas. As mudas foram irrigadas diariamente a fim de manter o substrato próximo à capacidade de campo.

Os vasos foram distribuídos sob delineamento inteiramente casualizado, com 7 repetições, mantidos em espaçamento de 1,0 m entre si, mudados aleatoriamente de posição periodicamente, para evitar o efeito de bordadura.

O tiametoxam foi aplicado através do produto comercial (p.c.) Actara® 250 WG diluído em 20 ml de água e colocado na superfície do solo, em círculo, na distância de 5 cm do tronco das mudas.

Foram utilizados 5 tratamentos: controle (20 mL de água planta<sup>-1</sup>), 10 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, 20 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, 40 mg p.c. planta<sup>-1</sup> e 80 mg p.c. planta<sup>-1</sup>.

As doses foram determinadas em função da recomendação do fabricante (informação pessoal) de  $50~g~p.c.~100~L^{-1}$  água para 5000~mudas~(20~mL), resultando em  $10~mg~muda^{-1}$ .

As plantas foram avaliadas cerca de 3 meses após a aplicação do tratamentos.

A área foliar foi determinada pelo aparelho LI-COR LI-3100. A contagem de folhas foi realizada contando-se o número de folhas com comprimento igual ou maior que 5 cm. As raízes foram separadas do solo com água corrente e peneira de malha de 2 mm, cortadas do tronco, secas em toalha e distribuídas em um *scanner* para digitalização e mensuração dos comprimentos. As folhas, caule, raízes grossas (acima de 2 mm de diâmetro) e raízes finas foram separados, indentificados e colocados em estufa com ventilação forçada à 65°C, até peso constante, quando o material foi pesado em balança de precisão de 0,001 g.

Para as análises foliares foram retiradas as duas primeiras folhas totalmente expandidas, na direção do ápice para base do tronco. Essas folhas foram incluídas nas avaliações de área foliar, massa seca e número de folhas.

Os resultados dos parâmetros de desenvolvimento avaliados foram submetidos à análise da variância, verificando-se os efeitos dos tratamentos. Modelos matemáticos de regressão foram testados utilizando-se o sistema SISVAR (FERREIRA, 2003), sendo escolhido aquele com maior

coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). As curvas foram ajustadas pelo Software Excel para avaliar o efeito das doses.

Os dados das análises de nutrientes foram submetidos à análise de variância, para verificar a significância dos efeitos dos tratamentos. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR.

# 6.3 Resultados e Discussão

# Área foliar

A análise de regressão da área foliar revelou que os modelos testados não foram significativos (P>0,05), apesar da equação quadrática apresentar alto coeficiente de determinação (Figura 6.1). Pela análise de variância, os resultados não mostraram diferença significativa entre as doses de tiametoxam utilizadas (P>0,05) (CV:21,3%).

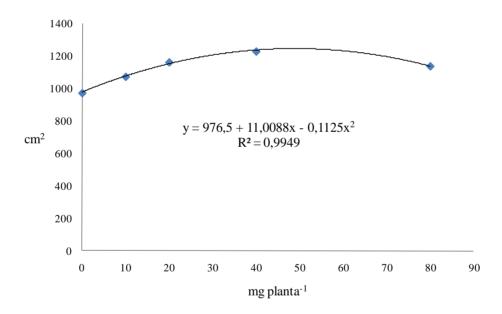


Figura 6.1 - Área foliar (cm²) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

Apesar disso, autores verificaram aumento significativo com a aplicação de tiametoxam sobre a área foliar. Tavares et al. (2007) avaliaram aplicação de tiametoxam em soja 'Monsoy', sobre a área foliar, com as doses de 0, 50, 100, 200 e 300 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes, e observaram aumento significativo, representado por modelo quadrático, com a dose de 101 mL para maior aumento deste parâmetro. Acevejo e Clavijo (2008) verificaram aumento significativo

da área foliar em plântulas de arroz, feijão, soja e milho, com tiametoxam em tratamento de sementes, após 15 dias da embebição das sementes.

#### Massa seca das folhas

Na análise de regressão da massa seca de folhas, os modelos testados não apresentaram significância (P>0,05), embora a equação quadrática apresentasse alto coeficiente de determinação (Figura 6.2). A análise de variância não apresentou diferença significativa entre as doses (P>0,05) (CV:22,2%).

Contudo, Denardin (2008) verificou aumento significativo na massa seca da parte aérea da soja, utilizando tiametoxam em tratamento de sementes. Tavares et al. (2007), também em soja, observaram aumento significativo da massa seca da parte aérea, com tiametoxam, estabelecendo a equação quadrática como mais adequada para esta variável.

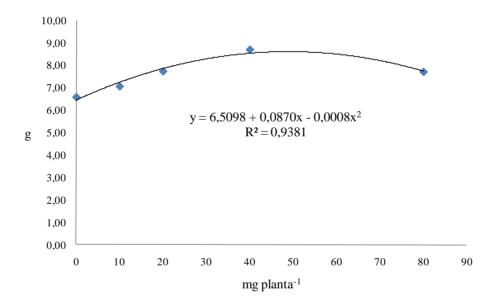


Figura 6.2 - Massa seca de folhas (g) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

# Número de folhas

A análise de regressão mostrou que os modelos de regressão testados foram significativos (P<0,05), sendo o modelo quadrático o que apresentou o maior coeficiente de determinação. As doses de tiametoxam apresentaram diferença significativa sobre o número de folhas, pela análise de variância (P<0,05) (CV:16,0%). Segundo a equação proposta, a dose de 47,9 mg p.c. planta<sup>-1</sup> proporcionou o incremento máximo no número de folhas, obtendo 30,1 folhas muda<sup>-1</sup>.

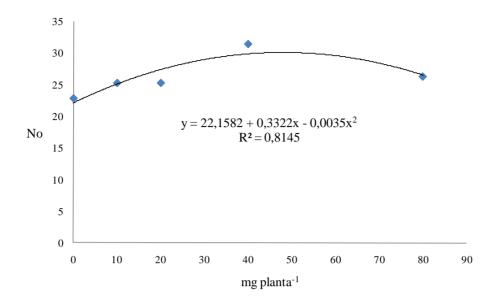


Figura 6.3 - Número de folhas de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

Verificou-se que as plantas, com a aplicação de tiametoxam, não apresentaram aumento da área foliar e na massa seca das folhas, mas aumentaram o número de folhas, podendo-se inferir que as folhas reduziram de tamanho. O número maior de folhas pode favorecer a planta, pois proporciona maior resistência a desfolha em função de diversos tipos de estresse.

# Massa seca do caule

Na análise de regressão, os modelos testados apresentaram significância (P<0,05), sendo o quadrático foi o que obteve o melhor ajuste.

Entretanto, pela análise de variância, as doses de tiametoxam não apresentaram diferença significativa na massa seca do caule (P>0,05) (CV:29,1%).

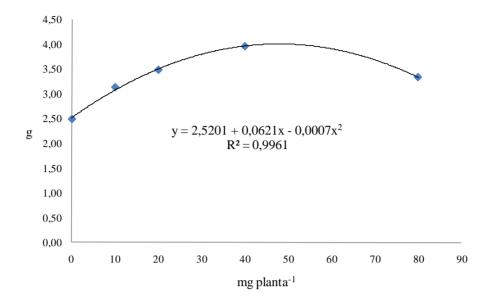


Figura 6.4 - Massa seca de caule (g) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

# Massa seca de raízes grossas

A análise de regressão apresentou equações significativas (P<0,05), sendo a equação quadrática apresentou o maior coeficiente de determinação (Tabela 6.5). Apesar disso, a análise de variância não demonstrou diferença significativa na massa seca das raízes com a aplicação de tiametoxam (P>0,05) (CV:23,3%).

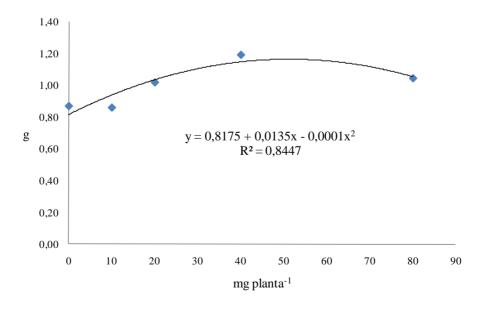


Figura 6.5 - Massa seca de raízes grossas (g) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

As raízes grossas apresentaram baixa eficiência em absorção de água e nutrientes no cafeeiro, com função maior na sustentação e fixação da planta no solo.

# Massa seca de raízes finas

A análise de regressão apresentou equações significativas (P<0,05), sendo a equação quadrática a que apresentou o maior coeficiente de determinação (Figura 6.6). Foi observado pela análise de variância, diferença significativa na massa seca de raízes finas (<2,0mm) das mudas de cafeeiro, com a aplicação de tiametoxam (P<0,05) (CV:29,2%). A dose de tiametoxam de 45,4 mg p.c. planta<sup>-1</sup> proporcionou o maior incremento, com 2,51 g de raízes finas, que representa 87% de massa seca das raízes em relação ao controle.

Não foram encontrados trabalhos com tiametoxam em cafeeiros, mas Tavares et al. (2007) também verificaram aumento significativo da massa seca radicular, em soja 'Monsoy', aos 30 dias da emergência, sendo que a equação de regressão estabeleceu a equação quadrática como mais adequada, obtendo-se o valor máximo com a dose de 106 mL p.c. 100 kg<sup>-1</sup> sementes. Assim como Petrere et al. (2008) e Denardin (2008), na cultura da soja, e Acevejo e Clavijo (2008) em plântulas de em algodão, arroz, feijão, soja e milho, também verificaram aumento significativo na massa seca de raízes com aplicação de tiametoxam.

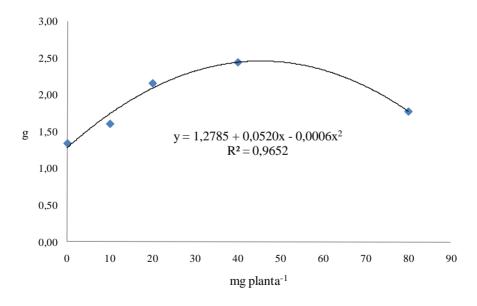


Figura 6.6 - Massa seca de raízes finas (g) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

As raízes finas são responsáveis pela absorção de água e nutrientes, sendo que o aumento destas representa maior eficiência no aproveitamento dos fertilizantes e assimilação dos elementos nutritivos.

O aumento do número de raízes finas pode contribuir para o aumento de citocinina promovido pelo tiametoxam (CASTRO, 2006). A citocinina é um hormônio vegetal sintetizado nas pontas de raízes (TAIZ; ZEIGER, 2004).

# Comprimento de raízes

A análise de regressão apresentou equações significativas (P<0,05), sendo o modelo quadrático considerado com melhor ajuste (Figura 6.7). O comprimento de raízes apresentou diferença significativa pela análise de variância, com a aplicação de tiametoxam (P<0,05) (CV% 28,9). Sendo com a dose de 47,2 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, mostrou incremento máximo de 2418,5 cm de raízes, que representou aumento de 79,6% em relação ao controle.

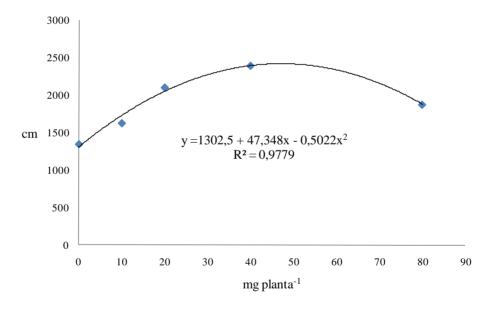


Figura 6.7 - Comprimento de raízes (cm) de cafeeiro com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas (mg p.c. planta<sup>-1</sup>)

O comprimento das raízes é muito importante para a cultura do cafeeiro, em especial, os plantios de sequeiro. Proporciona maior exploração do solo, maior absorção de nutrientes e água.

Esses resultados corroboram os de Tavares et al. (2007), que estudando o efeito de doses de tiametoxam em soja, em tratamento de sementes, verificaram que o modelo quadrático foi significativo e obteve o melhor ajuste para o comprimento de raízes, avaliado aos 30 dias da

emergência. Denardin (2008), Fernandes et al. (2008), Silva, Steckling e Bianchi (2008) também verificaram aumento significativo do comprimento de raízes em soja. Acevejo e Clavijo (2008) verificaram aumento significativo no comprimento de raízes em plântulas de algodão, arroz, milho, soja e feijão.

Esses dados mostraram que as melhores doses de tiametoxam para aumentar o número de folhas, a massa das raízes e o comprimento radicular estão entre 45 e 48 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, que representam entre 5 vezes acima da dose normalmente utilizada em mudas de café, considerando a dose normalmente utilizada de 10 mg p.c. planta<sup>-1</sup>.

#### Teores foliares de nutrientes

Os resultados das análises de nutrientes foliares se encontram na Tabela 6.1.

Tabela 6.1 - Teores de macronutrientes na matéria seca (g kg<sup>-1</sup>), em folhas de mudas de cafeeiro 'Catual' com 6 meses de idade, em função de doses de tiametoxam aplicadas

	Catual com o meses de idade, em função de doses de dametoxam aplicadas									
	Controle	10	20	40	80	CV%				
	_	Dose de p.c. planta <sup>-1</sup> (em mg)								
N	27,39 A	27,59 A	27,63 A	27,88 A	27,65 A	4,50				
P	3,03 A	3,24 A	3,63 A	3,06 A	3,39 A	13,85				
K	17,77 A	18,29 A	19,00 A	19,19 A	18,57 A	9,88				
Ca	12,13 A	12,69 A	12,88 A	12,48 A	12,18 A	11,12				
Mg	2,63 A	2,60 A	2,58 A	2,60 A	2,76 A	21,90				
S	1,14 A	1,20 A	1,23 A	1,38 A	1,12 A	10,78				

Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

As análises de nutrientes revelaram que não houve diferença significativa nos teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre com a aplicação de tiametoxam nas doses de 10 mg, 20 mg, 40 mg e 80 mg p.c. planta<sup>-1</sup> na época amostrada.

Esses dados são contrários aos encontrados por Denardin (2008) que afirmou que a aplicação de tiametoxam aumenta significativamente o teor de nitrogênio da parte aérea em plantas de soja.

Como não foi realizada adubação nitrogenada é possível que as plantas estavam com baixo suprimento deste elemento. Apesar do aumento significativo da massa e comprimento das raízes, não foi detectado aumento na absorção de nutrientes com a aplicação de tiametoxam.

#### 6.4 Conclusões

A aplicação de tiametoxam em mudas de café 'Catuaí' aumenta o número de folhas, a massa seca de raízes finas e o comprimento das raízes, obtendo-se os valores máximos desses parâmetros com as doses de 47,9 mg, 45,4 mg e 47,2 mg p.c. planta<sup>-1</sup>, respectivamente, verificado 3 meses após aplicação.

A aplicação de tiametoxam, não modifica os teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, nas condições deste experimento.

# Referências

ACEVEDO, J.C.; CLAVIJO, J. Investigación agronômica em Colombia. In: CLAVIJO, J. (Coord.). **Tiametoxam**: un nuevo concepto en vigor y produtividad. Bogotá: Syngenta, 2008. p. 41-91.

CASTRO, P.R.C. **Agroquímicos de controle hormonal na agricultura tropical.** Piracicaba: ESALQ, Divisão de Biblioteca e Documentação, 2006. 46 p. (Série Produtor Rural, 32).

DENARDIN, N.D. Ação do tiametoxam sobre a fixação biológica do nitrogênio e na promoção de ativadores de crescimento vegetal. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 74-116.

FERNANDES, F.B.; CALAFIORI, M.H.; ANDRADE, R.C.; BUENO NETO, J.R.; TEIXEIRA, N.T. Efeito de cruiser em soja plantada em solo arenoso, com diferentes adubações e correção de solo. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 218-240.

FERREIRA, D.F. SISVAR 4.6: Sistema de Análises Estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Feijão: mercados & perspectivas. In: \_\_\_\_\_. **AGRIANUAL 2009**: anuário de agricultura brasileira, São Paulo, 2009. p. 312-316.

MATIELLO, J.B.; ALMEIDA, S.R.; GARCIA, A.W.R. **O cobre na nutrição do cafeeiro**. Disponível em:<a href="http://fundacaoprocafe.com.br/downloads/Folha015Cobre.pdf">http://fundacaoprocafe.com.br/downloads/Folha015Cobre.pdf</a>>. Acesso em: 30 out. 2009.

PETRETE, V.G.; PETRETE, C.; FIORIN, J.E.; SILVA, M.T.B. Efeito de tiametoxam sobre a soja em solo argiloso na presença ou ausência de adubo e calcário. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 242-248.

SILVA, M.T.B. da; STECKLING, C.; BIANCHI, M.A. Produtividade da soja em função de épocas de semeadura, de cultivares e do inseticida tiametoxam. In: GAZZONI, D.L. (Coord.). **Tiametoxam:** uma revolução na agricultura brasileira. São Paulo: Vozes, 2008. p. 266-277.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

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.