

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO DO AMICARBAZONE E
INTOXICAÇÃO EM CANA-DE-AÇÚCAR E PLANTAS DANINHAS**

ROSILAINE ARALDI

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Agricultura).

BOTUCATU - SP
(Junho 2010)

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO DO AMICARBAZONE E
INTOXICAÇÃO EM CANA-DE-AÇÚCAR E PLANTAS DANINHAS**

ROSILAINE ARALDI

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Agricultura).

BOTUCATU – SP

(Junho 2010)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Araldi, Rosilaine, 1985-
A659a Avaliação da absorção do amicarbazone e intoxicação em cana-de-açúcar e plantas daninhas / Rosilaine Araldi. - Botucatu : [s.n.], 2010

v, 83 f. : il. color., tabs., grafs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2010
Orientador: Edivaldo Domingues Velini
Inclui bibliografia.

1. Cana-de-açúcar. 2. Plantas daninhas. 3. Fotossíntese. 4. Amicarbazone. 5. Seletividade. I. Velini, Edivaldo Domingues. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

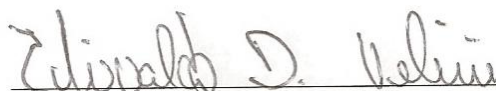
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO DO AMICARBAZONE E INTOXICAÇÃO
DA CANA-DE-AÇÚCAR E PLANTAS DANINHAS**

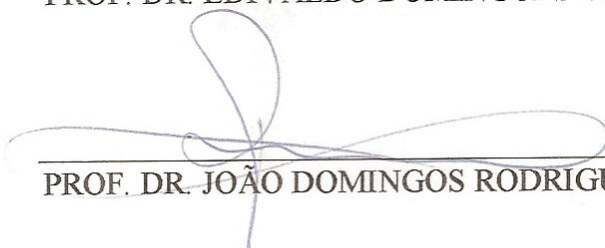
ALUNA: ROSILAINE ARALDI

ORIENTADOR: PROF. DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI



PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES



PROF. DR. FERNANDO TADEU DE CARVALHO

Data da Realização: 17 de junho de 2010.

DEDICO

Aos meus pais, Guerino Araldi e Ercília Sardinha Araldi,
Aos meus irmãos, Rosimeire, Rosiane e Rovair Araldi,
Aos cunhados e sobrinhos,

**pelo apoio incondicional em todos os momentos,
pela compreensão, amor e confiança,
além dos preciosos ensinamentos.**

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por permitir concluir mais uma etapa de minha formação profissional e pessoal e principalmente pela sua presença em todos os momentos da minha vida.

Ao Professor Dr. Edivaldo Domingues Velini, pela orientação, dedicação, incentivo e amizade dispensada durante o período de pós-graduação. E também à Maria Lúcia Bueno Trindade, pela ajuda em todos os momentos.

Aos co-orientadores Caio Antônio Carbonari e Samir Paulo Jasper pelas preciosas colaborações durante muitas etapas do experimento.

Aos amigos e companheiros de trabalho: Marcelo Girotto, Giovanna L. G. C. Gomes, Marcelo Corrêa, Ilca P. F. Silva, Leandro Tropaldi, Ferdinando M. L. Silva, Elza Alves, Alcebiades R. São José, Thiago, Rodrigo Barberis e Sidney Cavalieri pelos bons momentos de convívio e valiosas colaborações durante o período do mestrado e desenvolvimento do trabalho.

Aos funcionários do laboratório de Matologia José Roberto M. Silva, José Guilherme Cordeiro e Marcelo Siono.

Às amigas Adriana Aki Tanaka, Juliana Campana e Tâmara L. S. Silva pela amizade, companheirismo e afeto durante o período de convívio.

Aos amigos de pós-graduação: Emi Lorenzetti, Thaíse Ribeiro, Adilson Pacheco, Hélio Moreira, Thalita Sampaio, Francine Vercese, Marcela Brunelli, Rafael Christóvon, Danila Conceição, Simone Chiavatta, Andréia Carvalho, Edvar de Souza e Manoel Eusébio pelos momentos de risadas e descontrações provindos da grande e sincera amizade.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Agricultura, e à Faculdade de Ciências Agrônômicas, pela oportunidade e formação.

A CNPq, pela bolsa de estudos concedida.

A todas as pessoas que direta e indiretamente, contribuíram na realização deste trabalho.

A todos meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	1
2. SUMMARY	3
3. INTRODUÇÃO	5
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
4.1. A cana-de-açúcar	8
4.2. Interferência das plantas daninhas na cana-de-açúcar	9
4.3. Controle das plantas daninhas	11
4.4. Absorção, translocação e redistribuição de herbicidas nas plantas	14
4.5. Atuação dos herbicidas no fotossistema II	18
4.5.1. Fotossistema II (PSII).....	19
4.5.2. Emissão de fluorescência no fotossistema II	22
4.6. Medidor de fluorescência: Fluorômetro	24
4.7. Seletividade à cana-de-açúcar.....	27
5. MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1. Avaliação da taxa de transpiração em cana-de-açúcar e plantas daninhas	30
5.1.1. Análise Estatística	32
5.2. Estudo da absorção de herbicidas em cana-de-açúcar e planta daninha.....	33
5.2.1. Coleta de seiva através da bomba de Schollander	34
5.2.2. Método de quantificação dos herbicidas	37
5.2.3. Análise Estatística	41
5.3. Determinação da inibição do fluxo de elétrons em cana-de-açúcar e <i>I. grandifolia</i>	41
5.3.1. Metodologia fundamentada no uso do Fluorômetro.....	44
5.3.2. Análise Estatística	46
5.4. Recuperação do ETR após tratamento com amicarbazone no sistema radicular de plantas daninhas.....	47
5.4.1. Análise Estatística	49
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6.1. Avaliação da taxa de transpiração em cana-de-açúcar e plantas daninhas	50
6.2. Estudo da absorção de herbicidas em cana-de-açúcar e <i>I. grandifolia</i>	53

6.3. Determinação da inibição do fluxo de elétrons em cana-de-açúcar e <i>Ipomoea grandifolia</i>	55
6.4. Recuperação do ETR após tratamento com amicarbazone no sistema radicular de plantas daninhas.....	61
6.5. Considerações finais	68
7. CONCLUSÃO.....	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

AVALIAÇÃO DA ABSORÇÃO DO AMICARBAZONE E INTOXICAÇÃO EM CANA-DE-AÇÚCAR E PLANTAS DANINHAS. Botucatu, 2010. 83 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autora: ROSILAINE ARALDI

Orientador: Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

1. RESUMO

Para que ocorra o efetivo controle de plantas daninhas é preciso que o herbicida além de ser absorvido, translocado e redistribuído pelas plantas, chegue até o sítio de ação em quantidade suficiente para ser fitotóxico, ou seja, uma vez presente na célula, interfira nos processos vitais específicos da planta daninha. Como o amicarbazone é um herbicida inibidor da fotossíntese torna-se necessário que alcance os cloroplastos das células das folhas para atuar em seu sítio de ligação no fotossistema II. Como consequência da interrupção do transporte de elétrons no fotossistema II ocorre um incremento na fluorescência produzida, além da formação de radicais livres que levam a planta à morte. Ainda para o sucesso no controle químico de plantas daninhas na produção da cana-de-açúcar é importante a seletividade da cultura aos herbicidas. Há cultivares que apresentam respostas diferenciadas aos herbicidas, tendo como consequências frequentes, problemas de fitotoxicidade, podendo ocasionar redução na produtividade do canavial para as cultivares mais sensíveis. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a absorção e

intoxicação de plantas daninhas e diferentes cultivares de cana-de-açúcar submetidas ao amicarbazone. O trabalho foi desenvolvido em quatro experimentos, sendo que o primeiro foi a verificação do consumo de água através da pesagem diária para *Digitaria horizontalis*, *Panicum maximum* Jacq., *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donnell, *Ipomoea hederifolia* L. e *Brachiaria decumbens* Stapf. e para as cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486, caracterizadas como sensível, intermediária e tolerante ao amicarbazone respectivamente. No segundo experimento foi quantificada a concentração do amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone em seiva de xilema das três cultivares de cana-de-açúcar e da *Ipomoea grandifolia* através da bomba de schollander e da cromatografia e espectrometria de massas (LC-MS) para extração e quantificação dos compostos respectivamente. No terceiro experimento foi correlacionada a taxa de transporte de elétrons (ETR) com a concentração de amicarbazone absorvido pelas cultivares de cana-de-açúcar e pela *Ipomoea grandifolia*. As leituras do ETR foram realizadas com um fluorômetro portátil. E no quarto experimento foi verificada a resposta das plantas daninhas *Ipomoea grandifolia*, *Brachiaria decumbens* e *Digitaria horizontalis*, em relação ao ETR, quando submetidas ao amicarbazone em solução e na sequência à solução sem herbicida. Verificou-se através dos experimentos que a redução dos valores da ETR pode ser utilizada para indicar o nível de intoxicação de plantas daninhas e de plantas de cana-de-açúcar ao amicarbazone. A taxa de transpiração e, conseqüentemente, a taxa de consumo de água, mostraram-se determinantes da taxa de intoxicação das plantas de diferentes espécies e cultivares pelo amicarbazone. E, as concentrações de herbicidas na seiva do xilema são bastante variáveis em função do tipo de planta e do composto em contato com o sistema radicular indicando que a facilidade de absorção pelas raízes pode ser determinante para a eficácia ou seletividade de herbicidas.

.

Palavras - chave: transpiração, fotossíntese, fluorescência, seletividade, Schollander.

EVALUATION OF THE ABSORPTION OF THE AMICARBAZONE AND INTOXICATION IN SUGARCANE AND WEEDS. Botucatu, 2010. 83 p. (Master in Agronomy/Agriculture) – Faculty of Agronomic Sciences, State University of São Paulo.

Author: ROSILAINE ARALDI

Adviser: Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

2. SUMMARY

To allow for the effective control of weeds, it is necessary that the herbicide can be absorbed, translocated and redistributed to the plant reaches its site of action in sufficient quantity to be phytotoxic, i.e. once present in the cell, interfere with vital processes specific to the weed. How amicarbazone is a photosynthesis inhibitor herbicide is needed to reach the chloroplasts of leaf cells to act in its binding site in photosystem II. As a consequence of the interruption of electron transport in photosystem II is an increase in fluorescence produced, besides the formation of free radicals that lead to plant death. Even for success in the chemical control of weeds in the production of sugarcane is important to selectivity of culture to herbicides. There are cultivars that exhibit differential responses to herbicides, and, as a consequence frequent problems of phytotoxicity, getting to lead to reduced productivity of sugarcane cultivars to the most sensitive. Thus, the objective was to evaluate the absorption and toxicity of weeds and cultivars of sugarcane subject to amicarbazone. The study was conducted in four experiments, and the first was to check the consumption of water through the daily weights for *Digitaria horisonthalis*,

Panicum maximum, *Ipomoea grandifolia*, *Ipomoea hederifolia* and *Brachiaria decumbens* and for the varieties of sugarcane PO8862, SP80 3280 and RB83 5486, characterized as sensitive, tolerant and intermediate amicarbazone respectively. The second experiment measured the concentration of amicarbazone, imazapic tebuthiuron and hexazinone in xylem sap of the three varieties of cane sugar and *Ipomoea grandifolia* through Schollander pump and the chromatography and mass spectrometry (LC-MS) to extraction and quantification of compounds respectively. The third experiment was compared to the electron transport rate (ETR) with the concentration of amicarbazone absorbed by cultivars of sugarcane and *Ipomoea grandifolia*. The readings of ETR were performed with a portable fluorometer. And in the fourth experiment was verified answer weed *Ipomoea grandifolia*, *Brachiaria decumbens* and *Digitaria horionthalis* in relation to ETR, when submitted to amicarbazone in solution and in sequence to the solution without herbicide. It was found through experiments that the reduction of the values of ETR may be used to indicate the level of intoxication of weeds and plants from sugarcane to amicarbazone. The transpiration rate and consequently the rate of water consumption, were determinants of the rate of poisoning from plants of different species and cultivars by amicarbazone. And, concentrations of herbicides in the xylem sap are highly variable depending on the type of plant and the compound in contact with the root system indicating that the ease of uptake by roots can be crucial to the effectiveness or selectivity of herbicides.

Key Words: transpiration, photosynthesis, fluorescence, selectivity, Schollander.

3. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar destaca-se como uma das culturas mais importantes do Brasil, produzindo matéria-prima para a indústria sucroalcooleira e para a co-geração de energia elétrica.

Dentre os problemas existentes no cultivo de cana-de-açúcar destaca-se a interferência das plantas daninhas, responsável por até 80% das perdas de produção. A infestação das plantas daninhas é um dos principais fatores bióticos presentes no agroecossistema da cana-de-açúcar e as mesmas destacam-se pela rapidez e eficiência na utilização da água e dos nutrientes do ambiente. Assim acabam prejudicando o desenvolvimento e a produtividade da cultura, com reduções na quantidade e qualidade do produto colhido, diminuição do número de cortes viáveis e aumento dos custos de produção, além da dificuldade na colheita da cana-de-açúcar (PROCÓPIO et al., 2003).

Estima-se que existam cerca de 1.000 espécies de plantas daninhas que habitam o agroecossistema de cana-de-açúcar, distribuídas nas distintas regiões produtoras do mundo (CARVALHO et al., 2005). As espécies daninhas *I. grandifolia* e *I. hederifolia* e as gramíneas *Digitaria* spp., *P. maximum* e *B. decumbens* têm sido identificadas, atualmente, como plantas daninhas de elevada ocorrência na região sudeste e centro oeste, causando problemas na cultura de cana-de-açúcar.

Na condição atual de produção da cana-de-açúcar, o método químico é o mais utilizado no controle das plantas daninhas em razão das extensas áreas cultivadas, escassez

de mão-de-obra, facilidade de aplicação, custo e eficácia do tratamento, além de ser um método econômico e de alto rendimento em comparação com os outros (ROSSI, 2004).

Para controlar tais plantas daninhas e evitar os possíveis prejuízos à cultura da cana-de-açúcar, muitos herbicidas com diferentes ingredientes ativos e formulações estão registrados para o uso no Brasil. Dentre os herbicidas registrados para cana-de-açúcar, o amicarbazone é um dos mais importantes para o controle das plantas daninhas. Para que ocorra o efetivo controle das plantas daninhas com a aplicação de herbicidas, é preciso que o herbicida aplicado além de ser absorvido, translocado e redistribuído pelas plantas, chegue até o sítio de ação em quantidade suficiente para ser fitotóxico, ou seja, uma vez presente na célula, interfira nos processos vitais específicos da planta. Como o amicarbazone é um herbicida inibidor da fotossíntese torna-se necessário que o mesmo alcance os cloroplastos das células das folhas para atuar em seu sítio de ligação no fotossistema II.

O herbicida amicarbazone como inibidor da fotossíntese se liga à proteína D_1 , não permitindo a transferência de elétrons entre as Q_A e Q_B no fotossistema II. Uma vez ligado o herbicida à proteína e estando a planta submetida a elevadas taxas de radiação fotossinteticamente ativa, a proteína D_1 é degradada proteolicamente, dado que a Q_B reduzida reage com o oxigênio, resultando em oxigênio no estado "singlet", altamente energético. Este, por sua vez, reage com a água, formando peróxido de hidrogênio, o qual promove peroxidação de membranas e não permite com isso a redução do NADPH, o qual é essencial para a fixação de CO_2 . Por conseguinte, há redução na geração de energia, resultando em aumento da emissão de fluorescência pelo aparato fotossintético.

A emissão de fluorescência fornece informações sobre os processos fotoquímicos do PSII em plantas. Sob condição de baixa luz, ao redor de 95% dos fótons absorvidos são usados na fotoquímica, 4,5% são transformados em calor e 0,5% são reemitidos como luz fluorescente. Se todos os centros de reação do PSII estiveram fechados por um bloqueio da fotossíntese, 95-97% da energia pode ser dissipada como calor e 2,5-5,0% dissipada via fluorescência (BOLHÀR-NORDENKAMPF e OQUIST, 1993).

Ainda para o sucesso no controle químico das plantas daninhas na produção da cana-de-açúcar é importante a seletividade de herbicidas na cultura, sendo considerada a seletividade como uma resposta diferencial de diversas espécies de plantas a um determinado herbicida (OLIVEIRA Jr, 2001). Algumas cultivares apresentam respostas

diferenciadas aos herbicidas, tendo, como consequências frequentes, problemas de fitotoxicidade, chegando a ocasionar redução na produtividade do canavial para as cultivares mais sensíveis.

A seletividade de herbicidas para a cana-de-açúcar não pode ser determinada apenas pela verificação ou não de sintomas de intoxicação, pois já são conhecidos exemplos de herbicidas que podem reduzir a produtividade das culturas sem causar efeitos visualmente detectáveis e, também, outros que provocam injúrias acentuadas, mas que permitem a recuperação plena da cultura (SILVA et al., 2003). Dessa forma, quando o objetivo for avaliar os efeitos de herbicidas inibidores do fotossistema II sobre a cana-de-açúcar, é interessante que além da quantificação da produtividade final sejam incluídas também avaliações da fotossíntese através da taxa de transporte de elétrons.

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a absorção e a intoxicação do amicarbazone em diferentes cultivares de cana-de-açúcar e em plantas daninhas.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. A cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar destaca-se como uma das culturas mais importantes no Brasil, produzindo matéria-prima para a indústria sucroalcooleira e co-geração de energia elétrica. A produção mundial de cana-de-açúcar em 2007, em uma área de quase 22 milhões de hectares, foi de 1.558 milhões de toneladas, sendo o Brasil o maior produtor com 33% da produção mundial, seguido da Índia e China com 22,8% e 6,8% respectivamente (SANT'ANNA et al., 2009).

A área brasileira de cultivo da cana-de-açúcar passou de 7.070,8 mil hectares na safra de 2008 para 7.741 mil hectares na safra de 2009, sendo 44,6% da cana-de-açúcar produzida destinada a fabricação do açúcar e 55,4% destinada para o processamento do álcool (CONAB, 2009). Na região Centro-Sul, que inclui estados da região sudeste, sul e centro-oeste, cuja participação está próxima de 90% do total nacional, dados resultantes do segundo levantamento da CONAB indicam um aumento de 11,8% no volume de cana-de-açúcar a ser processada em álcool e açúcar.

Atualmente, a produção de cana-de-açúcar se expande de forma expressiva no Estado de São Paulo, que responde por cerca de 60% da produção brasileira de cana-de-açúcar (TORQUATO et al., 2009). Hoje, a cadeia de produção de cana-de-açúcar firma-se como um dos principais setores do agronegócio paulista, incorporando áreas de outras lavouras

e, principalmente, de pastagens (CAMARGO et al., 2008). Essa grande expansão da produção de cana-de-açúcar aliada a um crescimento significativo na instalação de novas unidades industriais de açúcar e álcool no Estado de São Paulo ocorre em virtude das condições favoráveis vividas pelo mercado internacional de açúcar e, principalmente, pelo aumento da demanda por etanol (CAMARGO Jr e TONETO Jr, 2009).

A cana-de-açúcar se destaca como uma das principais culturas geradoras de renda e empregos. A tendência da indústria sucroalcooleira é de grande crescimento nos próximos anos em função da necessidade mundial do uso de fontes renováveis de energia e matérias primas industriais. Espera-se que cada unidade industrial destinada à transformação da cana-de-açúcar produza além do açúcar e álcool, energia, créditos de carbono e um grande número de matérias primas industriais.

4.2. Interferência das plantas daninhas na cana-de-açúcar

Dentre os diversos problemas existentes no cultivo da cana-de-açúcar destacam-se o controle das plantas daninhas, responsável por até 80% das perdas de produção (AZANIA, 2008). Em casos com alta infestação de plantas daninhas na cana-de-açúcar, as perdas de produtividade podem chegar a 86% na produção de colmos industrializáveis (CHRISTOFFOLETI, 1997). Apesar da cultura ser altamente eficiente na utilização dos recursos disponíveis para o seu crescimento e de apresentar fisiologia do tipo C₄, ela é muito afetada pela competição com as plantas daninhas, por apresentar, na maioria das situações, brotação e crescimento inicial lento (FERREIRA et al., 2005).

A infestação com plantas daninhas é um dos principais fatores bióticos presentes no agroecossistema da cana-de-açúcar que têm a capacidade de interferir no desenvolvimento e na produtividade da cultura, com reduções na quantidade e qualidade do produto colhido, diminuição do número de cortes viáveis e aumento dos custos de produção, além da dificuldade na colheita e transporte da cana-de-açúcar (PROCÓPIO et al., 2003).

Estima-se que existam cerca de 1.000 espécies de plantas daninhas que habitam o agroecossistema de cana-de-açúcar, distribuídas nas distintas regiões produtoras do mundo (CARVALHO et al., 2005). As espécies daninhas *I. grandifolia* e *I. hederifolia* e as gramíneas *Digitaria* spp., *P. maximum* e *B. decumbens* têm sido identificadas, atualmente, como

plantas daninhas de elevada ocorrência na região sudeste e centro oeste do Brasil, causando problemas na cultura de cana-de-açúcar. Em decorrência da grande competição exercida pelas mesmas, vários estudos têm sido desenvolvidos objetivando entender melhor o comportamento destas plantas e, conseqüentemente, manejá-las de forma satisfatória.

A *I. grandifolia* é uma espécie que causa prejuízos à cana-de-açúcar, especialmente em canaviais colhidos sem a queima prévia. À medida que o sistema radicular se desenvolve, aumenta a competição com a cultura por água e nutrientes no solo. A competição ganha maior atenção quando a espécie infestante se envolve nos colmos e alcançam o ápice das plantas de cana-de-açúcar, dificultando a absorção de luz, com conseqüente prejuízo à fotossíntese, além de reduzir a eficiência operacional das colhedoras (ELMORE et al., 1990).

Em áreas de canaviais, a espécie *B. decumbens* torna-se de difícil controle, principalmente, em função de sua alta agressividade vegetativa e reprodutiva (BRAZ e DURIGAN, 1992). Os períodos de chuvas freqüentes e temperaturas elevadas favorecem a maior intensidade na germinação dessa espécie, tornando essas plantas excelentes extratoras de nutrientes do solo (BIANCO et al., 2005).

Em culturais anuais, principalmente em períodos de estiagem, a espécie de *Digitaria* spp. leva grande vantagem sobre as culturas, pois se desenvolvem rapidamente. Esta gramínea monopoliza a área infestada, pois seu hábito de crescimento permite que os finos colmos da planta mãe se alastrem, com brotação das gemas, formando novas touceiras (AZANIA et al., 2008).

Os recursos mais freqüentemente passíveis de competição das plantas daninhas com a cana-de-açúcar são os nutrientes minerais, a luz, a água e o espaço, podendo também liberar substâncias com efeitos alelopáticos, provocando sérias perdas na produtividade (VICTORIA FILHO e CHRISTOFFOLETI, 2004). Devido à agressividade das plantas daninhas, as mesmas destacam-se na rapidez e eficiência de utilização da água do ambiente, permitindo sua sobrevivência e vantagem de crescimento sobre as culturas.

O consumo de água continuamente pelas plantas é uma conseqüência da fotossíntese no ambiente terrestre. Os mecanismos de transpiração, ou seja, de transporte de água do solo para a atmosfera através da planta está associado a diferentes forças propulsoras, sendo a capilaridade o elemento chave que permite o movimento de água do solo para as folhas (TAIZ e ZEIGER, 2009). Esse processo de consumo de água pelas plantas é regulado principalmente

pelas células-guarda, as quais regulam o tamanho da fenda estomática para atender à demanda fotossintética de aquisição de CO₂, enquanto minimizam a perda de água para a atmosfera.

As plantas daninhas destacam-se quanto à eficiência dos processos fisiológicos de transpiração. A competição dessas plantas por água interfere e contribui para a redução da produtividade da cana-de-açúcar e de muitas outras culturas de interesse comercial, quando não controladas (MECKEL et al., 1984).

Procópio et al. (2004) verificaram que as espécies *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* apresentaram maior eficiência no uso da água e maior taxa de fotossíntese líquida em relação à soja e ao feijão, nos estádios iniciais de crescimento. Estas características fisiológicas juntamente com a plasticidade de resposta ao estresse do ambiente contribuem para o crescimento e perpetuação de muitas plantas daninhas em áreas agrícolas (SULTAN, 2003). Jones Júnior e Walker (1993) observaram que a absorção de água por *Xanthium strumarium* superou em duas vezes a capacidade de consumo de água da soja.

Dalley et al. (2006) observaram em trabalho desenvolvido com milho, que o conteúdo volumétrico de água no solo, em várias profundidades, foi menor na presença de plantas daninhas em relação a área com plantio de milho somente, enfatizando a maior eficiência de absorção e aproveitamento de água pelas plantas daninhas.

Dessa forma, o conhecimento do volume de água utilizado no processo transpiratório das plantas daninhas pode ser importante para justificar a maior ou menor eficiência na porcentagem de controle entre as diferentes espécies, permitindo assim, o desenvolvimento de estratégias no controle das plantas daninhas.

4.3. Controle das plantas daninhas

Os efeitos negativos proporcionados pela presença das plantas daninhas podem ser minimizados por práticas de controle ao alcance dos produtores, como método mecânicos, culturais e químicos. Na condição atual de produção da cana-de-açúcar no Brasil, o método químico é o mais utilizado em razão das extensas áreas cultivadas, escassez de mão-de-obra, facilidade de aplicação, custo e eficácia do tratamento, além de ser um método econômico e de alto rendimento em comparação com os outros (ROSSI, 2004). Em consequência disso, a cultura de cana-de-açúcar tradicionalmente plantada em grandes áreas, assimilou muito rápido

esta tecnologia, sendo hoje uma das culturas que mais consome herbicidas no Brasil (PROCÓPIO et al., 2003; ROSSI, 2004). Dentre os defensivos agrícolas, os herbicidas correspondem a 56% do volume comercializado no Brasil, sendo a cana-de-açúcar a segunda cultura em consumo deste insumo no país, ficando atrás apenas da soja (PROCÓPIO et al., 2003).

O objetivo do controle químico de plantas daninhas é a obtenção de máxima eficácia de controle com alta seletividade para a cultura, de forma econômica e com a minimização dos efeitos ambientais. Os herbicidas atualmente em uso na cultura da cana-de-açúcar apresentam variações específicas de eficácia de controle das plantas daninhas em função do grau de seletividade para a cultura, da dose, época de aplicação, estágio fenológico e condições fisiológicas e bioquímicas da cultura e das plantas daninhas. Os produtos disponíveis no mercado variam em suas características físico-químicas, que interagem com os aspectos climáticos, edáficos e culturais dos sistemas de produção (CHRISTOFFOLETI et al., 2005).

Segundo Azania (2008), o uso de herbicidas em pré ou pós-emergência, quando corretamente aplicados, é eficaz no controle das plantas daninhas. Os herbicidas, na sua maioria, utilizados para a cultura da cana-de-açúcar, são seletivos, devido a aspectos de absorção foliar e à degradação do herbicida absorvido pela planta cultivada, com controle das plantas daninhas sem comprometer o desenvolvimento e a produtividade da cultura.

Para controlar as plantas daninhas e evitar os possíveis prejuízos à cultura da cana-de-açúcar, muitos herbicidas com diferentes ingredientes ativos e formulações estão registrados para o uso no Brasil. Entre os herbicidas atualmente mais utilizados para o controle das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar estão amicarbazone, atrazine, diuron+hexazinone, tebuthiuron, imazapic, sulfentrazone, entre outros (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

Dentre os herbicidas registrados para a cultura da cana-de-açúcar, o amicarbazone “[1 H-1,2,4-trizole-1-carboxamide, 4 amino-N-(1,1-dimethyl-ethyl)-4,5-dihydro-3-(1-methyl)-5-oxo]” (Figura 1), é um dos mais importantes, sendo registrado no Brasil com nome comercial de Dinamic, sob o nº 0106010419003 (Ministério da Agricultura Abastecimento e Pecuária – MAPA), para o controle de plantas daninhas mono e dicotiledôneas. É comercializado na formulação de grânulos dispersíveis em água, na concentração de 700 g de ingrediente ativo por Kg de produto, pertence ao grupo químico das triazolinonas, possui classe toxicológica II e intervalo de segurança de 269 dias (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005; TOLEDO et al., 2004).

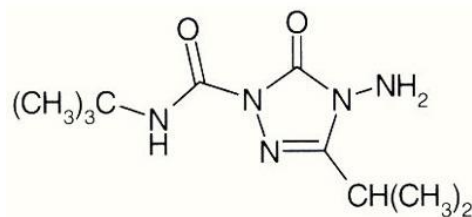


Figura 1. Fórmula estrutural do amicarbazone (ANVISA, 2009).

O amicarbazone apresenta absorção radicular e foliar, sendo recomendado para aplicações em pré-emergência e pós-emergência precoce, quando as plantas apresentarem no máximo quatro folhas, em cana planta e em cana soca. O mecanismo de ação é a inibição do fotossistema II, que inibe a fotossíntese das plantas e o transporte de elétrons, além de paralisar a fixação de CO_2 e NADPH_2 , os quais são elementos essenciais ao crescimento das mesmas (TOLEDO et al., 2004). A morte das plantas, entretanto ocorre devido à peroxidação de lipídios e proteínas, promovendo a destruição das membranas e perda de clorofila. Os principais sintomas nas plantas sensíveis são clorose, redução no crescimento e necrose foliar (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). Na aplicação em pós-emergência inicial, ocorre a rápida necrose das folhas devido à destruição das membranas celulares. Os sintomas manifestam-se inicialmente nas bordas das folhas e progridem por todo o tecido foliar, com a morte das plantas daninhas.

Segundo Toledo et al. (2004), foram mais de 313 ensaios de pesquisa e de 291 áreas demonstrativas conduzidos em várias regiões canavieiras, modalidades e condições de aplicação e safras de cana-de-açúcar, que comprovaram o bom desempenho do produto. Estes trabalhos demonstraram que o amicarbazone nas doses de 1055 a 1400 g ha^{-1} apresentou excelente eficácia agrônômica no controle de plantas daninhas monocotiledôneas, como capim-colonião (*Panicum maximum*), capim-colchão (*Digitaria ciliaris*, *Digitaria nuda*, *Digitaria horizonthalis*), capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*), capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e de dicotiledôneas, como várias espécies de corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*, *Ipomoea nil*, *Ipomoea quamoclit* e outras), melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia*), erva-de-rola (*Croton lobatus*), burra-leiteira (*Chamecyce hypsofolia*), dentre outras.

Carbonari (2007) observou que o amicarbazone aplicado em diferentes condições e épocas, permitiu obter elevados níveis de controle de *B. decumbens*, *Digitaria* spp e *I. grandifolia*. Negrisoli et al. (2007) constataram elevada eficácia do amicarbazone para o

controle de *I. grandifolia*, com alta sensibilidade aos tratamentos com o herbicida. Para *B. decumbens* os tratamentos com amicarbazone foram eficientes quando o herbicida atingiu o solo, independentemente se aplicado diretamente ou lixiviado da palha pela chuva, com 78% de controle aos 10 DAA. De acordo com Chiovato (2009), a aplicação do amicarbazone em *Digitaria horizontalis* proporcionou um controle ineficiente aos sete dias após a aplicação (DAA), evoluindo para um nível excelente de controle aos 14 DAA.

A ação seletiva do amicarbazone é primariamente determinada pela diferença de metabolismo das plantas daninhas e da cana-de-açúcar e também pelo posicionamento no solo, relacionado com a absorção do mesmo (TOLEDO et al., 2004).

4.4. Absorção, translocação e redistribuição de herbicidas nas plantas

Quando a planta está transpirando ativamente, existe um fluxo contínuo de água das raízes até a parte aérea das plantas, sendo este processo fundamental para que os herbicidas absorvidos pelas raízes sejam transportados até as folhas. A absorção de herbicidas pelas raízes não é tão limitada quanto a absorção pelas folhas, devido a pouca quantidade de substância lipídica ou ausência de cutícula nos pontos de maior absorção de água e herbicida, uma vez que estes pontos são constituídos por pêlos na extremidade da raiz, garantindo uma maior área de superfície de absorção.

A absorção de herbicidas pela planta envolve a penetração inicial por regiões metabolicamente não ativas e, posteriormente, a absorção simplástica, sendo a duração desse processo dependente da espécie envolvida, da idade da planta, das condições ambientais, da concentração do herbicida, dentre outros fatores (SILVA et al., 2007).

A maior barreira para a absorção dos herbicidas na raiz corresponde às estrias de Caspari, que são cintas de material lipofílico envolvendo as células da endoderme. Embora existam alguns herbicidas que possam cruzar estas estrias, a quase totalidade destes tem que adentrar ao simplasto, caminhando de célula a célula, através dos plasmodesmos, para que possam ultrapassar esta barreira. No centro do caule, os herbicidas devem sair do simplasto para atingir o xilema, um tecido apoplástico.

A absorção pelas raízes, combinada com a translocação pelo xilema, é particularmente importante para herbicidas inibidores da fotossíntese, compreendendo os grupos

químicos das uréias, uracilas, triazinas e triazolinonas. O xilema constitui-se em eficiente sistema de distribuição destes herbicidas nas folhas das plântulas de espécies daninhas, pois cada uma das células das folhas está conectada ao sistema radicial da planta através deste sistema condutor. Essa translocação dos herbicidas pelos tecidos vasculares é fundamental para que os herbicidas alcancem os sítios de ação, onde irão exercer sua atividade (SATICHIVI et al., 2000).

Os processos de absorção e translocação de herbicidas dependem também das características apresentadas pelos mesmos, sendo importantes no entendimento de suas propriedades. A principal característica é constituída pelas propriedades lipofílicas e hidrofílicas dos herbicidas, as quais podem ser medidas através do coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}). Este coeficiente representa a proporção entre as quantidades de um determinado herbicida que migram para um solvente orgânico apolar (geralmente o octanol) ou para a água (polar), quando adicionado e agitado em frascos onde se encontram quantidades determinadas destas substâncias, utilizadas como solventes. Quanto maior o coeficiente de partição do herbicida, maior a sua lipofilicidade, sendo verificada correlação linear inversa entre os valores de tal coeficiente e a solubilidade em água.

Briggs et al. (1982), verificaram que herbicidas com K_{ow} próximos a 100, são os que apresentam maior facilidade para atravessar a plasmalema, ou seja, entram e saem com maior facilidade no simplasto, e são mais facilmente transportados das raízes à parte aérea das plantas. Produtos mais lipofílicos, ($K_{ow} > 10.000$) ou hidrofílicos ($K_{ow} < 0,32$), foram transportados à parte aérea com grande dificuldade, apesar do grande acúmulo dos produtos lipofílicos nas raízes. Briggs (1984) observou ainda que compostos lipofílicos podem sofrer forte adsorção pela matéria orgânica do solo e que, em função disto, o transporte à parte aérea das plantas tende a ser máximo para compostos com K_{ow} entre 10 e 30, aproximadamente, apesar de os máximos transportes terem sido verificados com valores de K_{ow} próximos a 100.

O K_{ow} de alguns herbicidas utilizados na cana-de-açúcar é de 16 para o amicarbazone, 11,3 para hexazinone, 671 para o tebuthiuron e em torno de 0,01 para o imazapic (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). De acordo com a observação de Briggs (1984) é possível inferir que o amicarbazone apresente melhor condição de ser absorvido pelas plantas devido à faixa de abrangência ótima do K_{ow} de 10 a 30.

Feng et al., (1998) verificaram que a capacidade de absorção do glyphosate foi 10% maior para o milho do que para *Abuthilon theoprasti*, uma dicotiledônea.

Taxa similar da absorção do milho foi relatado para outras monocotiledôneas, incluindo *Echinochloa crusgalli* (DEVINE et al., 1983). Maiores taxas relativas de absorção foram encontradas para monocotiledôneas anuais quando comparada com espécies de folhas largas (FENG et al., 1998) podendo explicar a maior eficácia do glyphosate em monocotiledôneas.

Dentre os herbicidas utilizados no controle de *Cirsium arvense* (planta daninha perene considerada agressiva para as culturas dos Estados Unidos e Canadá) tem-se o clopiralide (DONALD, 1994). Devido e Vandeborn (1985) estudando o controle da espécie, reportaram que 99% do clopiralide foi absorvido em 144 horas após a aplicação. Para a espécie *Centaurea solstitialis*, 75% do clopiralide foi absorvido em duas horas após a aplicação (VALENZUELA-VALENZUELA et al., 2001). Entretanto, a absorção e translocação do picloram em *Cirsium arvense* apresentaram comportamento diferente, sendo que somente 12% do picloram aplicado foi absorvido pelas plantas em 24 horas após a aplicação (SHARMA et al., 1971).

Quanto à mobilidade ou redistribuição dos herbicidas pelas plantas tem-se o floema, que é o responsável pelo transporte dos produtos da fotossíntese das folhas adultas para as áreas de crescimento e armazenamento, além de transmitir sinais entre fontes e drenos na forma de moléculas reguladoras e redistribuir a água e vários compostos pela planta, inclusive os herbicidas. Todas essas moléculas parecem se mover com os açúcares transportados (TAIZ e ZEIGER, 2009). Os compostos a serem redistribuídos, alguns dos quais inicialmente chegando às folhas adultas através do xilema, podem ser transferidos das folhas sem modificações ou serem metabolizados antes da redistribuição.

A água é quantitativamente a substância transportada em maior abundância no floema. Dissolvidos na água encontram-se os solutos a serem translocados, constituídos principalmente de carboidratos. Além dos carboidratos, são encontrados, os ácidos orgânicos e aminoácidos, especialmente glutamato e aspartato e suas amidas, hormônios, solutos inorgânicos e, também, moléculas ativas estranhas ao organismo, como os herbicidas. A taxa de absorção e de translocação dessas substâncias determina a sua efetividade. Um exemplo é o herbicida glyphosate, que é altamente móvel no floema e, quando aplicado às folhas, transloca-se para as regiões meristemáticas e inibe o desenvolvimento da planta (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os herbicidas podem se mover a pequenas distâncias por difusão, mas, para que tenham distribuição eficiente na planta, devem penetrar nos tecidos condutores. Quando

o transporte do herbicida está associado ao transporte de carboidratos, é importante observar esse transporte de acordo com o desenvolvimento da planta. Os materiais no floema não são translocados exclusivamente em uma direção, e o processo de translocação também não é definido pela gravidade. Na realidade, os materiais são translocados de áreas de suprimento, conhecidas como fontes, para áreas de consumo, conhecidas como drenos. As fontes incluem alguns órgãos, tipicamente folhas adultas, que são capazes de produzir fotoassimilados além da suas próprias necessidades. Os drenos incluem órgãos não fotossintéticos da planta e aqueles que produzem uma quantidade de fotoassimilado insuficiente para o seu crescimento ou necessidade de estoque, como folhas imaturas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Carretero (2008) trabalhando com a aplicação do lactofen em plantas de soja, verificou resposta distinta do herbicida em função da idade fisiológica das folhas. As folhas novas tratadas foram mais sensíveis a inibição da Protox quando comparadas com folhas maduras tratadas. No intervalo de seis horas após a aplicação, a folha nova apresentou variações significativas em vários parâmetros em relação ao controle, como diminuição da concentração de clorofila *a* e carotenóides, aumento do extravasamento de eletrólitos, reduções nos parâmetros fotossintéticos e na fluorescência da clorofila *a*. A diminuição do último parâmetro indicou que o fluxo de elétrons da cadeia transportadora de elétrons foi afetado. A mobilidade e severidade do lactofen em folhas de soja com diferentes idades foram observadas por Witchert e Talbert (1993), que verificaram que as folhas maduras apresentaram áreas com bronzeamento e eventuais pontos necróticos, enquanto que as folhas novas (em expansão) apresentaram grande porcentagem de áreas necrosadas.

Para que ocorra o efetivo controle das plantas daninhas, é preciso que o herbicida além de ser absorvido, translocado e redistribuído pelas plantas, chegue até o sítio de ação em quantidade suficiente para ser fitotóxico, ou seja, uma vez presente na célula, interfira nos processos vitais específicos da planta. Como o amicarbazone é um herbicida inibidor da fotossíntese torna-se necessário que o mesmo alcance os cloroplastos das células das folhas para atuar em seu sítio de ligação no fotossistema II.

4.5. Atuação dos herbicidas no fotossistema II

A fotossíntese é uma reação química dirigida pela energia solar e que sustenta a sobrevivência de praticamente toda vida no planeta. O mais ativo dos tecidos fotossintéticos das plantas superiores é o mesofilo e a bainha do feixe vascular para plantas do tipo C_3 e C_4 respectivamente. As células desses tecidos possuem muitos cloroplastos, os quais contêm os pigmentos verdes especializados na absorção de luz, as clorofilas. Durante a fotossíntese, a planta utiliza energia solar para oxidar a água, conseqüentemente liberando oxigênio, e para reduzir dióxido de carbono, formando assim grandes compostos carbonados, sobretudo açúcares (TAIZ e ZEIGER, 2009).

As reações primárias da fotossíntese nas plantas, algas e cianobacterias ocorrem nos complexos de proteína do fotossistema I e II, localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos. O estudo do mecanismo fotoquímico do fotossistema II tem sido foco de pesquisa na fotossíntese, porque esse complexo é o único na natureza que permite a evolução do oxigênio pela divisão da água (RENGER, 1993).

Os produtos finais do transporte de elétrons da fotossíntese nos tilacóides são compostos de alta energia ATP e NADPH, utilizados para síntese de açúcares nas reações de fixação do carbono no estroma do cloroplasto. Esses fotoassimilados, produzidos na fotossíntese, são direcionados para o crescimento das plantas, sendo a sua partição, principalmente para os órgãos reprodutivos, um fator determinante da produtividade (BACARIN e MOSQUIM, 2002).

A captura e o armazenamento de energia luminosa pelas folhas das plantas superiores são mediados por uma intrincada associação entre complexos de pigmentos captadores de luz e um transporte seqüencial de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I. A energia absorvida pela luz é utilizada para impulsionar essa transferência de elétrons através de uma série de compostos que atuam como doadores e aceptores desses elétrons. A maioria dos elétrons, em última análise, reduz $NADP^+$ a NADPH e oxida H_2O a O_2 . A eficiência da utilização da luz por cada fotossistema regula as reações de fixação de CO_2 e geração de ATP pelas reações luminosas.

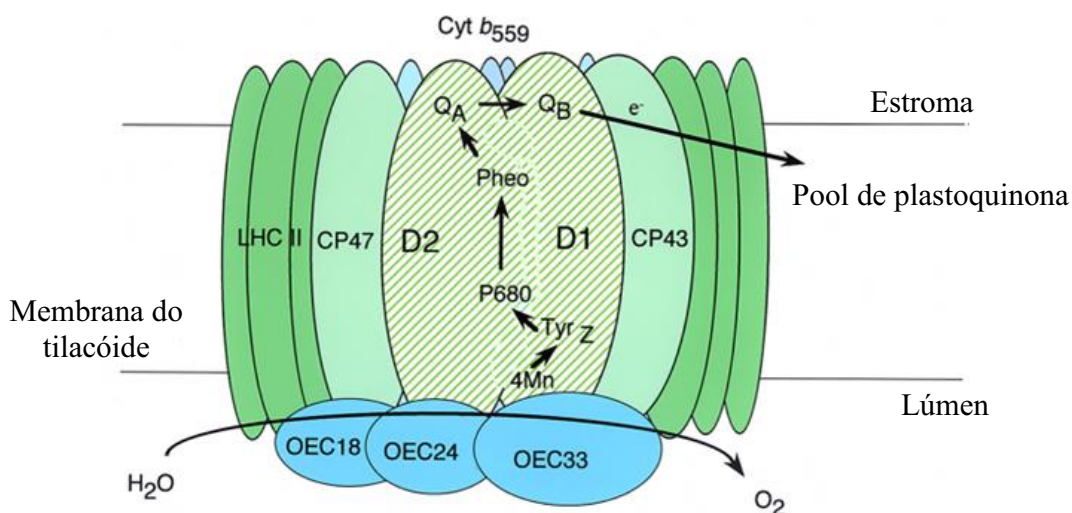
A energia luminosa absorvida no fotossistema excita as moléculas de clorofilas ali presentes para impulsionar a fotossíntese, que passam para um estado instável e rapidamente liberam parte de sua energia ao meio como calor, sem a emissão de fóton.

Entretanto, a clorofila excitada pode também perder energia por fluorescência, reemitindo fótons e, assim, retornando ao estado basal. Outra parte da energia pode ser utilizada pelas reações fotoquímicas ou ainda ser transferida fracamente para o PSI, pelo contato entre moléculas de clorofilas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

4.5.1. Fotossistema II (PSII)

O PSII é o local de oxidação da água na fotossíntese. A energia luminosa, capturada pelas clorofilas e carotenóides antenas, é finalmente transferida para o centro de reação do PSII, onde ocorre a separação de cargas entre o doador e receptor de elétrons (DINER e BABCOCK, 1996).

O PSII é um complexo de multi-subunidades localizado nos tilacóides dos cloroplastos, e é composto por mais de 30 proteínas codificadas por genomas do núcleo e cloroplasto (BARBER, 1998). Dessas subunidades de proteínas, as proteínas intrínsecas D₁ e D₂ são codificadas pelo cloroplasto, ambas com massa molecular de 32 kDa, sendo de importância especial, além dos componentes redox necessários nas reações fotoquímicas, como o grupo de quatro manganês, duas tirosina, quatro a seis moléculas de clorofila a, duas feofinas, e plastoquinona Q_A e Q_B. Um Fe não heme, localizado entre Q_A e Q_B não participa diretamente na transferência de elétrons, mas é vital para o processo de transferência. Um β -caroteno também pode ser encontrado no centro de reação e se comporta como um protetor (Figura 2).



Complexo do fotossistema II

Figura 2. Diagrama esquemático representando a estrutura do complexo do PS II. YAMAMOTO et al. (1998).

De acordo com a cristalografia, as proteínas D₁ e D₂ consistem cada uma de cinco hélices de membranas interconectadas por dobras, com caudas contendo N terminal e C terminal expostas para o estroma e lúmen do tilacóide, respectivamente. A região da D₁ voltada para o estroma estende da hélice IV do C terminal até a hélice V do N terminal (IV-V loop), da qual participa na ligação com a Q_B e muitas classes de herbicidas que inibem o transporte de elétrons (TREBST, 1986). A região do loop IV-V é dividida em duas partes, uma está envolvida com a degradação da D₁ *in vivo* e a outra funciona ligando-se a herbicidas e quinonas (PEREWOSKA et al., 1994).

O grupo de quatro átomos de Mn acumula equivalentes oxidativos produzidos nas reações fotoquímicas e é responsável pela oxidação da água. O grupo de Mn aparece ligado à proteína D₁ no sítio luminal. Há também três proteínas externas do PS II, OEC33, OEC24 e OEC18, que unem a parte central do PS II na superfície do lúmen para regular o processo de oxidação da água.

Um destaque pronunciado do PSII é a susceptibilidade aos danos causados pelo excesso de luz. As proteínas D₁ danificadas são degradadas rapidamente (OHAD et al., 1984) e substituídas por novas proteínas sintetizadas (MATOO et al., 1984). Esse processo é muito importante para superação do PSII. A degradação das proteínas D₁ pelas proteases foi

sugerida por Virgin et al. (1990), baseado em observações em que a proteína CP43 do complexo PSII possui atividade protease, que participa na degradação da proteína D₁.

As clorofilas a e β -carotenos são encontradas, vinculadas principalmente às proteínas CP47 e CP43. As CP43 são facilmente liberadas do complexo PSII durante a fotoinibição, isso possibilita que a CP43 atue como transportadora da proteína D₁ danificada (RINTAMAKI et al., 1996).

O desempenho do PSII em converter energia luminosa em química para o uso na redução de CO₂ em carboidratos, pode ser alterado em função de estresses ambientais, como exemplo a atuação de herbicidas inibidores do PSII.

A inibição do fluxo de elétrons no PSII, quando da aplicação de alguns herbicidas que se ligam ao sítio de ação Q_B, foi postulado por Van Rensen e demonstrado por Velthuys (1981). Esse local de ligação foi identificado na proteína D₁ do PSII pela fotoafinidade com a luz ultravioleta sensível a azidoderivados radiativos dos herbicidas inibidores do transporte de elétrons (PFISTER et al., 1981). A fotoafinidade tornou-se um potente método para identificar aminoácidos em ligações com inibidores (OETTMEIER, 1992). Com o entendimento do mecanismo de ação, o diuron tornou-se a principal ferramenta para avaliar o funcionamento do PSII, assim como a atrazine, simazine e outros herbicidas.

Muitas moléculas de herbicidas inibem o transporte de elétrons da fotossíntese pela ligação a proteína D₁, localizada no PSII do cloroplasto (METS e THIEL, 1989). Esses herbicidas aparentemente competem pelo sítio de ligação com a plastoquinona (Q_B protonada) que é oceptor natural de elétrons (TISCHER e STROTMANN, 1977). Esse sítio de ligação na proteína D₁ é sensível a muitas classes de produtos químicos com características estruturais diferentes, como as triazinas (EGNER et al., 1992), uréias substituídas (CAMILLARI et al., 1987) e quinonas naturais ou sintéticas.

Como todos esses compostos unem-se ao sítio de ligação da Q_B, tem sido mostrado que há interação entre diferentes aminoácidos dentro da concavidade de ligação na proteína D₁ (ASTIER et al., 1984). Os aminoácidos envolvidos com as ligações em substrato natural e inibidores têm sido determinados (SOBOLEV et al., 1995; KLUTH et al., 1991).

Usando o pacote de modelo molecular SYBYL, foi conduzida uma série de análise de ligações de herbicidas no PSII (MACKAY e O'MALLEY, 1993). A interação intermolecular de muitos herbicidas com o PSII indica que a força de van der Waals é a principal

responsável pela estabilização dos herbicidas no domínio da Q_B . Os herbicidas também podem ter os hidrogênios das moléculas ligados aos resíduos de aminoácidos via água molecular, assim como no caso da ligação das triazinas no centro de reação de bactérias (LANCASTER et al., 1995).

Quanto à diferença estrutural nas moléculas de herbicidas, a lipofilicidade das moléculas, representada pelo comprimento da cadeia lateral de hidrocarbonetos, tem um grande impacto no sítio de ligação da proteína D_1 . Os compostos com maior número de carbonos tendem a produzir mais derivados ativos. A cadeia lateral do n-propil promove lipofilicidade suficiente para permitir a penetração dos triazóis na membrana, a fim de alcançar o local de ligação da Q_B , considerando que a atividade máxima foi obtida com a cadeia lateral do isopropil e n-butil (DAYAN et al., 2000).

O herbicida amicarbazone é um inibidor da fotossíntese que se liga à proteína D_1 , não permitindo a transferência de elétrons entre as Q_A e Q_B no PSII. Uma vez ligado o herbicida à proteína e estando a planta submetida a elevadas taxas de radiação fotossinteticamente ativa, a proteína D_1 é degradada proteolicamente, dado que a Q_B reduzida reage com o oxigênio, resultando em oxigênio no estado "singlet", altamente energético. Este, por sua vez, reage com a água, formando peróxido de hidrogênio (YAMAMOTO, 2001), o qual promove peroxidação de membranas e não permite com isso a redução do NADPH, o qual é essencial para a fixação de CO_2 (BREITENBACH et al., 2001). Por conseguinte, há redução na geração de energia, resultando em aumento da emissão de fluorescência.

4.5.2. Emissão de fluorescência no fotossistema II

A emissão de fluorescência fornece informações sobre os processos fotoquímicos do PSII. Sob condição de baixa luz, ao redor de 95% dos fótons absorvidos são usados na fotoquímica, 4,5% são transformados em calor e 0,5% são reemitidos como luz fluorescente. Se todos os centros de reação do PSII estiveram fechados por um bloqueio da fotossíntese, 95-97% da energia pode ser dissipada como calor e 2,5-5,0% dissipada via fluorescência (BOLHÀR-NORDENKAMPF e OQUIST, 1993).

A medida da fluorescência das clorofilas do PSII, entretanto, é muito variável, pois é extremamente influenciada pelo estado fisiológico do vegetal, podendo, assim,

ser utilizada como técnica para monitoramento de coberturas vegetais ou para prever a fixação fotossintética de CO₂. A capacidade fotossintética, entretanto, diminui em proporção ao tamanho e severidade do dano sofrido pela planta. Dependendo do tipo de dano, pode haver recuperação da capacidade fotossintética em poucas horas ou dias ou mesmo a morte do tecido.

A relação inversa entre fluorescência e atividade fotossintética foi primeiramente observada e descrita por Kaustsky e pode ser usada para estudar a atividade fotossintética potencial das folhas e para detectar os efeitos de estresses em plantas. Um sinal típico de indução da fluorescência em luz contínua é conhecido como “Efeito Kautsky”, onde após um máximo de fluorescência acontece uma atenuação (KRAUSE e WEIS, 1991).

No processo fotossintético, a luz é absorvida por pigmentos do complexo antena, que excitados, transferem energia para os centros de reação dos fotossistemas II e I (YOUNG e FRANK, 1996). Quando ocorre excesso de energia, esta pode ser dissipada na forma de fluorescência (KRAUSE e WINTER, 1996). Portanto, uma das formas de monitoramento da inibição ou redução na transferência de elétrons entre os fotossistemas da planta sob aplicação de herbicida, que pode ser observada ainda em folhas intactas, é a fluorescência da clorofila (MAXWELL e JOHNSON, 2000), em que a redução na dissipação da energia pelo processo fotoquímico é refletida por incremento correspondente na fluorescência.

A análise da fluorescência da clorofila vem sendo largamente utilizada no entendimento dos mecanismos da fotossíntese propriamente dito, bem como na avaliação da capacidade fotossintética alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas possam passar, como temperatura (OLIVEIRA et al., 2002), radiação (MAZZA et al., 2000), deficiência hídrica (RODEN e BALL, 1996), salinidade (BELKHODJA et al., 1994), presença de insetos (BOWN et al., 2002) ou fungos (PETERSON e AYLOR, 1995), herbicidas (IRELAND et al., 1986) etc. Para esse tipo de avaliação são utilizados fluorômetros em aplicações que variam desde a rápida identificação de injúrias causadas ao aparelho fotossintético, mesmo quando o sintoma ainda não é visível, até a análise detalhada da alteração da capacidade fotossintética da planta. Uma das grandes vantagens do uso deste método é o fato de a medição não ser destrutiva, sendo possível de se realizar tanto em laboratório quanto em campo.

Após muitos anos de estudos, a fluorescência da clorofila tem sido representada pelas mudanças na sanidade e funcionamento do processo fotossintético quando plantas são submetidas a herbicidas. Isso inclui alterações nas reações da oxidação da água,

separação de cargas, transporte de elétrons, desenvolvimento do gradiente eletroquímico, mecanismos de fotoproteção e mudanças do pH no lúmen do tilacóide. Ou seja, cada mudança na planta afetada pela abertura do estômato e trocas gasosas com a atmosfera, reflete em mudanças nas características de fluorescência da folha.

Outras consequências com a aplicação dos herbicidas inibidores do PSII são as moléculas de clorofila carregadas mais energeticamente (^3Chl). Nesse estado, a clorofila dá origem a uma reação em cadeia formando radicais livres (R^*) como: oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), superóxido (O_2^-), radical hidroxila (OH^*) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que irão peroxidar os lipídios das membranas dos tilacóides, formando novos radicais lipídicos, também capazes de oxidar outros lipídios de membranas dos cloroplastos, das células levando assim as plantas tratadas à morte (FUERST e NORMAN, 1991; VIDAL, 1997).

Mesmo as plantas apresentando os mecanismos que evitam o estresse oxidativo produzido normalmente em pequeno grau durante a fotossíntese, com a aplicação do amicarbazone que inibe o transporte de elétrons no PSII, a quantidade de radicais produzidos ultrapassa a capacidade de destoxificação desses mecanismos. Entre eles estão a ação de enzimas antioxidantes, dos carotenóides e a ação do α -tocoferol (vitamina E), que protege contra a peroxidação lipídica e do OH^* , ambos presentes nas membranas do tilacóide (GRONWALD, 1994; SALISBURY e ROSS, 1994), além do ácido ascórbico (FOYER et al., 1994).

4.6. Medidor de fluorescência: Fluorômetro

Quando o transporte de elétrons é bloqueado, com destaque para ação de herbicidas, um incremento proporcional na energia excitada absorvida é reemitida como fluorescência. Miles e Daniels (1973) detectaram trocas na fluorescência de folhas resultante da inibição do transporte de elétrons por muitos herbicidas, incluindo o simazine e diuron.

Para os primeiros testes, através de um sistema simples de filtro de cor e fotografia colorida foi possível registrar o incremento na intensidade da fluorescência. Com o passar dos anos, equipamentos de detecção eletrônica foram desenvolvidos e permitiram avaliações qualitativas mais refinadas da cinética da fluorescência da clorofila em folhas intactas (DUCREST e GASQUEZ, 1978). O efeito inibitório da atrazine e diuron na taxa de transporte de

elétrons na fotossíntese foi documentado *in vitro* (ARNTZEN et al., 1978) e *in vivo* (AHRENS et al., 1981) em ensaios com fluorescência.

Em plantas sob condições de estresse, a menor eficiência fotossintética pode ser causada pela menor dissipação de energia através do transporte de elétrons, ocasionando um declínio na eficiência quântica do PSII e na taxa de transporte de elétrons (ETR), sendo às vezes associados ao aumento na extinção não-fotoquímica da fluorescência e no “pool” de zeaxantina (HAVAUX e NIYOGI, 1999; OSMOND, 1994).

A análise das mudanças da fluorescência da clorofila oferece muitas possibilidades não só para determinar o local de inibição do transporte de elétrons pelo herbicida, mas também para relacionar as injúrias do herbicida com taxa de absorção e/ou concentração aplicada. Isso tem uma particularidade desejável com herbicidas pós-emergentes, visto que o desempenho do herbicida pode ser afetado por adjuvantes, condições ambientais, e a idade da folha (RICHARD Jr et al., 1983).

Em trabalho desenvolvido por Dayan et al. (2009), foi monitorado o ETR em plantas de milho, *Digitaria sanguinalis* e *Abutilon theophrasti*, quando submetidas à aplicação de amicarbazone e atrazine. A taxa de transporte de elétrons para *Digitaria sanguinalis* e *Abutilon theophrasti* foi completamente inibida com oito horas após a aplicação do herbicida, enquanto o milho manteve uma redução de aproximadamente 70% e 30% do ETR fotossintético com 24 horas após a aplicação do amicarbazone e atrazine respectivamente, sendo o milho mais tolerante aos herbicidas testados quando comparado às plantas daninhas.

Van Oorschot e Van Leeuwen (1992) conduziram experimento com folhas destacadas de *Alopecurus myosuroides* (planta daninha bastante prejudicial aos cereais de inverno da Inglaterra e de difícil controle devido à seleção de biótipos resistentes) submetidas ao chlortoluron. As folhas das plantas resistentes mostraram parcial a completa recuperação da inibição do transporte de elétrons, enquanto as plantas susceptíveis não mostraram qualquer recuperação do transporte de elétrons no PSII.

Em estudos de seletividade, plantas de abacaxi que receberam aplicação de amicarbazone apresentaram redução nos teores de clorofilas, mas não demonstraram toxicidade visível. No entanto, pela análise dos dados de fluorescência foi verificado que o amicarbazone proporcionou o não aproveitamento de parte da energia que chegava ao complexo-antena, uma vez que este bloqueou o fluxo de elétrons no PSII em nível de proteína D₁, a energia foi dissipada na forma de fluorescência. Houve uma queda brusca na eficiência quântica do PSII

das plantas de abacaxi aos cinco dias após aplicação, porém, após 10 dias, a razão F_v/F_m voltou a subir, sugerindo que o herbicida tenha causado dano reversível ao aparato fotossintético e que a planta tenha conseguido se recuperar sem sintomas aparentes (CATUNDA et al., 2005).

Em um trabalho realizado com aplicação de atrazine e diuron em folhas de soja (*Glycine max*) houve uma diferença na resposta da atividade do PSII. A inibição significativa do transporte de elétrons nas folhas de soja foi detectada em 0,5 horas após a aplicação da atrazine não incrementando mais a inibição com duas horas após. E para o diuron, não foi detectada diferença significativa até uma hora após a aplicação (RICHARD Jr et al., 1983). Em ambos os casos, a inibição foi detectada antes das injúrias do sintoma visual do herbicida aparecer. A diferença na resposta deve ser devido à diferença de penetração e/ou a taxa do herbicida absorvido que alcança o mecanismo de ação.

O chlortoluron é um inibidor do transporte de elétrons no PSII, visto que o herbicida liga na partícula da proteína D_1 bloqueando o transporte de elétrons entre a Q_A e Q_B (JANSEN et al., 1993; RETZINGER e MALLORY-SMITH, 1997). Skórska e Murkowski, (2009), estudando a aplicação isolada do chlortoluron em plantas de aveia selvagem (*Avena fatua*) e cultivada (*Avena sativa*), observaram uma considerável diminuição do transporte de elétrons nas folhas de *Avena fátua*, com 26% do valor de ETR em relação ao da testemunha, enquanto que para a aveia cultivada não ocorreu mudança na capacidade de transporte de elétrons no PSII.

Guidi et al. (2000) observaram diminuição no transporte de elétrons em folhas de *Phaseolus vulgaris* tratadas com paraquat. Assim como Chagas (2007) trabalhando com a cultivar SP80 3280 de cana-de-açúcar verificou diminuição no transporte de elétrons com aplicação de paraquat, ou seja, um decréscimo na eficiência quântica que danifica o aparato fotossintético. Esses autores inferiram que o paraquat foi capaz de induzir danos ao PSII, excedendo a capacidade fotoprotetora da planta.

Em trabalho desenvolvido por Souza et al. (2009) foi avaliada a tolerância de cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós emergência na soqueira da cultura, sendo detectada uma pequena redução no transporte de elétrons do PSII na fase inicial de desenvolvimento da cultura, o que não foi suficiente para prejudicar a altura, estande, produção e qualidade tecnológica das diferentes cultivares de cana-de-açúcar estudadas.

4.7. Seletividade à cana-de-açúcar

A seletividade de herbicidas é a base para o sucesso do controle químico de plantas daninhas na produção das culturas, sendo considerada como uma resposta diferencial de diversas espécies de plantas a um determinado herbicida (OLIVEIRA Jr, 2001). Um exemplo foi a aplicação dos herbicidas imazapyr e tebuthiuron na cultivar RB83 5089 de cana-de-açúcar, na qual ocorreu uma leve intoxicação na fase inicial do desenvolvimento e total recuperação da cultura aos 100 dias após o tratamento, sem prejuízo para produtividade e qualidade da matéria-prima e com um controle efetivo das plantas daninhas presentes na área (AZANIA et al., 2001).

As culturas podem apresentar seletividade devido à rapidez que metabolizam os herbicidas através de reações oxidativas ou hidrolíticas, seguidas por conjugação com açúcares ou peptídeos e sequestro vacuolar dos produtos polares, ao passo que em plantas daninhas estas reações de desintoxicação se processam de forma mais lenta (CATANEO e CARVALHO, 2008). Uma planta capaz de tolerar um herbicida é capaz de alterar ou degradar a estrutura química do mesmo através de reações que resultam em substâncias não tóxicas.

O mesotrione é um herbicida que quando aplicado em espécies tolerantes como o milho é rapidamente metabolizado para formas de metabólitos não ativo antes mesmo de ser translocado na planta (SENSEMAN, 2007; ABIT e AL-KHATIB, 2009). Ainda para o milho há enzimas como a glutathione S-transferases que catalisam a conjugação do tripeptídeo glutathione com uma variedade de herbicidas acetochlor, atrazine, oxyfluorfen (CATANEO et al., 2002) e glyphosate (CATANEO et al., 2003), permitindo assim, o transporte do conjugado de glutathione para o vacúolo através de bombas dependentes de ATP da subclasse de transportador ABC tornando reduzida a toxicidade (SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ et al., 2001).

Em relação ao metabolismo do chlortoluron, Gonneau et al. (1988) mostraram que no mínimo dois sistemas enzimáticos podem participar no metabolismo em espécies tolerantes, com destaque para a hidroxilação do anel metil e pela N-desalquilação da molécula do herbicida. E de acordo com Gorinova et al. (2005), o aumento da atividade da monooxigenase P-450 no metabolismo das plantas pelo chlortoluron pode resultar em plantas tolerantes ao herbicida. Em plantas de trigo, cevada e algodão tolerantes ao chlortoluron, ocorre uma rápida oxidação do grupo anel metil resultando primeiramente em álcool benzil não fitotóxico e subsequente em derivados do ácido benzóico que formam a glicose conjugada. Em

Alopecurus myosuroides espécie susceptíveis e aveia selvagem o caminho inverso da N-desmetilação é favorecido, e o metabólito resultante retém a fitotoxicidade (RYAN et al. 1981).

Em relação à seletividade de herbicidas para cana-de-açúcar, há cultivares que apresentam respostas diferenciadas aos herbicidas, tendo, como conseqüências freqüentes, problemas de fitotoxicidade, chegando a ocasionar redução na produtividade do canavial para as cultivares mais sensíveis (PROCÓPIO et al., 2003). O comportamento diferenciado de genótipos de cana-de-açúcar diante de diversos herbicidas (CONSTANTIN, 1997; VELINI et al., 2000), associado ao estágio de desenvolvimento da cultura (WIXSON e SHAW, 1991), tem sido fator importante na tolerância de cultivares a herbicidas.

Velini et al. (2000) verificaram que a mistura dos herbicidas oxyfluorfen+ametryn aplicada em dez cultivares de cana-de-açúcar não causou efeitos sobre a produtividade e qualidade da matéria prima do colmo. Entretanto, Azania et al. (2005) ao testarem os herbicidas diuron+hexazinone, azafenidin+hexazinone, metribuzin e isoxaflutole verificaram que esses produtos alteraram de forma negativa a qualidade da matéria prima da cana-de-açúcar. Segundo Azania et al. (2005) os efeitos negativos dos herbicidas ocorrem, principalmente, quando as plantas de cana-de-açúcar encontram-se em estádios jovens. Essa intoxicação, dependendo do genótipo utilizado e das características do herbicida utilizado, além de afetar a fotossíntese em sua fase inicial (transporte de elétrons no PSII) pode afetar a produtividade e a qualidade da matéria prima da cana-de-açúcar, como as porcentagens de sólidos solúveis totais do caldo (Brix), fibra, sacarose aparente (PCC) e pureza do caldo (Velini et al., 2000).

Ferreira et al. (2005) ao trabalharem com 15 genótipos de cana-de-açúcar, verificaram que os cultivares apresentaram sensibilidade diferencial à mistura de ametryn+trifloxysulfuron-sodium, o cultivar RB85 5113 demonstrou alta sensibilidade, já os cultivares SP80 1842, SP79 1011 e RB95 7689 apresentaram média sensibilidade à mistura de herbicidas.

O conhecimento da eficiência do uso da água pelas cultivares ajuda também a selecionar melhores as plantas para determinadas condições (OLBRICH et al., 1993). No caso, se uma cultivar de cana-de-açúcar consumir menos água pode ser relacionada com maior seletividade a alguns herbicidas, devido à menor translocação do produto até o local de ação do herbicida na planta, tornando-se mais interessante.

A seletividade a herbicidas não pode ser determinada apenas pela verificação ou não de sintomas de intoxicação, pois já são conhecidos exemplos de herbicidas que podem reduzir a produtividade das culturas sem causar efeitos visualmente detectáveis e, também, outros que provocam injúrias acentuadas, mas que permitem a recuperação plena da cultura (SILVA et al., 2003). Dessa forma, quando o objetivo for avaliar os efeitos de herbicidas sobre a cana-de-açúcar, é interessante que além da quantificação da produtividade final seja incluída também avaliações da fotossíntese através da taxa de transporte de elétrons.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi direcionado ao estudo da absorção e ação do amicarbazone em cana-de-açúcar e plantas daninhas. Para simplificar a elaboração do texto, a pesquisa foi dividida em quatro experimentos, cujos principais objetivos e informações sobre metodologias estão apresentados a seguir.

5.1. Avaliação da taxa de transpiração em cana-de-açúcar e plantas daninhas

Esse primeiro experimento teve como objetivo determinar a taxa transpiratória de três cultivares de cana-de-açúcar e de cinco espécies de plantas daninhas.

No presente trabalho se utilizou as cultivares de cana-de-açúcar PO 8862, SP80 3280 e RB83 5486, sendo caracterizadas como cultivar de baixa, média e alta sensibilidade ao herbicida amicarbazone, respectivamente (PROCÓPIO et al., 2008). Já as plantas daninhas utilizadas foram *B. decumbens* (capim-braquiária), *I. grandifolia* (corda-de-viola), *I. hederifolia* (corda-de-viola), *P. maximum* (capim-colonião) e *D. horisonthalis* (capim-colchão).

As plantas foram cultivadas em substrato e 30 dias após o plantio as mesmas foram coletadas cuidadosamente e tiveram suas raízes lavadas (Figura 3). As plantas daninhas foram colocadas em tubos falcon de 50 ml e a cana-de-açúcar em recipientes de 500 ml. Foram isoladas as superfícies dos recipientes com papel alumínio para evitar a evaporação e garantir que a única saída de água do sistema fosse pela transpiração. Foi mantido um frasco com

água e papel alumínio para aferir a eficiência do método e evitar a evaporação de água. O consumo de água foi mensurado pela pesagem diária de cada um dos recipientes. Ainda para cana-de-açúcar foi necessário a aeração do sistema para manter as plantas em condições normais de metabolismo (Figura 4). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições.

As plantas foram mantidas em câmara climatizada com condições controladas de temperatura, umidade relativa e luz. Para as avaliações de consumo de água das plantas em estudo foi definido um período de três dias e após essas avaliações foi determinada a área foliar das plantas através do equipamento Area Meter (LI-COR 3100). Na sequência foi calculado o consumo de água médio dos três dias em cm^3 por cm^2 de planta.

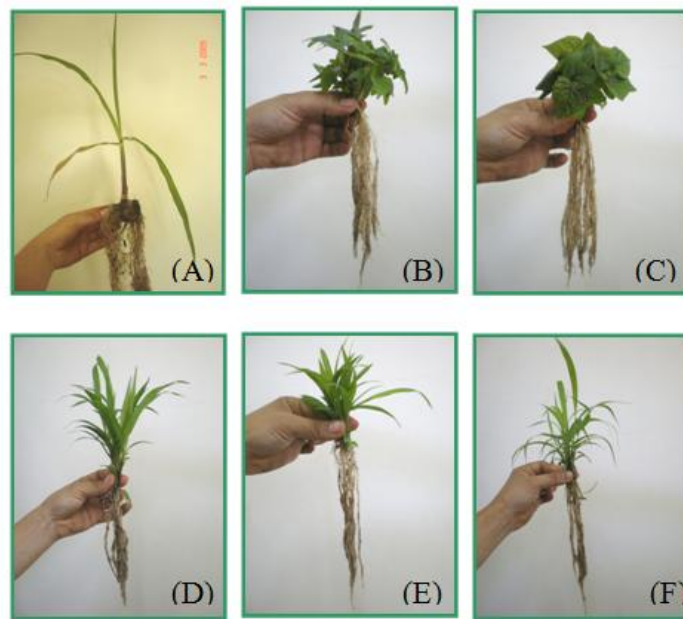


Figura 3. Raízes lavadas de plantas de (A) cana-de-açúcar, (B) *I. grandifolia*, (C) *I. hederifolia*, (D) *B. decumbens*, (E) *D. horzonthalis* e (F) *P. maximum*. Botucatu/SP - 2010.

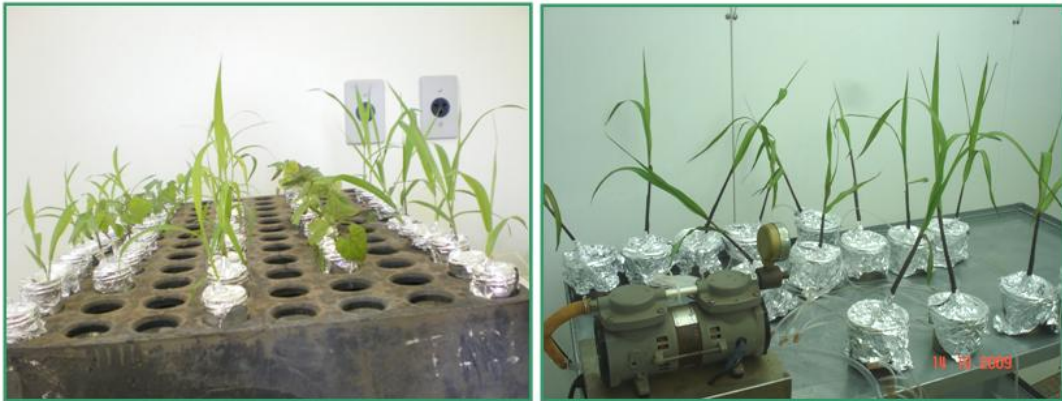


Figura 4. Experimento para análise da taxa de transpiração através do consumo de água das plantas daninhas e da cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

5.1.1. Análise Estatística

Para os resultados de consumo de água por área foliar das plantas daninhas foi estabelecido o intervalo de confiança pelo teste t a 10% de probabilidade. Para as cultivares de cana-de-açúcar foi desenvolvida nova metodologia, com o cálculo do consumo de água por cm^2 através da área do trapézio gerada da regressão linear (Figura 5).

O consumo de água por área foliar (CAPAF) em $\text{cm}^3.\text{cm}^{-2}$ das plantas avaliadas foram determinado através da Equação (1), os parâmetros utilizados na equação estão demonstrados na Figura 5. Os coeficientes foram determinados pela regressão linear estabelecida a partir dos dados coletados, sendo o eixo y representado pelo consumo de água médio por dia (CA) em cm^3 e o eixo x representado pela área foliar (AF) em cm^2 .

A padronização dos dados das cultivares de cana-de-açúcar foi realizada para que os valores de CAPAF avaliados fossem interceptados na mesma área do gráfico.

$$CAPAF(cm^3 / cm^2) = \frac{(\frac{CA_{máx} + CA_{mín}}{2})x(AF_{máx} - AF_{mín})}{(\frac{AF_{máx} + AF_{mín}}{2})x(AF_{máx} - AF_{mín})} \therefore$$

$$CAPAF(cm^3 / cm^2) = \frac{(\frac{CA_{máx} + CA_{mín}}{2})}{(\frac{AF_{máx} + AF_{mín}}{2})}$$

Equação 1. Equação para determinar o consumo de água em $cm^3.cm^{-2}$ para cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

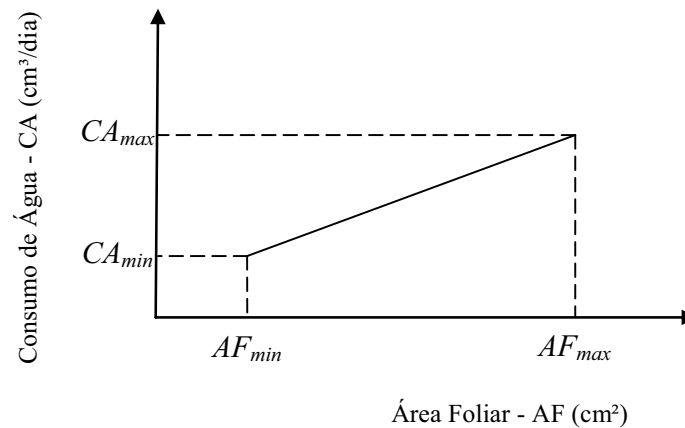


Figura 5. Parâmetros da equação 1 para determinar o consumo de água da cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

5.2. Estudo da absorção de herbicidas em cana-de-açúcar e planta daninha

Esse segundo experimento foi conduzido com o objetivo de determinar as concentrações dos herbicidas amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone encontradas em seiva do xilema das três cultivares de cana-de-açúcar citadas anteriormente e *I. grandifolia*.

5.2.1. Coleta de seiva através da bomba de Schollander

Para coletar a seiva do xilema das plantas utilizou-se a câmara de scholander (SCHOLANDER et al., 1965). A pressão hidrostática incidida na câmara pode ser aplicada até aparecer uma gota de água na superfície do corte registrando assim a pressão hídrica da planta (LIANG et al., 1996). O incremento na pressão é usado para coletar a seiva de plantas na superfície cortada (Figura 6). Dessa forma no presente trabalho foi utilizada a bomba de Schollander para verificar a absorção dos herbicidas.

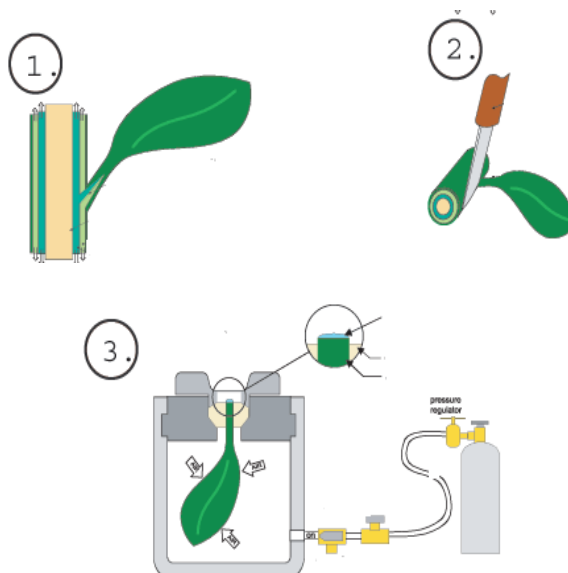


Figura 6. Esquema da coleta de seiva de plantas através da metodologia da bomba de Schollander. (1) seleção da espécie a se trabalhar, (2) corte da planta e (3) parte da planta submetida à pressão. Botucatu/SP - 2010.

O estudo foi conduzido com as três cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486 e uma espécie de planta daninha *I. grandifolia*. As plantas foram cultivadas em substrato por cerca de 30 dias e após esse período foram coletadas e tiveram suas raízes lavadas e colocadas em soluções contendo amicarbazone, hexazinone, tebuthiuron e imazapic.

A concentração utilizada dos herbicidas na solução foi calculada com base no peso molecular e molaridade dos herbicidas, de acordo com concentrações observadas

em condições de campo. Na Tabela 1 estão apresentadas as concentrações dos herbicidas utilizadas no experimento. Trabalhou-se com cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado, sendo quatro plantas (três cultivares de cana-de-açúcar e uma planta daninha) e quatro herbicidas (amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone). As plantas foram mantidas em condições controladas em câmara climatizada, sendo a temperatura mantida entre 25 e 30 °C e a umidade relativa em torno de 60%.

Tabela 1. Concentração dos herbicidas utilizados na solução das plantas para ser extraído na bomba de Schollander. Botucatu/SP – 2010.

HERBICIDAS	CONCENTRAÇÃO (mg.L ⁻¹)
amicarbazone	0,240
imazapic	0,283
tebuthiuron	0,228
hexazinone	0,252

Na instalação do experimento foram utilizadas quatro plantas como marcadoras para cada espécie, disponibilizando o corante Rhodamina B para as mesmas em solução com objetivo de verificar o momento em que o corante tinha sido absorvido e translocado para a parte aérea como um indicativo da movimentação dos herbicidas (Figura 7). Assim foi fixado um intervalo de 40 horas entre o contato do sistema radicular com a solução contendo os herbicidas e a extração da seiva. Apenas a *I. grandifolia* foi mantida por um período de 20 horas após o contato com a solução, visto que, muito rapidamente tornaram-se marcadas com o corante tal espécie daninha. Também foi calculado o consumo de água (transpiração) das plantas, com a diferença do peso inicial e final do experimento, sendo outra forma de garantir que houve condições para que o herbicida tenha sido absorvido e translocado nas plantas.

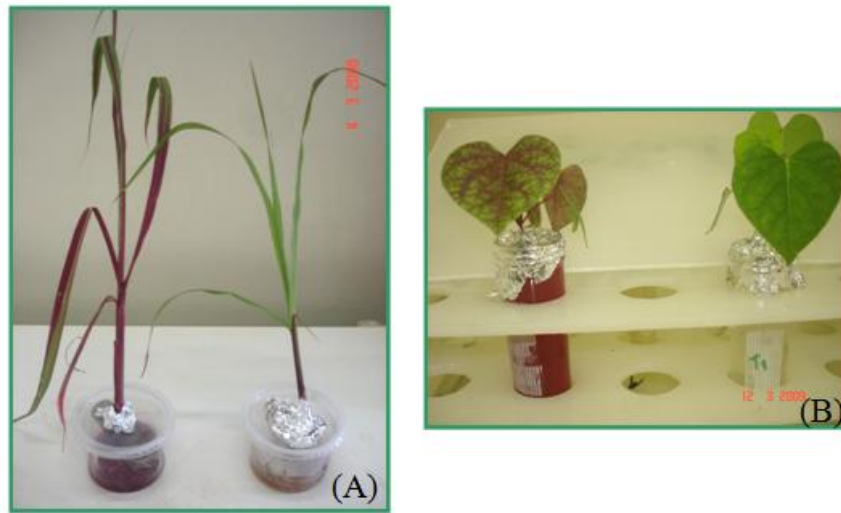


Figura 7. Comparação entre plantas com corante Rhodamina B e herbicida em solução. (A) cana-de-açúcar e (B) *I. grandifolia*. Botucatu/SP - 2010.

Após o intervalo de tempo fixado para as plantas absorverem os herbicidas da solução, as mesmas foram colocadas na bomba de Schollander para extração da seiva. Para as três cultivares de cana-de-açúcar foram utilizadas as folhas para extração da seiva (Figura 8). Para a planta daninha foi utilizada toda a parte aérea da planta para a extração da seiva. Com o auxílio de pipetas Pasteur o material foi coletado da folha e/ou caule das plantas e colocado em tubos vials para posteriores análises cromatográficas (Figura 9).



Figura 8. Extração da seiva do xilema com a bomba de Schollander. (A) visão geral da bomba de schollander com uma folha de cana-de-açúcar. (B) Liberação da seiva de folha de cana-de-açúcar através de pressões de gás nitrogênio. Botucatu/SP - 2010.



Figura 9. Metodologia de coleta da seiva do xilema extraída pela bomba de Schollander. Botucatu/SP - 2010.

5.2.2. Método de quantificação dos herbicidas

As concentrações dos herbicidas na seiva do xilema das plantas em estudo foram determinadas por cromatografia e espectrometria de massas (LC-MS). O método analítico da quantificação dos herbicidas foi desenvolvido em um cromatógrafo líquido da marca Shimadzu (Figura 10), equipado com software Class VP 6.0, bomba quaternário LC 20 AD, degazeificador DGU 20AS, injetor automático SIL 10 AF, forno CTO 10ASVP e detector de massas LCMS-2010 EV.

Para as análises cromatográficas foi empregada uma coluna de C18, marca Synergi 2,5 μ Hydro-RP 100Å, dimensões 50 x 4,6 mm e o volume de injeção foi de 30 μ l. As análises foram efetuadas em modo gradiente, tendo como fases móveis os solventes metanol e água com ácido acético até atingir pH 2,8. A proporção entre os solventes tem início com 60:40 (metanol:água), aos quatro minutos chega a 95:5 e retorna a condição inicial aos 7 minutos. O tempo total de corrida foi de 15 minutos e o tempo de retenção foi de 2,33, 2,65, 2,91 e 2,63, minutos para amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone respectivamente. Foram estabelecidos seis pontos para a curva de calibração sendo empregada a quantificação em diferentes concentrações dos padrões dos herbicidas.



Figura 10. Cromatógrafo Líquido de Alta eficiência e espectrômetro de massas (LC/MS) utilizado no desenvolvimento do método analítico de determinação dos herbicidas. Botucatu/SP - 2010.

Os cromatogramas obtidos para uma injeção de 30 μL do padrão analítico de amicarbazone contendo 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$, na faixa de concentração de validação do método e sob condições cromatográficas acima detalhadas, estão apresentados nas Figuras 11, 12, 13 e 14, onde podem ser verificados os picos de amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone respectivamente. Os cromatogramas evidenciaram boa resposta do detector utilizado para os herbicidas.

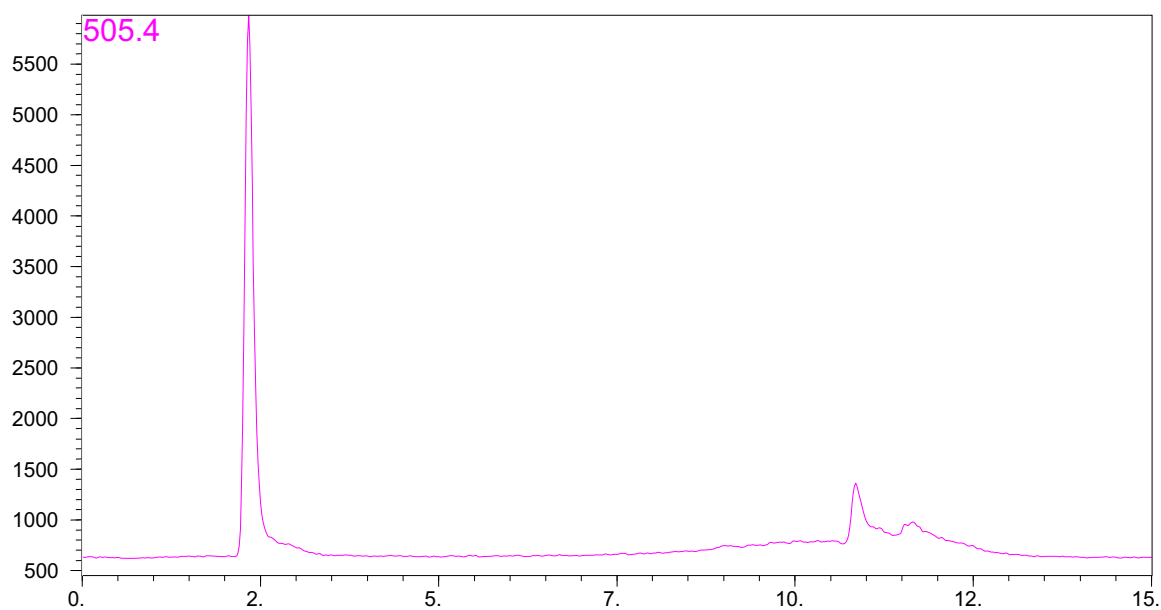


Figura 11. Cromatograma de amicarbazone obtido por LC/MS na concentração $20 \mu\text{g.L}^{-1}$. Botucatu/SP - 2010.

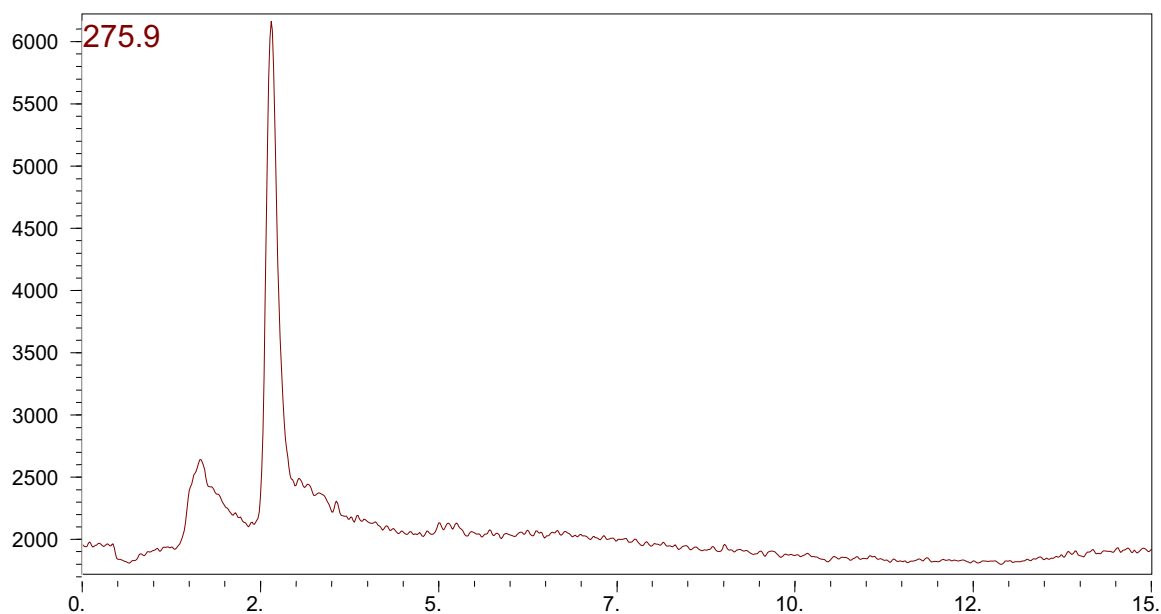


Figura 12. Cromatograma de imazapic obtido por LC/MS na concentração de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$. Botucatu/SP - 2010.

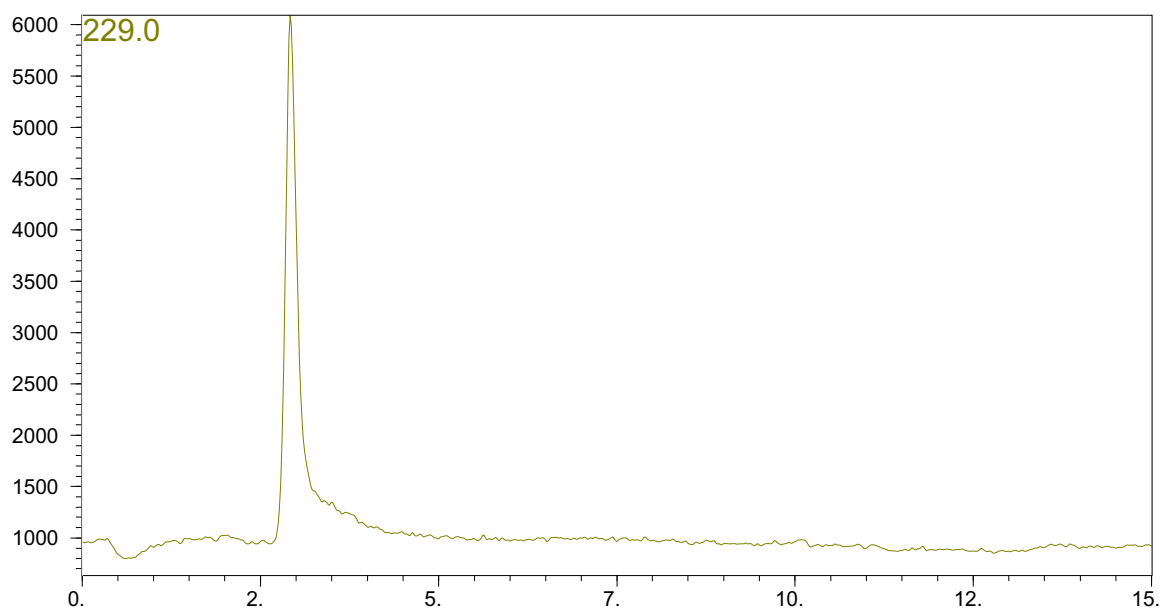


Figura 13. Cromatograma de tebuthiuron obtido por LC/MS na concentração de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$.
Botucatu/SP - 2010.

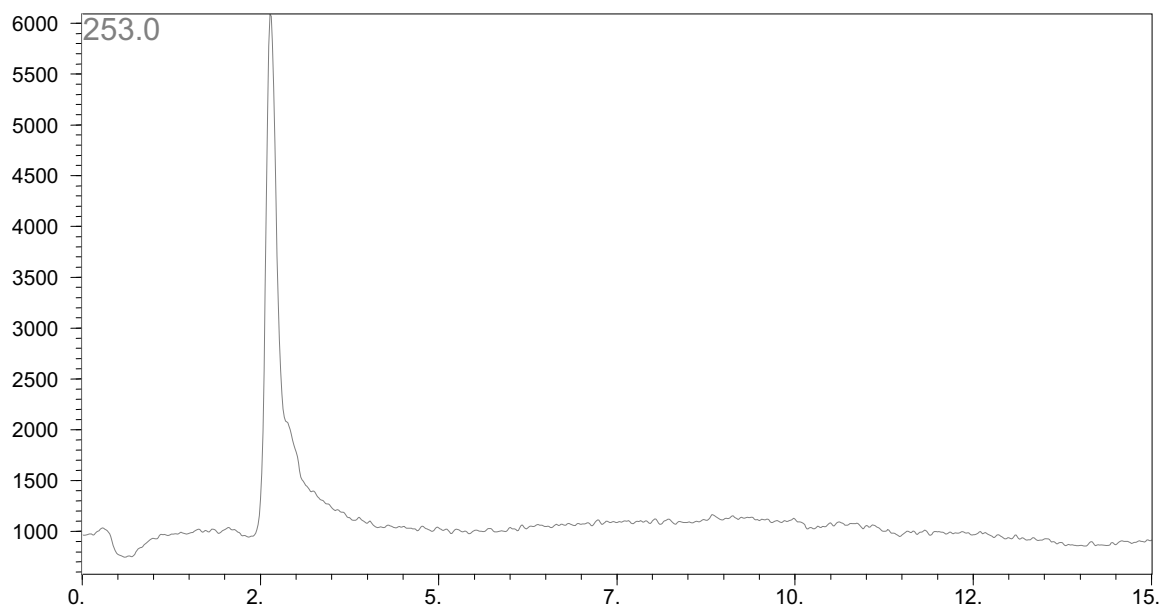


Figura 14. Cromatograma de hexazinone obtido por LC/MS na concentração de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$.
Botucatu/SP - 2010.

A partir das áreas dos picos (resposta do detector) e das concentrações das soluções de padrões analíticos dos herbicidas, foram estabelecidos os seguintes parâmetros: a equação linear de regressão; coeficiente de correlação; coeficiente de determinação; linearidade; limite de detecção e limite de quantificação do método, segundo os procedimentos descritos por Meier e Zund (1993). Estes parâmetros estimam a confiabilidade do método analítico.

5.2.3. Análise Estatística

Para os resultados das concentrações dos herbicidas encontrados em seiva xilema foi estabelecido o intervalo de confiança pelo teste t a 10% de probabilidade. Para determinar o intervalo de confiança, foi utilizada a seguinte equação:

$$IC = \frac{(t \cdot desvpad)}{\sqrt{nr}}$$

Onde:

IC = intervalo de confiança;

t = valor de t tabelado, ao nível de 10% de probabilidade;

desvpad = desvio padrão;

$\sqrt{nr}$ = raiz quadrada do número de repetições.

5.3. Determinação da inibição do fluxo de elétrons em cana-de-açúcar e *I. grandifolia*

Este experimento teve como objetivo determinar a inibição da fotossíntese com aplicação do amicarbazone para *I. grandifolia* e cana-de-açúcar através da correlação do transporte de elétrons no fotossistema II (ETR) com amicarbazone absorvido.

No experimento foi utilizada a espécie *I. grandifolia* como planta daninha e as três cultivares de cana-de-açúcar, PO8862 (sensível), SP80 3280 (intermediária) e RB83 5486 (tolerante).

Essas plantas selecionadas para o estudo foram coletadas e tiveram suas raízes lavadas para remoção do substrato do sistema radicular. O sistema radicular das plantas foi

imerso em soluções contendo duas concentrações de amicarbazone (Figuras 15 e 16). As concentrações foram selecionadas a partir dos resultados de estudos de campo anteriores em que se coletou e determinou as concentrações do amicarbazone em solução do solo. A primeira dose foi de $0,250 \text{ mg.L}^{-1}$ de amicarbazone na solução, correspondente à quantidade de herbicida encontrada no solo com uma aplicação normal. A segunda aplicação foi com o dobro da dose recomendada $0,500 \text{ mg.L}^{-1}$ de amicarbazone. Foram mantidas plantas em água como testemunha.

O experimento foi instalado com cinco repetições, sendo mantido em condições controladas em câmara climatizada com temperatura de 25 a 30°C e umidade relativa de 60%.

Em vários períodos após o início do experimento foi registrada a leitura da taxa de transporte de elétrons (ETR) com um Fluorômetro portátil (Figura 15), conforme metodologia descrita a seguir, sendo os intervalos de 2, 6, 24, 48, 48, 96 e 144 horas após o contato das plantas com o amicarbazone avaliado na porção mediana das folhas de cana-de-açúcar e da planta daninha.

Os dados de ETR foram associados às informações sobre consumo de água, verificado diariamente através da pesagem, conforme metodologia já descrita e também com os dados de absorção do amicarbazone obtidos no estudo anterior.

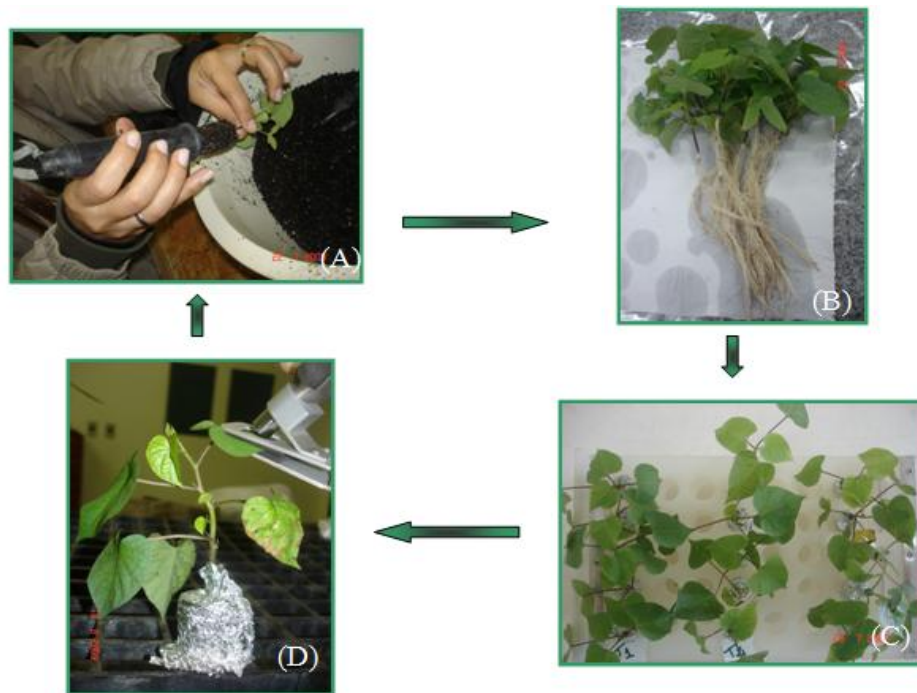


Figura 15. Instalação do experimento para a *I. grandifolia*. (A) plantas retiradas do substrato, (B) lavagem do sistema radicular, (C) montagem nos tubos falcon com as soluções e, (D) avaliações realizadas com o fluorômetro na planta daninha. Botucatu/SP - 2010.



Figura 16. Instalação do experimento para cana-de-açúcar. (A) plantas retiradas do substrato, (B) tolete serrado para encaixar no pote, (C) plantas dispostas na solução contendo amicarbazone, (D) fornecimento de aeração para plantas, (E) avaliações realizadas com o fluorômetro nas folhas e, (F) pesagem para monitoramento do consumo de água. Botucatu/SP - 2010.

5.3.1. Metodologia fundamentada no uso do Fluorômetro

A análise cinética da fluorescência oferece muitas vantagens como instrumento qualitativo para o estudo do transporte de elétrons durante a fotossíntese, visto que o processo de obtenção de medidas da fluorescência da clorofila é rápido, específico e não destrutivo (MOHANTY e GOVINDJEE, 1974). Com o fluorômetro é possível registrar o

comportamento da fase inicial da fotossíntese, que é o transporte de elétrons no PSII, sendo este o sítio de ação do amicarbazone.

A fonte de luz utilizada para medir a fluorescência no aparelho Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS5p (Opti-Sciences) é a fonte diodo com pico de luz vermelha no comprimento de onda de 660 nm sendo bloqueada radiações maiores que 690 nm. A intensidade média da luz é ajustada para o intervalo de 0 a 1 $\mu\text{Mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, com o uso da lâmpada halogênica 35 W. O feixe de luz é opticamente monitorado no interior da câmara para corrigir as variações devidas mudanças na temperatura do ambiente. Os sinais ópticos são transferidos para a superfície da folha por uma trifurcação personalizada de fibra óptica, sendo de 2 cm^2 a área iluminada. A luz reemitida é conduzida via fibra óptica para o aparelho através de três conectores que ligam na lateral do OS5p (Figura 17). As análises foram feitas seguindo a metodologia de Genty et al. (1989), avaliando a emissão da fluorescência da clorofila na superfície superior das folhas.

Para iluminação e detecção da fluorescência da clorofila das amostras de cana-de-açúcar e planta daninha estudadas no trabalho foi utilizado o protocolo Yield para a mensuração da taxa de transporte de elétrons. Esse protocolo Yield é otimizado para um estado da fotossíntese adaptado a luz porque registra as medidas de quantum efetivo produzido no PSII. Tanto a fonte de luz do sol quanto à luz artificial pode ser usada para dirigir a fotossíntese.

Taxa de transporte de elétrons (ETR) - $\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ = (Y).(PAR).(0,84).(0,5) é equivalente a: (produção de quantum do PSII) x (medidas da radiação fotossinteticamente ativa medida em $\mu\text{Mols elétrons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) x (coeficiente de absorção da folha) x (fração de luz absorvida pelo complexo antena do PSII). O ETR é uma medida da separação de cargas do centro de reação do PSII. Na equação são usados valores padrões, contudo, ambos os coeficientes de absorção e fração da luz absorvida pelo PSII podem ser trocados. Embora 0,84 seja um valor médio para muitas espécies de plantas, trabalhos têm mostrado que o coeficiente de absorção da folha pode variar com a qualidade da luz, espécie, conteúdo de clorofila e refletância da folha. Para a fração de luz que é absorvida pelo complexo antena do PSII os trabalhos mostram que ocorre variação de acordo com a espécie e estende de 0,42 a 0,60 (LAISK e LORETO, 1996).

Como o parâmetro ETR, determina a taxa de transporte de elétrons fotossintético no PSII, como descrito por SKORSKA e SWARCEWICZ (2005), o uso do valor

do ETR permite detectar o efeito da atuação do herbicida em nível de concentração de 0,5 micromoles.dm⁻³, enquanto o método tradicional, que inclui a medição do parâmetro Fv/Fm, permite detectar apenas em um nível de concentração que é 100 vezes maior (VAN OORSCHOT e VAN LEEUWEN, 1992, KORRES et al., 2003, ABBASPOR et al., 2006).

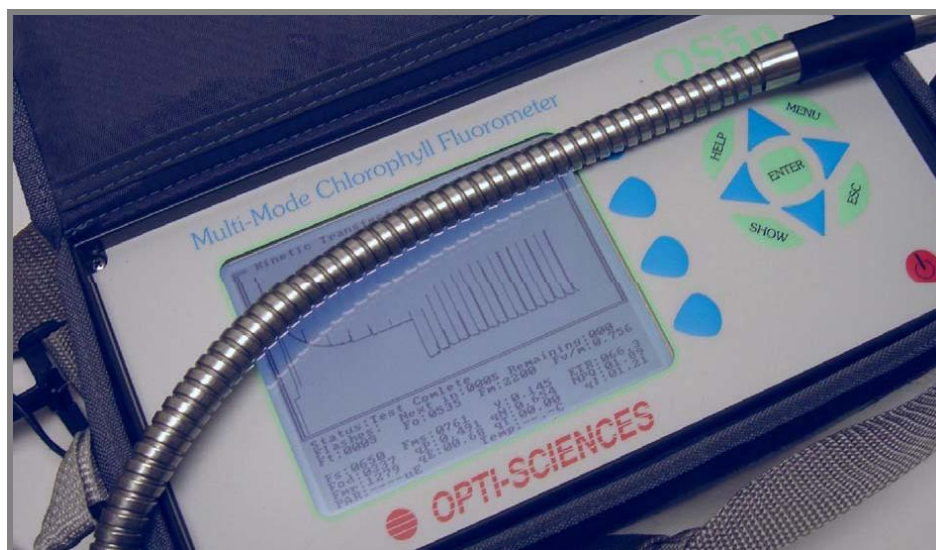


Figura 17. Painel frontal do fluorômetro portátil OS5p. Botucatu/SP - 2010.

5.3.2. Análise Estatística

Os dados de ETR foram correlacionados com a quantidade de amicarbazone absorvida, determinada no experimento anterior. O amicarbazone absorvido pelo sistema radicular foi calculado através da multiplicação do consumo de água acumulado das plantas pela concentração de herbicida em solução e na sequência pela concentração de herbicida detectado na seiva das plantas. Dividindo esses valores pela área foliar de cada planta, foi possível estimar o acúmulo de herbicida absorvido pelo sistema radicular em cada intervalo, em função da área foliar.

As regressões geradas das correlações foram analisadas com o Programa Sigma Plot, versão 11, com uso das seguintes equações/funções.

A Equação Linear com a reta passando pelo valor 100 em y utilizada para ajustar os dados de ETR em relação ao amicarbazone absorvido das cultivares de cana-de-açúcar PO8862 e RB83 5486, foi a seguinte:

$$y = 100 - (bx),$$

onde y representa o valor da taxa de transporte de elétrons (ETR), b é o coeficiente de inclinação da reta, e x representa a concentração do amicarbazone absorvido.

A equação Logística utiliza para ajustar os dados de ETR em relação ao amicarbazone absorvido da cultivar de cana-de-açúcar SP80 3280, foi a seguinte:

$$y = c + \frac{d - c}{1 + (x / V_{50})^b},$$

onde y representa o ETR, x representa a concentração do herbicida, d denota o limite máximo e c o limite mínimo, V_{50} denota a dose requerida para metade da resposta de y entre d e c , e o parâmetro b refere-se a eficiência da dosagem utilizada.

E a equação Hiperbólica Racional para ajustar os dados de ETR em relação ao amicarbazone absorvido para *I. grandifolia*, esta descrita abaixo:

$$y = \frac{1}{a + (bx)},$$

onde y representa o ETR, x representa a concentração do herbicida, o coeficiente a denota interseção e o coeficiente b inclinação da reta.

5.4. Recuperação do ETR após tratamento com amicarbazone no sistema radicular de plantas daninhas

Esta etapa do trabalho objetivou avaliar o comportamento de plantas daninhas quando submetidas à solução com amicarbazone e na sequência na solução sem herbicida.

Nesse experimento foram utilizadas as plantas daninhas *I. grandifolia*, *D. horionthalis* e *B. decumbens*. As plantas foram plantadas em substrato, lavadas e colocadas em solução com água por um período de 24 horas. Foi monitorado o ETR nessas plantas e na sequência foram colocadas em contato com a solução de amicarbazone, na concentração de 0,250 mg.L⁻¹ e, após um intervalo de tempo suficiente para que o fluxo de elétrons fosse inibido (48

horas), foram lavadas e colocadas novamente para absorver solução nutritiva sem herbicida. Foi utilizada solução nutritiva para que as plantas emitissem folhas novas, permitindo-se verificar a mobilidade do amicarbazone nas plantas após a interrupção do fornecimento do herbicida. Assim as folhas foram classificadas como folha adulta e folha nova. A folha nova surgiu apenas nas últimas avaliações (Figura 18).

O experimento foi instalado e mantido em casa-de-vegetação, sendo utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Em vários períodos foi registrada a leitura de ETR com o fluorômetro, sendo estes 0, 4, 24, 48, 96, 144, 192, 240, 288 e 336 horas após o início do experimento. O fluxo de elétrons foi avaliado na porção mediana das folhas das plantas daninhas (Figura 19).

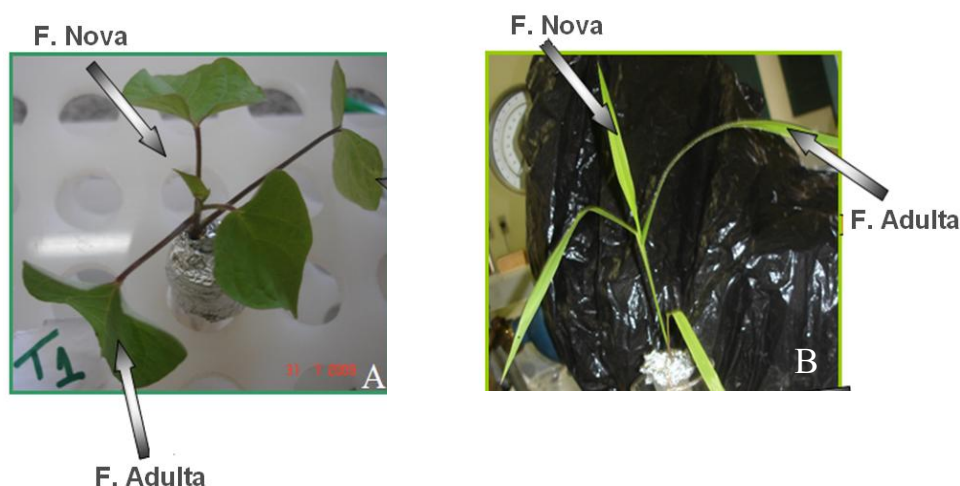


Figura 18. Esquema definindo as folhas novas e adultas monitoradas no experimento com *I. grandifolia* (A) e *B. decumbens* (B). Botucatu/SP - 2010.



Figura 19. Instalação do experimento para *I. grandifolia*, *D. horizontalis* e *B. decumbens*. (A) plantas com $0,250 \text{ mg.L}^{-1}$ de amicarbazone, (B) plantas com solução nutritiva e aeração.

5.4.1. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade e a comparação das médias através do teste t a 10% de probabilidade.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Avaliação da taxa de transpiração em cana-de-açúcar e plantas daninhas

Nas figuras 20 a 22 são representados os dados e as regressões lineares utilizadas para o cálculo do consumo de água em $\text{cm}^3.\text{cm}^{-2}$ das cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280, RB83 5486. Houve a necessidade de uso dos modelos em função da grande variação do tamanho das plantas utilizadas no ensaio. No caso das plantas daninhas optou-se pelo uso do valor médio associado ao intervalo de confiança ao nível de 10% de probabilidade.

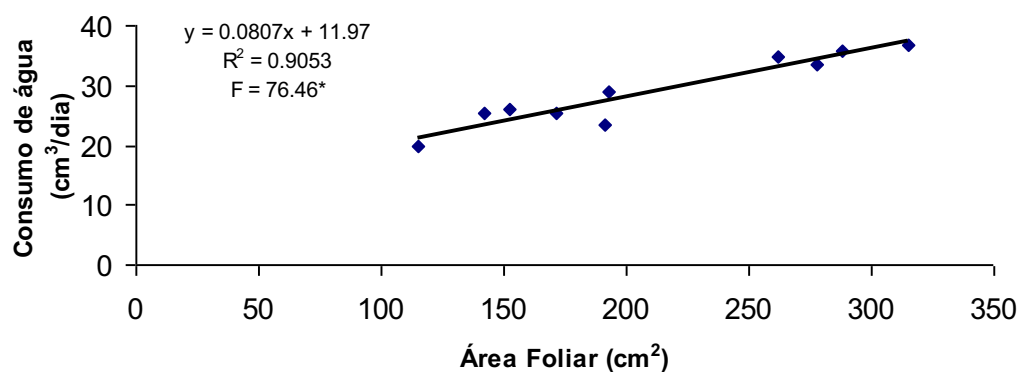


Figura 20. Regressão linear entre consumo de água e área foliar para cultivar PO8862 de cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

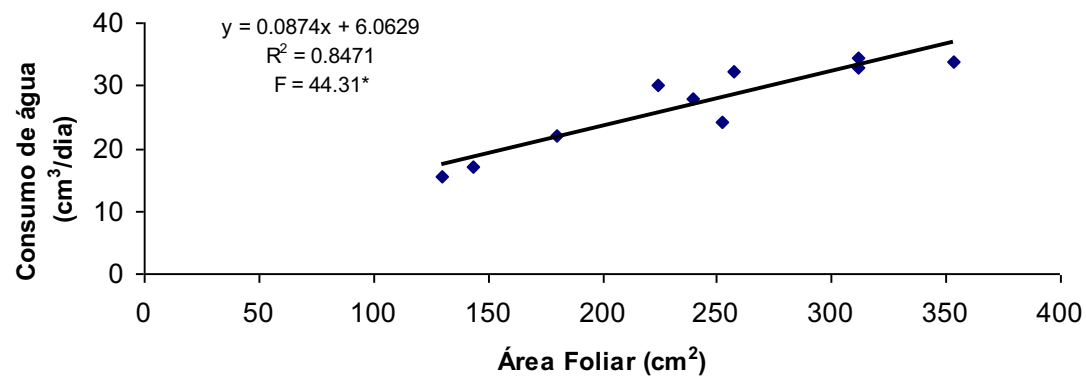


Figura 21. Regressão linear entre consumo de água e área foliar para cultivar SP80 3280 de cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

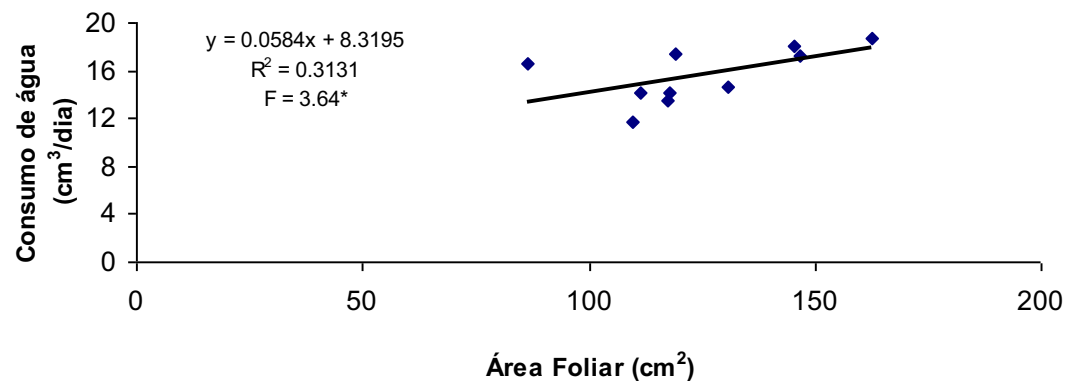


Figura 22. Regressão linear entre consumo de água e área foliar para cultivar RB83 5486 de cana-de-açúcar. Botucatu/SP - 2010.

Na Tabela 2 encontram-se os valores de consumo de água ($\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$) das espécies de plantas daninhas *D. horisonthalis*, *P. maximum*, *B. decumbens*, *I. grandifolia* e *I. hederifolia* e das três cultivares de cana-de-açúcar (PO8862, SP80 3280 e RB83 5486).

Tabela 2. Consumo de água ($\text{cm}^3.\text{cm}^{-2}$) para as cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280, RB83 5486, e para as plantas daninhas *D. horisonthalis*, *P. maximum*, *B. decumbens*, *I. grandifolia* e *I. hederifolia*. Botucatu/SP - 2010.

ESPÉCIES	CONSUMO DE ÁGUA ($\text{cm}^3.\text{cm}^{-2}$)
<i>D. horisonthalis</i> *	0,3630±0,0497
<i>Panicum maximum</i>	0,2630±0,0305
<i>Ipomoea grandifolia</i>	0,2576±0,0473
<i>Brachiaria decumbens</i>	0,2205±0,0251
<i>Ipomoea hederifolia</i>	0,1542±0,0226
Cana-de-açúcar (PO8862)**	0,1623
Cana-de-açúcar (SP80 3280)	0,1287
Cana-de-açúcar (RB83 5486)	0,1152

* Para as plantas daninhas foi utilizado o intervalo de confiança a 10% de probabilidade.

**Para cana-de-açúcar os valores encontrados foram com base nos cálculos de área gerados da relação entre consumo de água (cm^3) e área foliar (cm^2).

De maneira geral, as plantas daninhas consumiram mais água por cm^2 do que as plantas de cana-de-açúcar o que indica maior competitividade por água das plantas invasoras. De acordo com Meckel et al. (1984) a competição por água das plantas daninhas contribui para redução da produtividade da cana-de-açúcar e de outras culturas. Apenas a *I. hederifolia* não superou o consumo da cultivar de cana-de-açúcar PO8862.

Entre as plantas daninhas, a que mais se destacou pelo consumo de água foi a *D. horisonthalis* com $0,3630 \text{ cm}^3.\text{cm}^{-2}$ enquanto a *I. hederifolia* foi a que apresentou o menor consumo de água, com $0,1542 \text{ cm}^3.\text{cm}^{-2}$, ou seja, uma diferença de 2,3 vezes de consumo de água entre ambas. E uma resposta intermediária quanto ao consumo de água ocorreu em *P. maximum*, *B. decumbens* e *I. grandifolia*, com um consumo de 0,2630; 0,2576 e 0,2205 $\text{cm}^3.\text{cm}^{-2}$ respectivamente. A *I. grandifolia* teve um consumo de 1,7 vezes maior do que a *I. hederifolia*.

Os valores de consumo de água encontrados para as cultivares de cana-de-açúcar foram de 0,1623; 0,1287 e 0,1152 $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ respectivamente para a cultivar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486. A seletividade de cana-de-açúcar aos herbicidas pode estar associada ao menor consumo de água pelas plantas de cana-de-açúcar, visto que a cultivar sensível aos herbicidas, a PO8862 foi a que consumiu mais água quando comparado com a cultivar intermediária, SP80 3280, e a tolerante, RB83 5486 de menores consumos. De acordo com OLBRICH et al. (1993), o conhecimento da eficiência do uso da água pode ajudar a selecionar as melhores plantas para determinadas condições.

Comparando com a média das três cultivares de cana-de-açúcar, a *D. horizontalis*, *P. maximum* e *I. grandifolia* consumiram respectivamente 2,7; 2,0; e 2,0 vezes mais água do que a cultura. JONES JÚNIOR e WALKER (1993) também observaram que a absorção de água por *Xanthium strumarium* superou em duas vezes a quantidade de água consumida pela soja. PROCÓPIO et al. (2004) também verificaram que as espécies *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* apresentaram maior eficiência no uso da água em relação à soja e ao feijão nos estádios iniciais de crescimento. Dalley et al. (2006) trabalhando com milho observaram maior eficiência de absorção e aproveitamento de água pelas plantas daninhas.

6.2. Estudo da absorção de herbicidas em cana-de-açúcar e *I. grandifolia*

Os herbicidas amicarbazone, imazapic, tebuthiuron e hexazinone foram disponibilizados em solução para as plantas, sendo três cultivares de cana-de-açúcar e uma planta daninha *I. grandifolia* (Tabela 3).

A absorção pelas raízes, combinada com a translocação pelo xilema, é particularmente importante para herbicidas inibidores da fotossíntese. Essa translocação dos herbicidas pelos tecidos vasculares é fundamental para que os mesmos alcancem os sítios de ação, onde vão exercer sua atividade (SATICHIVI et al., 2000), justificando o uso da metodologia empregada. Estudos de absorção de herbicida em solução foram conduzidos com o herbicida CNP em plantas de arroz e verificou-se uma maior absorção do CNP em plantas submetidas em solução quando comparado com plantas cultivadas em solo (SHIMOTORI E KUWATSUKA, 1978).

Tabela 3. Relação em porcentagem entre as concentrações de herbicidas na seiva de xilema e na solução fornecida ao sistema radicular para as cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486 e para *I. grandifolia*. Botucatu/SP - 2010.

Herbicidas	Cana-de-açúcar (%)			<i>I. grandifolia</i> (%)
	PO8862	SP80 3280	RB83 5486	
amicarbazone	5,22±3,23*	6,13±2,82	4,70±1,04	53,86±13,47
imazapic	5,00±2,54	4,41±2,06	1,73±0,98	24,48±5,44
tebuthiuron	5,88±3,55	5,29±1,43	0,46±0,79	26,49±6,57
hexazinone	4,90±2,28	4,15±0,67	3,41±0,39	23,87±5,73

* Valores calculados através do intervalo de confiança a 10% de probabilidade.

Na Tabela 3 são representadas as concentrações dos herbicidas estudados na seiva do xilema, expressos em porcentagem das concentrações nas soluções colocadas em contato com o sistema radicular das espécies testadas. Maiores valores indicam menores restrições à absorção do herbicida enquanto valores menores indicam maiores restrições a absorção e translocação do composto. Uma análise preliminar indica que maiores concentrações relativas provavelmente estarão associadas a maiores níveis de sensibilidade da planta ao herbicida.

Quanto aos teores dos herbicidas na seiva do xilema expressos em porcentagem das concentrações postas em contato com as raízes observa-se que a *I. grandifolia* foi a que apresentou os maiores valores médios para os quatro compostos, com destaque para o amicarbazone para o qual, a diferença em relação à cana-de-açúcar foi da ordem de dez vezes. Considerando as cultivares de cana-de-açúcar, os menores valores para os quatro herbicidas foram observados para a cultivar RB83 5486 indicando uma menor capacidade de absorção dos compostos e, possivelmente, uma maior tolerância aos mesmos.

As maiores diferenças entre os teores médios na seiva do xilema, expressos em porcentagem da concentração da solução em contato com as raízes, da planta daninha e das cultivares de cana-de-açúcar foram observadas para o amicarbazone. Em geral, os maiores valores estiveram associados aos maiores consumos de água determinados no estudo

anterior. Considerando o amicarbazone, o consumo de água e as concentrações na seiva de xilema, pode-se pressupor que: *I. grandifolia* transpira mais e tem maior capacidade de absorver amicarbazone indicando um possível grau elevado de sensibilidade da espécie ao herbicida. Considerando o produto entre estas duas variáveis, é possível hipotetizar a seguinte seqüência das cultivares de cana-de-açúcar quanto à sensibilidade ao herbicida amicarbazone: PO8862, SP80 3280 e RB83 5486.

6.3. Determinação da inibição do fluxo de elétrons em cana-de-açúcar e *Ipomoea grandifolia*

Nas Figuras de 23 a 26 encontram-se, respectivamente, os dados de ETR em relação à quantidade de amicarbazone absorvido para as cultivares de cana-de-açúcar, PO8862, SP80 3280 e RB83 5486 e para a espécie *I. grandifolia*. Na Figura 27 pode-se observar um comparativo entre as respostas de todas as plantas estudadas.

A análise de mudanças na fluorescência da clorofila, detectada pelo fluorômetro, oferece muitas possibilidades não só para determinar a inibição do transporte de elétrons pelo herbicida, mas também para relacionar essas injúrias com a taxa de absorção do herbicida e/ou concentração aplicada (RICHARD Jr et al., 1983).

Com a inibição do ETR nas plantas ocorre o comprometimento da taxa de assimilação de carbono pela não formação de ATP e NADPH nos cloroplastos das plantas. Ao final, com a diminuição da fotossíntese líquida induzida pela ação de herbicida, o balanço de carbono da folha tende a ser cada vez menos positivo até o esgotamento da planta (SOUZA e PRADO, 2008).

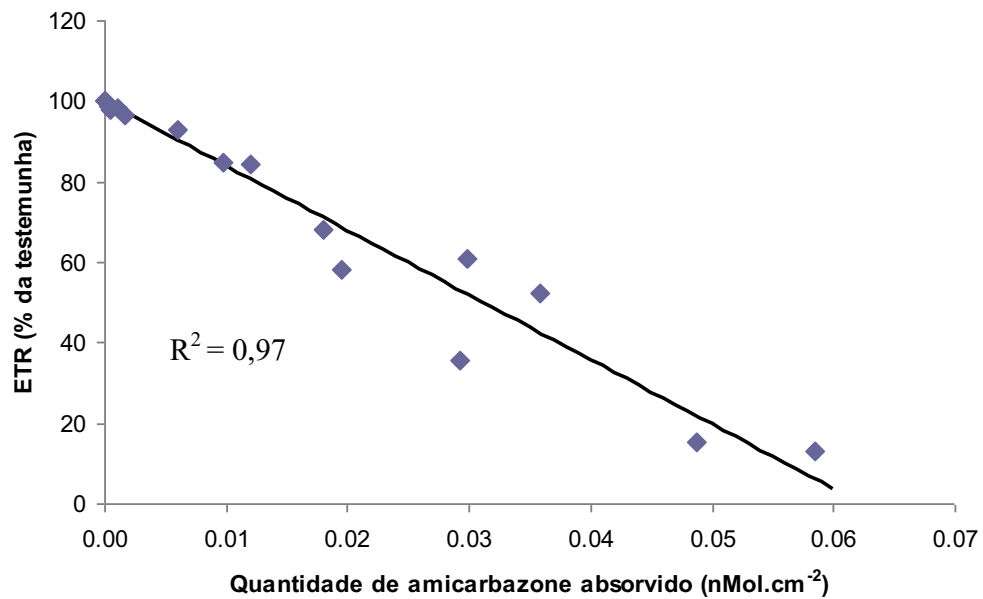


Figura 23. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese da cultivar de cana-de-açúcar PO8862 em relação à quantidade de amicarbazone absorvido pelas plantas. Os dados foram ajustados com o uso da equação linear. Botucatu/SP - 2010.

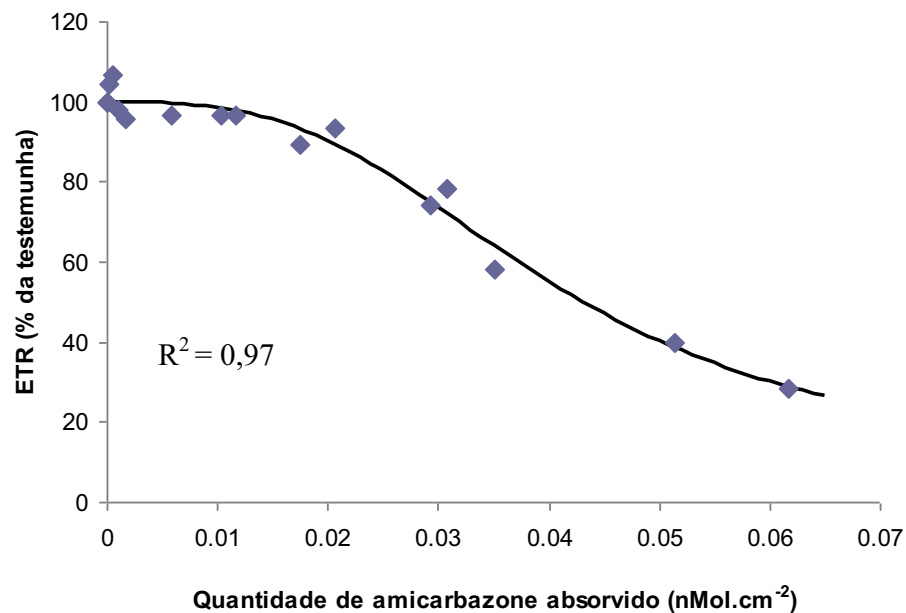


Figura 24. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese da cultivar de cana-de-açúcar SP80 3280 em relação à quantidade de amicarbazone absorvido pelas plantas. Os dados foram ajustados com o uso do modelo logístico. Botucatu/SP - 2010.

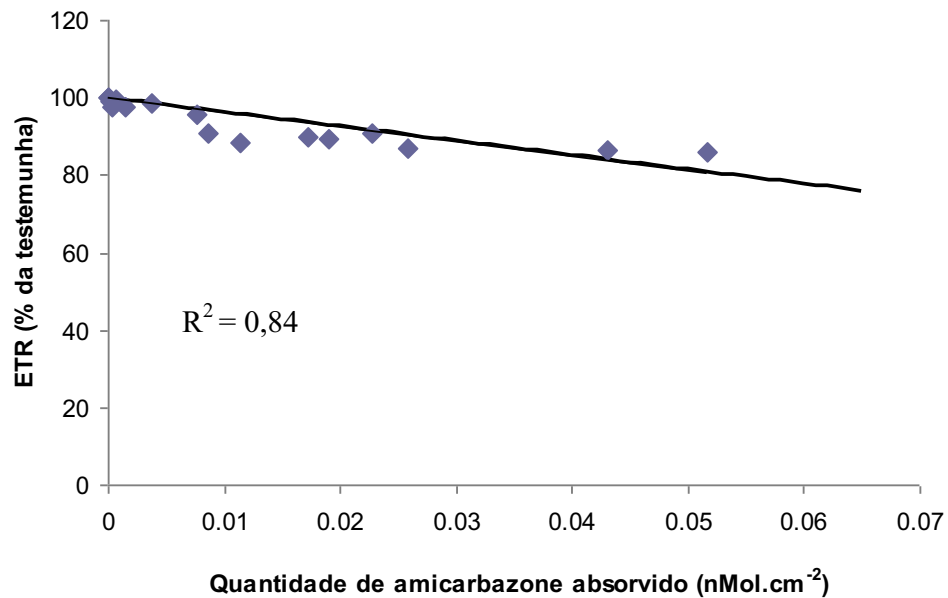


Figura 25. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese da cultivar de cana-de-açúcar RB83 5486 em relação à quantidade de amicarbazone absorvido pelas plantas. Os dados foram ajustados com o uso da equação linear. Botucatu/SP - 2010.

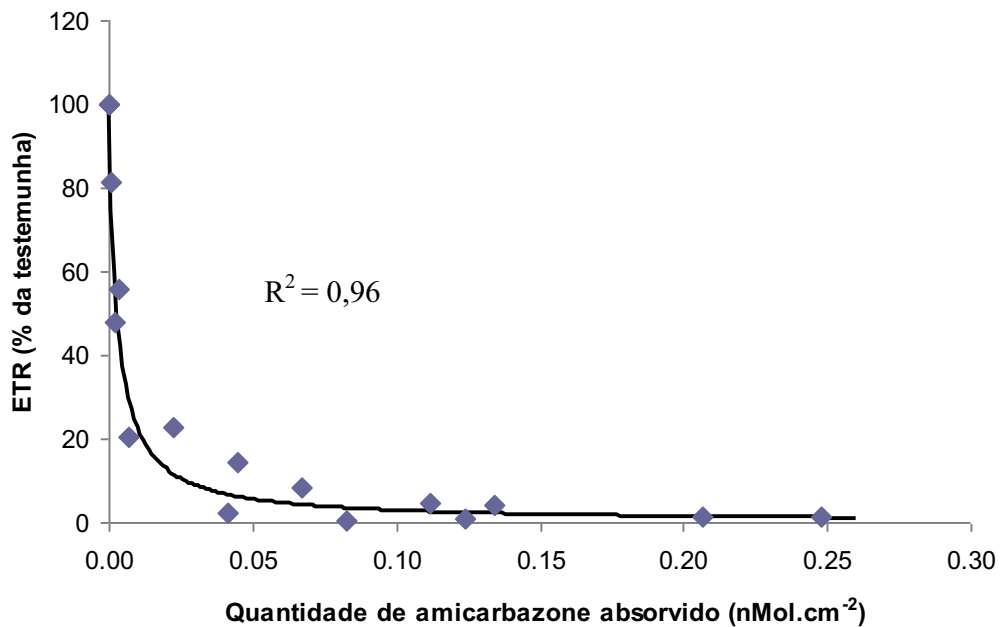


Figura 26. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese da planta daninha *I. grandifolia* em relação à quantidade de amicarbazone absorvido pelas plantas. Os dados foram ajustados com o uso do modelo hiperbólico racional. Botucatu/SP, 2010.

A planta daninha *I. grandifolia* foi mais sensível em relação às cultivares de cana-de-açúcar quando submetida ao amicarbazone em solução. Uma quantidade de apenas 0,0029 nMol.cm⁻² de amicarbazone foi suficiente para a inibição de 50% do ETR da planta daninha. Para a cana-de-açúcar esses valores para inibição de 50% do ETR foram maiores, sendo de 0,0310, 0,0430 e 0,1346 nMol.cm⁻² respectivamente para as cultivares PO8862, SP80 3280 e RB83 5486 (Figura 27).

Dayan et al. (2009) trabalhando com milho, *Digitaria sanguinalis* e *Abutilon theophrasti* correlacionaram o comportamento do ETR com a quantidade de amicarbazone interceptada pelas plantas e verificaram com o estudo que o ETR de ambas as espécies daninhas *Digitaria sanguinalis* e *Abuthilon theophrasti* foi mais afetado em relação ao milho.

Essa resposta diferenciada do ETR em relação ao amicarbazone absorvido, em nMol.cm⁻², possivelmente está relacionado com a absorção do herbicida pelas plantas. De acordo com o índice combinado entre os valores de consumo de água (Tabela 2) e concentração de amicarbazone na seiva do xilema (Tabela 3) tem-se como índice 13,86 para *I. grandifolia* e de 0,85, 0,79 e 0,54 para as cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486, respectivamente. Demonstrando que o consumo de água é determinante para a absorção de amicarbazone pelas plantas e que a *I. grandifolia* apresentou maior sensibilidade ao herbicida. Negrisoni et al. (2007) trabalhando com a aplicação de amicarbazone em plantas daninhas constataram alta eficácia do herbicida para *I. grandifolia*.

A diferença no comportamento da relação ETR e herbicida absorvido (Figura 32) para as cultivares de cana-de-açúcar é justificada pela quantidade de amicarbazone absorvido, visto que no caso da cultivar sensível (PO8862) ocorreu maior absorção do herbicida e conseqüentemente ocorreu a saturação dos processos de desintoxicação das plantas. Este dado é possível ser correlacionado com a absorção já que entre as cultivares de cana-de-açúcar ocorreu uma maior absorção do amicarbazone para a cultivar sensível PO8862 e menor absorção para cultivar tolerante RB83 5486, com 36% de diferença na absorção de ambas cultivares, avaliadas pelo índice combinado de consumo de água e concentração de amicarbazone em seiva de xilema. A cultivar SP80 3280 manteve um comportamento intermediário quanto à absorção do amicarbazone em solução.

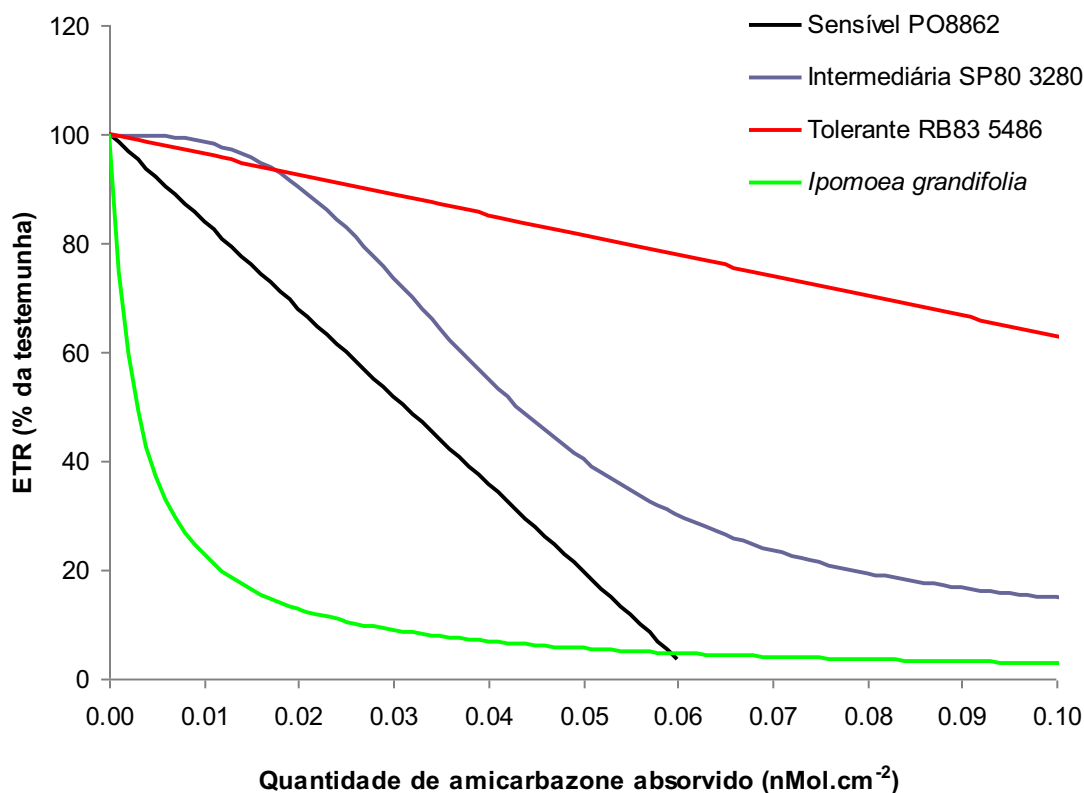


Figura 27. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) da fotossíntese para as três cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486 e para a planta daninha *I. grandifolia* em relação à quantidade de amicarbazone absorvido pelas plantas. Botucatu/SP - 2010.

A classificação de sensibilidade ao amicarbazone entre as cultivares de cana-de-açúcar segue a seguinte sequência de acordo com as respostas observadas, PO8862, SP80 3280 e RB83 5486, da maior para menor sensibilidade, respectivamente.

Ferreira et al. (2005) ao trabalharem com 15 genótipos de cana-de-açúcar, verificaram que os cultivares apresentaram sensibilidade diferencial à mistura de amtryn+trifloxysulfuron-sodium, o cultivar RB85 5113 demonstrou alta sensibilidade, já os cultivares SP80 1842, SP79 1011 e RB95 7689 apresentaram média sensibilidade a mistura de herbicidas.

Velini et al. (2000) verificaram que a mistura dos herbicidas oxyfluorfen+ametryn aplicada em dez cultivares de cana-de-açúcar não causou efeitos sobre a

produtividade e qualidade da matéria prima do colmo, não ocorrendo diferenças entre as cultivares. Entretanto, Azania et al. (2005) ao testarem os herbicidas diuron+hexazinone, azafenidin+hexazinone, metribuzin e isoxaflutole verificaram que esses produtos alteraram de forma negativa a qualidade da matéria prima da cana-de-açúcar. Essa intoxicação, dependendo do genótipo utilizado e das características do herbicida utilizado, além de afetar a fotossíntese em sua fase inicial (transporte de elétrons no PSII) pode afetar a produtividade e a qualidade da matéria prima da cana-de-açúcar (VELINI et al., 2000).

Souza et al. (2009) buscaram avaliar a tolerância de cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós-emergência na soqueira da cultura. Foi detectada uma pequena redução no transporte de elétrons do PSII na fase inicial de desenvolvimento da cultura, mas não foi suficiente para prejudicar a altura, estande, produção e qualidade tecnológica das diferentes cultivares de cana-de-açúcar estudadas.

Em trabalho desenvolvido por Skórska e Murkowski (2009) com aplicação isolada do herbicida chlortoluron em plantas de aveia selvagem (*Avenua fatua*) e cultivadas (*Avenua sativa*) observaram considerável diminuição do transporte de elétrons nas folhas de *Avenua fatua* com 26% do valor de ETR quando comparado com a testemunha, enquanto não ocorreu mudança na capacidade de transporte de elétrons no PSII para a aveia cultivada (*Avenua sativa*).

Korres et al. (2003) investigaram a influência do chlortoluron em duas cultivares de trigo, que se destacavam por exibir diferença na resposta ao herbicida. Com a detecção da fluorescência do PSII foi possível verificar a resposta diferencial do herbicida entre as cultivares de trigo. Yordanova et al. (2001) mostraram também que plantas de tabaco não transgênica (susceptível ao chlortoluron) apresentaram uma maior inibição do transporte de elétrons em relação as plantas transgênicas, plantas essas que se destacavam pela tolerância ao chlortoluron.

Para a cultura do algodão há também diferenças marcantes dos cultivares em relação ao diuron, sendo a taxa de absorção e translocação a base dessa tolerância diferencial (BELTRÃO e AZEVEDO, 1994). Outro exemplo é a diferença de tolerância entre híbridos de milho ao nicosulfuron.

6.4. Recuperação do ETR após tratamento com amicarbazone no sistema radicular de plantas daninhas

Nas Figuras 28, 29 e 30 encontram-se representados as curvas e dados que descrevem o comportamento do ETR para *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizontalis* respectivamente quando mantidas com o sistema radicular imerso em solução com amicarbazone e, após 48 horas, em solução sem herbicida (solução nutritiva).

Para a *I. grandifolia*, com quatro horas após a disponibilidade do herbicida em solução ocorreu uma redução de 34% do ETR para a folha adulta em relação ao valor de ETR inicial da planta sem herbicida. Com 24 horas após a aplicação a folha atingiu os 55% de redução do ETR, já às 48 horas após a aplicação, a inibição foi de 87% para a folha adulta da *I. grandifolia*. Nos intervalos de monitoramento seguintes ocorreu uma leve recuperação do transporte de elétrons devido à substituição da solução de herbicida pela solução nutritiva, mantendo os valores de ETR próximo a 50 $\mu\text{Mols elétrons. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Assim, com 96 horas após a aplicação a folha adulta recuperou 15% do ETR em relação à última avaliação de 48 horas (Figura 28).

Às 192 horas após o início do ensaio surgiu uma folha nova da *I. grandifolia* com um valor de ETR muito próximo das demais folhas no momento inicial do experimento. No último período monitorado de 336 horas após o início do ensaio essa folha nova apresentou uma redução do ETR de 26% em relação ao momento zero.

Esse comportamento de mínima recuperação do ETR para folha adulta após a inibição do transporte de elétrons e de uma leve redução do ETR para folha nova possivelmente esteja relacionado à presença de resíduos do amicarbazone no sistema vascular das plantas de *I. grandifolia* mesmo depois de 288 horas após a substituição da solução herbicida pela solução nutritiva.

As pequenas oscilações do ETR ocorridas ao longo do período avaliado devem-se às condições do ambiente, visto que a capacidade fotossintética das plantas pode ser alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas podem passar como temperatura, radiação, deficiência hídrica, salinidade, presença de insetos ou fungos, dentre outros (BOWN et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2002; MAZZA et al., 2000).

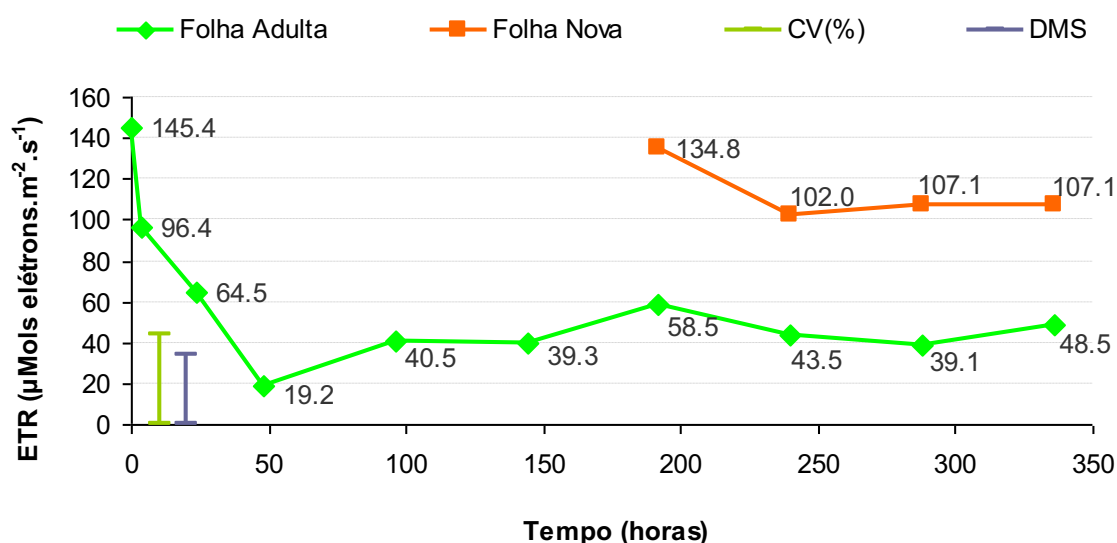


Figura 28. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) em relação ao tempo, em horas, para folha nova e adulta da espécie daninha *I. grandifolia*. Até 48 horas as plantas ficaram em solução com amicarbazone e após em solução nutritiva. Botucatu/SP - 2010.

Para a *B. decumbens* (Figura 29), com quatro horas após a disponibilidade do herbicida em solução ocorreu uma redução de 17% do ETR para a folha adulta em relação ao valor de ETR inicial das folhas sem herbicida. Com 48 horas após a aplicação, essa folha atingiu 60% de redução do ETR, obtendo quase a inibição do transporte de elétrons desta folha.

Nos intervalos de monitoramento seguintes, após a substituição da solução herbicida pela solução nutritiva, houve uma tendência de recuperação dos valores de ETR para a folha adulta monitorada de *B. decumbens*, com destaque pela rapidez na recuperação da fotossíntese quando comparada a *I. grandifolia*.

No intervalo de 96 horas após a aplicação a folha adulta manteve um comportamento parecido com a avaliação anterior, com uma redução de 66% do ETR. No intervalo de 192 horas após a aplicação ocorreu uma recuperação do ETR de 16% em relação ao intervalo avaliado de 96 horas. Ainda, para a avaliação de 192 horas após o início do ensaio, observou-se o surgimento da folha nova da *B. decumbens*, com um valor de ETR muito próximo das demais folhas no momento inicial do ensaio. No último período monitorado (336 horas) essa folha nova superou o valor de ETR da folha adulta encontrada no momento inicial do

experimento. A folha adulta manteve ainda uma redução de 23% do ETR em relação ao momento inicial em que as plantas estavam ainda sem herbicida em solução.

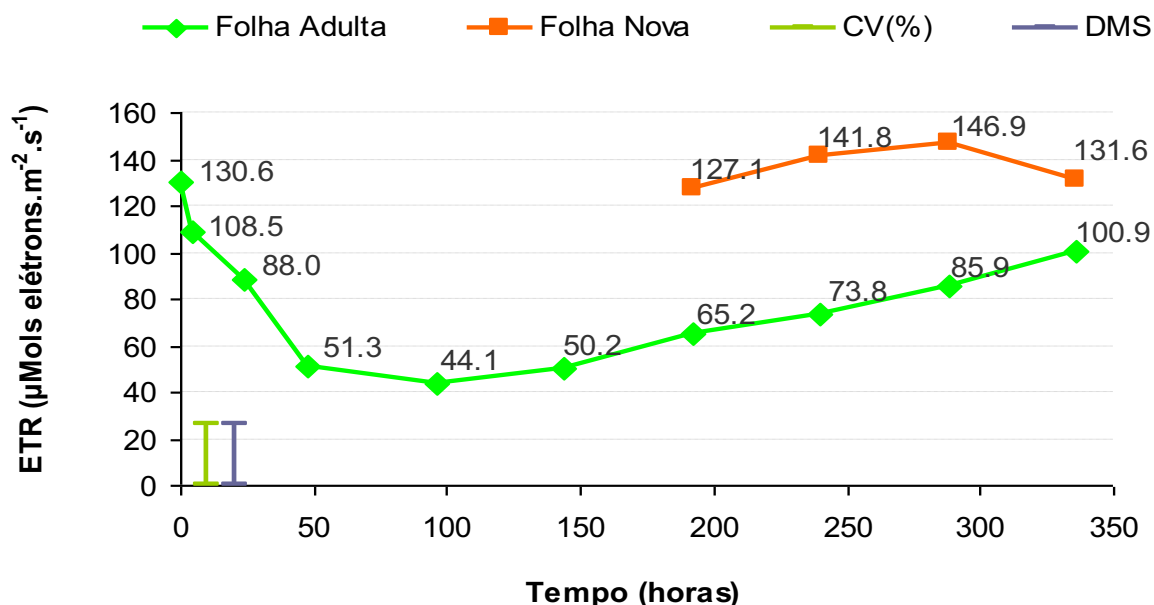


Figura 29. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) em relação ao tempo, em horas, para folha nova e adulta da espécie daninha *B. decumbens*. Até 48 horas as plantas ficaram em solução com amicarbazone e após em solução nutritiva. Botucatu/SP - 2010.

Para *D. horizonthalis*, com quatro horas após a disponibilidade do herbicida em solução, ocorreu uma redução de 17% do ETR para a folha adulta em relação ao valor de ETR inicial da folha sem herbicida. Com 24 horas após a aplicação essa folha atingiu os 55% de redução do ETR. Com 48 horas após a aplicação do amicarbazone os valores foram próximos da inibição do transporte de elétrons nas folhas, com redução de 85% do ETR (Figura 30).

Nos intervalos de monitoramento seguintes, após a substituição da solução herbicida pela solução nutritiva, houve uma tendência de recuperação dos valores de ETR para a folha monitorada de *D. horizonthalis*, com destaque pela rapidez na recuperação da fotossíntese. Para a *B. decumbens* ocorreu um comportamento similar em que a folha adulta

também recuperou o ETR rapidamente, mas para *I. grandifolia* a recuperação do ETR foi mais lenta (Figuras 28 e 29).

No intervalo de 96 horas após a aplicação a folha adulta de *D. horizonthalis* manteve um comportamento parecido da última avaliação com uma redução de 80% do ETR. Mas no intervalo monitorado de 192 horas após a aplicação ocorreu uma recuperação mais significativa do ETR, sendo de 27% em relação ao intervalo avaliado de 96 horas.

Após 192 horas do início do experimento surgiu a terceira folha da *D. horizonthalis*, com um valor de ETR muito próximo das demais folhas no momento inicial do experimento. E no último período monitorado de 336 horas após a aplicação do herbicida essa folha nova superou o valor de ETR inicial da folha adulta. Destacando assim, a ausência do amicarbazone nas folhas novas da *D. horizonthalis*, assim como ocorreu para a *B. decumbens*. Apenas a *I. grandifolia* apresentou indícios do amicarbazone na folha nova das plantas, sendo justificado pelo maior comprimento do caule da espécie quando comparado às gramíneas *B. decumbens* e *D. horizonthalis*.

Ainda para o período de 336 horas a folha adulta também se destacou pela recuperação do transporte de elétrons mantendo o ETR 20% menor em relação ao momento inicial em que as plantas estavam ainda sem herbicida em solução.

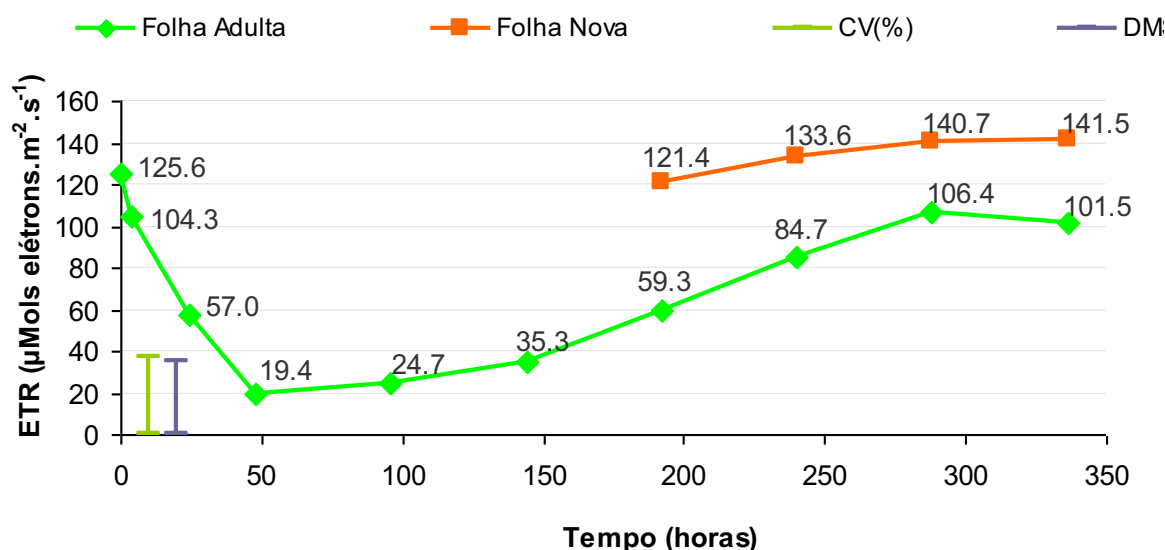


Figura 30. Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) em relação ao tempo, em horas, para folha nova e adulta da espécie daninha *D. horizontalis*. Até 48 horas as plantas ficaram em solução com amicarbazone e após em solução nutritiva. Botucatu/SP - 2010.

Entre as espécies daninhas estudadas ocorreram diferenças de sensibilidade em relação ao amicarbazone. A *I. grandifolia* demonstrou ser mais sensível quando comparado a *B. decumbens* e *D. horizontalis*, visto a baixa recuperação do ETR para as folhas após a substituição da solução herbicida.

Carbonari (2009) observou uma maior sensibilidade de plantas de *I. grandifolia* em relação às plantas de *B. decumbens* em diferentes áreas com aplicação do herbicida amicarbazone em cana-de-açúcar. De acordo com Chiovato (2009), a aplicação do amicarbazone em *Digitaria horizontalis* proporcionou um controle ineficiente aos sete DAA evoluindo para um nível excelente de controle aos 14 DAA.

Diferença na sensibilidade à herbicidas foi observada também para plantas daninhas anuais com o uso do glufosinato. Ridley e Mc Nalley (1985) mensuraram uma diferença de 70% na tolerância entre sete espécies de plantas daninhas anuais. Steckel et al. (1997) encontraram mais que três vezes de diferença em relação a tolerância para o glufosinato entre *Chenopodium album* e *Setaria faberi* (consideradas plantas daninhas de grande impacto nos

Estados Unidos). Estes estudos concluíram que a diferença na sensibilidade foi resultado da absorção e translocação diferencial do glufosinato por essas plantas daninhas.

Na Figura 31 estão apresentados os resultados de consumo de água acumulado para as três espécies daninhas *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizonthalis* mantidas em solução com amicarbazone até o intervalo de 48 horas após início do ensaio.

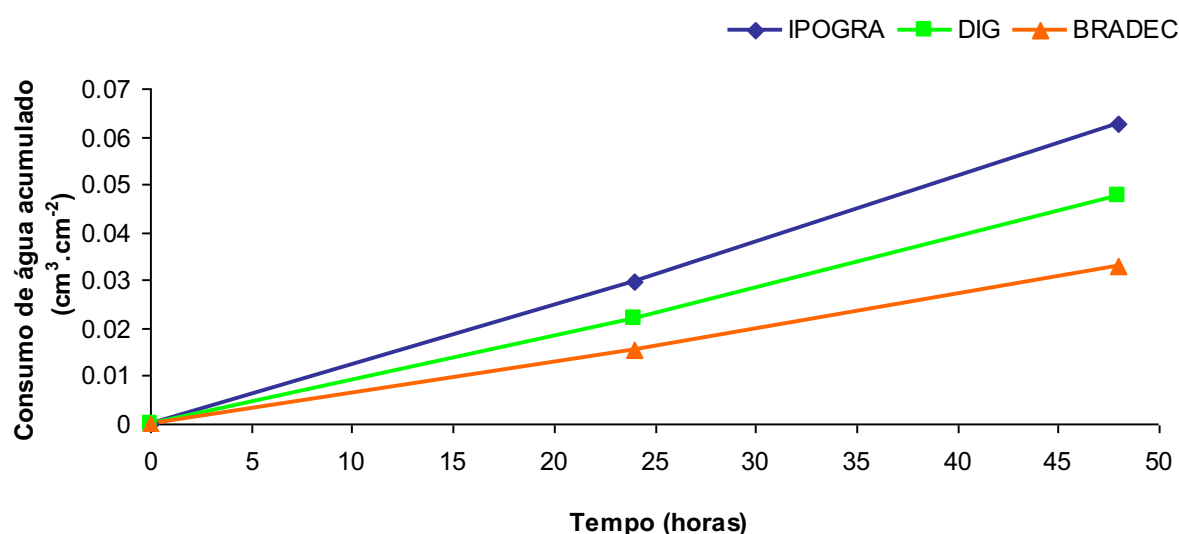


Figura 31. Consumo de água acumulado em relação ao tempo para as três plantas daninhas *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizonthalis* submetidas a solução com amicarbazone. Botucatu/SP - 2010.

A *I. grandifolia* se destacou pelo maior consumo de água, seguida da *D. horizonthalis*. e da *B. decumbens* (Figura 31 e 32). Como há correlação entre consumo de água e absorção de herbicida, talvez esse maior consumo de água da *I. grandifolia* justifique a maior sensibilidade da mesma ao amicarbazone, pela maior absorção do herbicida.

Na Figura 32 estão apresentados os resultados de consumo de água acumulado para as três espécies daninhas *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizonthalis* submetidas à solução com amicarbazone e na sequência em solução nutritiva.

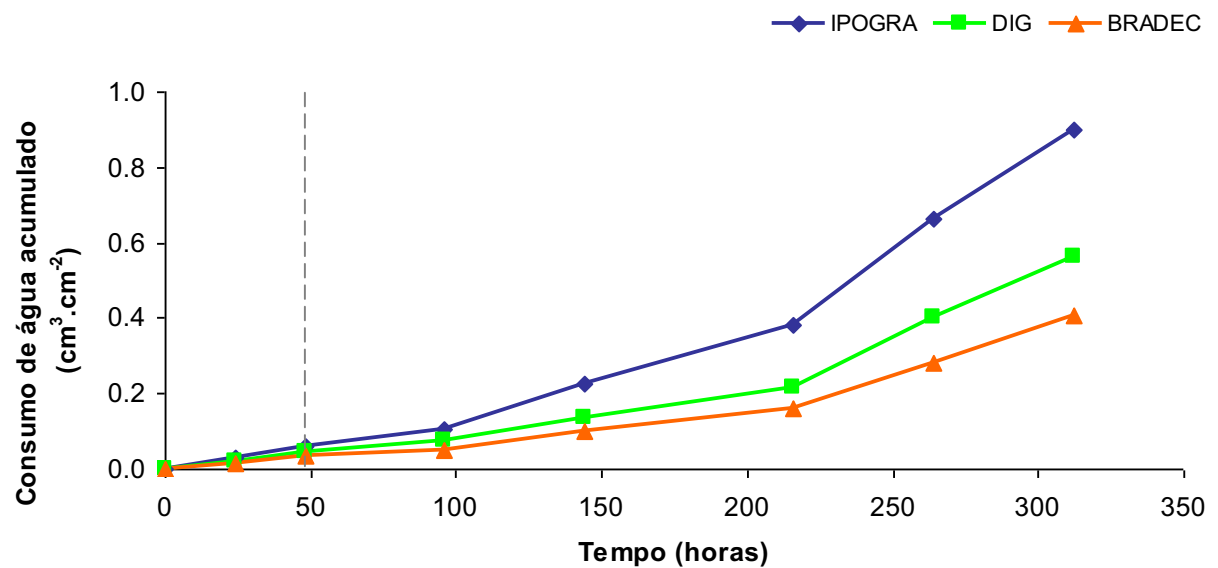


Figura 32. Consumo de água acumulado em relação ao tempo para as três plantas daninhas *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizontalis*. Até 48 horas as plantas ficaram em solução com amicarbazone e após em solução nutritiva. Botucatu/SP - 2010.

O consumo de água para *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizontalis* foi reduzido até o período de 48 horas após a aplicação do amicarbazone e, posteriormente, com a substituição da solução ocorreu a recuperação do consumo de água pelas plantas, aumentando com o passar do tempo, possivelmente em função da recuperação lenta da fotossíntese e da transpiração das plantas daninhas (Figura 32).

6.5. Considerações finais

Primeiramente destaca-se que a metodologia de extração da seiva das plantas através da bomba de Schollander apresentou-se adequada para verificar a concentração de herbicidas em seiva de xilema para plantas daninhas e para a cana-de-açúcar, permitindo assim a comparação entre ambas as espécies e entre as diferentes cultivares de cana-de-açúcar. Também a metodologia fundamentada no fluorômetro mostrou-se adequada para verificar a ação de herbicidas inibidores do fotossistema II, através da verificação instantânea do transporte de elétrons nas plantas submetidas aos herbicidas.

Verifica-se que o consumo de água é determinante para absorção de herbicidas pelas plantas, visto que a cultivar de cana-de-açúcar mais sensível (PO8862) apresentou um índice combinado de absorção de água e concentração de amicarbazone em seiva de xilema maior quando comparado as demais cultivares.

A *I. grandifolia* se destacou em relação a cana-de-açúcar pela maior absorção do amicarbazone e pela maior sensibilidade, uma vez que a inibição de 50% do transporte de elétrons ocorreu com apenas $0,0029 \text{ nMol.cm}^{-2}$ de amicarbazone absorvido.

A susceptibilidade diferencial, das cultivares de cana-de-açúcar PO8862, SP80 3280 e RB83 5486, pode ser justificada pelo consumo de água e absorção diferencial do amicarbazone entre as cultivares.

As plantas daninhas *I. grandifolia*, *B. decumbens* e *D. horizontalis* apresentaram respostas diferenciadas quando submetidas a uma solução nutritiva após solução com amicarbazone. A *I. grandifolia* apresentou-se mais sensível ao amicarbazone pela maior dificuldade em recuperar os níveis iniciais de transporte de elétrons, além de apresentar efeitos nas folhas novas após o término de fornecimento do herbicida. O consumo de água pode explicar esse comportamento para *I. grandifolia*, visto tratar-se da espécie que mais consumiu água e conseqüentemente mais absorveu o amicarbazone.

7. CONCLUSÃO

Nas condições em que foram conduzidos os experimentos pode-se concluir que:

- A redução dos valores da ETR pode ser utilizada para indicar o nível de intoxicação de plantas daninhas e de plantas de cana-de-açúcar ao amicarbazone, um potente inibidor do PSII;
- A taxa de transpiração e, conseqüentemente, a taxa de consumo de água, mostraram-se determinantes da taxa de intoxicação das plantas de diferentes espécies e cultivares pelo amicarbazone;
- As concentrações de herbicidas na seiva do xilema são bastante variáveis em função do tipo de planta e do composto em contato com o sistema radicular indicando que a facilidade de absorção pelas raízes pode ser determinante para a eficácia ou seletividade de herbicidas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASPOOR, M., TEICHER H.B., STREIBIG J.C. The effect of root-absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. **Weed Res.** v.46, p.226-235, 2006.

ABIT, J.M., KASSIM ALKHATIB. Absorption, translocation, and metabolism of mesotrione in grain sorghum. **Weed Sci.** v.57, p.563-566, 2009.

AHRENS, W.H.; ARNTZEN, C.J.; STOLLER, E.W. Chlorophyll fluorescence assay for the determination of triazine resistance. **Weed Sci.**, v.29, p.316-322, 1981.

ANVISA. Sistemas de informações sobre agrotóxicos. Disponível em:
http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&CodIng=514
. Acesso em: jul. 2009.

ARNTZEN, C.J.; DITTO, C.L.; BREWER, P.E. Chloroplast membrane alterations in triazine-resistant *Amaranthus retroflexus* biotypes. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA.** v.76, p.278-282, 1978.

ASTIER, C.; BOUSSAC, A.; ETIENNE, A. L. Evidence for different binding sites on the 33 kDa protein for DCMU, atrazine, and Q_B. **FEBS Lett.** v.167, p.321-326, 1984.

AZANIA, C.A.M.; ROLIM, J.C.; AZANIA, A.A.P.M. **Plantas daninhas**. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.; VANCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). Cana-de-açúcar. Campinas: Instituto Agrônômico, 2008, p.465-490.

AZANIA, C.A.M.; ROLIM, J.C.; CASAGRANDE, A.A.; LAVORENTI, N.A.; AZANIA, A.A.P.M. Seletividade de herbicidas. II-Aplicação de herbicidas em pós-emergência inicial e tardia da cana-de-açúcar em época das chuvas. **Planta Daninha**, v.23, p.669-675, 2005.

AZANIA, C.A.M.; CASAGRANDE, A.A.; ROLIM, J.C. Seletividade de imazapic às soqueiras de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). **Planta Daninha**, v.19, p.345-350, 2001.

BACARIN, M.A.; MOSQUIM, P.R., Cinética de emissão de fluorescência das clorofilas de dois genótipos de feijoeiro. **Ciência Agrotécnica**, v.26, p.705-710, 2002.

BARBER, J. Photosystem two. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1365, p.269–277, 1998.

BELKHODJA, R. et al. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Plant Physiol.**, v. 104, n. 2, p. 667-673, 1994.

BELTRÃO, N.E.M.; AZEVEDO, D.M.P. **Controle de plantas daninhas na cultura do algodoeiro**. Campina Grande, PB: EMBRAPACNPA; Brasília: EMPRAPA-SPI, 1994. 154p.

BIANCO, S.; TONHÃO, M.A.R.; PITELLI, R.A. Crescimento e nutrição mineral de capim-braquiária. **Planta Daninha**, v.23, p.423-428, 2005.

BÔLHAR-NODENKAMPF, H.R.; OQUIST, G.O. **Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research**. In: HALL, D.O.; SCURLOCK, J.M.O.; BÔLHAR-NODENKAMPF, H.R.; LEEFOOD, R.C.; LONG, S.P. (Ed.). *Photosynthesis and production in a changing environment*. London: Chapman & Hall, 1993, p.193-206.

BOWN, A. W.; HALL, D. E.; MACGREGOR, K. B. Insect footsteps on leaves stimulate the accumulation of 4-aminobutyrate and can be visualized through increased chlorophyll fluorescence and superoxide production. **Plant Physiol.**, v. 129, p. 1430-1434, 2002.

BRAZ, B.A.; DURIGAN, J.C. Eficiência biológica de herbicidas aplicados em pós-emergência isolados ou em misturas, para o controle de *Brachiaria decumbens*, na cultura da cana-de-açúcar. **Stab. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.10, p.15-22, 1992.

BREITENBACH, J.; ZHU, C.; SANDMAN, G. Bleaching herbicide norflurazon inhibits phytoene desaturase by competition with the cofactors. **J. Agric. Food Chem.**, v.49, p.5270-5272, 2001.

BRIGGS, G.C.; BROMILOW, R.H.; EVANS, A.A. Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. **Pesticide Science**, v.13, p.495-504, 1982.

BRIGGS, G.G. Factors **affecting the uptake of soil-applied chemicals and other organism**. In: HANCE, R.J. (Ed.) Soils and crop protection chemicals. Croydon: British Crop Protection council, 1984, p.35-48.

CAMARGO, A.M.P et al. Dinâmica e tendência da expansão da cana-de-açúcar sobre as demais atividades agropecuárias. **Informações Econômicas**, v.38, p.47-61, 2008.

CAMARGO Jr, A.S.; TONETO, Jr, R. Indicadores sócio-econômicos e a cana-de-açúcar no estado de São Paulo. **Informações econômicas**. v.39, p.57-67, 2009.

CAMILLERI, P.; BOWYER, J. R.; GILKERSON, T.; ODELL, B.; WEAVER, R. C. Structure-activity relationships in the Hill inhibitory activity of substituted phenylureas. **J. Agric. Food Chem.** **1987**, v.35, p.479-483, 1987.

CARBONARI, C.A. **Eficácia do herbicida amicarbazone em aplicação conjunta com a colheita de cana-de-açúcar no controle das principais plantas daninhas da cultura**. 2007, 119p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

CARBONARI, C.A. **Efeito da palha na disponibilidade do herbicida amicarbazone na solução do solo em áreas cultivadas com cana-de-açúcar**. 2009, 101p. Tese (Doutorado em Agronomia / Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

CARRETERO, D.M. **Efeitos da inibição da protoporfirinogênio IX oxidase sobre as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de soja (*Glycine max*)**. 2008, 57f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

CARVALHO, S.J.P.; LOMBARDI, B.P.; NICOLAI, M.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MEDEIROS, M. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, v.23, p.535-542, 2005.

CATANEO, A.C.; CHAMMA, K.L.; FERREIRA, L.C.; DÉSTRO, G.F.G.; CARVALHO, J.C.; NOVELLI, E.L.B. Glutathione S-transferase activity in acetochlor, atrazine and oxyfluorfen metabolism in maize (*Zea mays* L.), sorghum (*Sorghum bicolor* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). **Acta Scientiarum**, v.24, p.619-623, 2002.

CATANEO, A.C.; DÉSTRO, G.F.G.; FERREIRA, L.C. CHAMMA, K.L.; SOUSA, D.C.F. Atividade de glutathione S-transferase na degradação do herbicida glyphosate em plantas de milho (*Zea mays*). **Planta Daninha**, v.21, p.307-312, 2003.

CATANEO, A.C.; CARVALHO, J.C. **Desintoxicação de herbicidas pelas plantas: transformação química e compartimentalização vacuolar**. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.). Manual de manejo e controle de plantas daninhas. Passo fundo: Embrapa Trigo, 2008. 78 p.

CATUNDA, M.G.; FREITAS, S.P.; OLIVEIRA, J.G.; SILVA, C.M.M. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, v.23, p. 115-121, 2005.

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

CHIOVATO, M.G. **Controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar com herbicidas aplicados na época seca**. 2009, 103p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.

CHRISTOFFOLETI, P.J. Manejo de plantas daninhas em cana-de-açúcar. **Sinal Verde**, v.10, p12-14, 1997.

CHRISTOFFOLETI, P. J. et al. Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar: novas moléculas herbicidas. In: II Simpósio de Tecnologia de Produção de Cana-de-Açúcar, 2005, Piracicaba. **Anais...ESALQ/POTAFOS**, 2005.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Previsão de safra- Safra 2009 segundo levantamento**. São Paulo: CONAB, 2009. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 09 nov. 2009.

CONSTANTIN, J. **Avaliação da seletividade do herbicida halosulfuron à cana-de-açúcar.** Botucatu, 1997, 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciência Agrônômicas – UNESP, Botucatu, 1997.

DALLEY, C.D.; BERNARDS, M.L.; KELLS, M.J. Effect of water removal timing and row spacing on soil moisture in corn (*Zea mays*), **Weed Ecology**, v.20, p.399-409, 2006.

DAYAN, F.E.; VINCENT, A.C.; ROMAGNI, J.C.; ALLEN, S.N.; DUKE, S.O.; DUKE, M.V.; BOWLING, J.J.; ZJAWIONY, J.K. Amino and urea substituted thiazoles inhibit photosynthetic electron transfer. **J. Agric. Food Chem.**, v.48, p.3689-3693, 2000.

DAYAN, F.E.; TRINDADE, M.L.B.; VELINI, E.D. Amicarbazone, a new photosystem II inhibitor. **Weed Science**, v.57, p.579-583, 2009.

DEVINE, M.D.; BANDEEN, J.D.; McKERSIE, B.D. Temperature effects on glyphosate absorption, translocation and distribution in quackgrass (*Agropyron repens*). **Weed Science**, v.31, p.461-464, 1983.

DEVINE, M. D.; VANDENBORN, W.H. Absorption, translocation, and foliar activity of clopyralid and chlorsulfuron in Canada thistle (*Cirsium arvense*) and perennial sowthistle (*Sonchus arvensis*). **Weed Sci.**, v.33, p.524–530, 1985.

DINER, B.A.; BABCOCK, G.T. **Structure, dynamics, and energy conversion efficiency in photosystem II.** In: ORT, D.R.; YOCUM, C.F. (Ed.). Oxygenic photosynthesis: The light reactions. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996.

DONALD, W. W. The biology of Canada thistle (*Cirsium arvense*). **Rev. Weed Sci.**, v.6, p.77–101, 1994.

DUCREST, J. M.; GASQUEZ, J. Fluorescence as a means of detecting the chloroplastic resistance of *Cbenopodium album* L. and *Poa annua* L. to atrazine. **Chemosphere**, v.7, p.691-696, 1978.

EGNER, U.; HOYER, G.A.; SAENGER, W. The binding of triazine herbicides to the photosynthetic reaction center of *Rhodopseudomonas viridis*. **Eur. J. Biochem.** v.206, p.685-690, 1992.

ELMORE, C.D.; HURST, H.R.; AUSTIN, D.F. Biology and control of morningglories (*Ipomoea* spp.). **Weed Science**, v.5, p.83-114, 1990.

FENG, P.C.C.; RYERSE, J.S.; SAMMONS, R.D. Correlation of leaf damage with uptake and translocation of glyphosate in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). **Weed Technology**, v.12, p. 300-307, 1998.

FERREIRA, E.A.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; VENTRELLA, M.C.; BARBOSA, M.H.P.; PROCÓPIO, S.O.; REBELLO, V.P.A. Sensibilidade de cultivares de cana-de-açúcar à mistura Trifloxysulfuron-sodium+Ametryn. **Planta Daninha**, v.23, p.93-99, 2005.

FOYER, C.H.; MULLINEAUX, P.M. **Causes of Photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants**. CRC Press, Boca Raton, FL., 1994.

FUERST, E.P.; NORMAN, M. A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. **Weed Sci.**, v.39, p.458-464, 1991.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v.990, p.87-92, 1989.

GONNEAU, M., PASQUETTE, B., CABANNE, F., SCALLA R. Metabolism of chlortoluron in tolerant species: possible role of cytochrome P-450 mono-oxygenases. **Weed Res.**, v.28, p.19–25, 1988.

GORINOVA, N.; NEDKOVSKA, M.; ATANASSOV, A. Cytochrome p-450 monooxygenases as a tool for metabolizing of herbicides in plants. **Biotechnol. Biotechnol. Equip.**, v.19, p.105-115, 2005.

GRONWALD, J.W. **Resistance to photosystem II inhibiting herbicides**. In: POWLES, S.; HOLTUM, J. (Ed.). *Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry*. Boca Raton: CRC, 1994, p.27-60.

GUIDI, L.; TANINI, M.; SOLDATINI, G.F. Effects of high light and ozone fumigation on photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.38, p.717-725, 2000.

HAVAUX, M.; NIYOGI, K.K. The violaxanthin cycle protects plantas from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.96, p.8762-8767, 1999.

IRELAND, C.R.; PERCIVAL, M.P.; BAKER, N.R. Modification of the induction of photosynthesis in wheat by glyphosate, an inhibitor of amino acid metabolism. **J. Exp. Bot.**, v.37, p.299-308, 1986.

JANSEN, M.A.K., MATTOO, A.K., MALKIN, S., EDELMAN, M. Direct demonstration of binding-site competition between photosystem II inhibitors at the Q_B niche of the D₁ protein. **Pes. Biochem. Physiol.**, v.46, p.78-83, 1993.

JONES JÚNIOR, R.E.; WALKER, R.H. Effect of interespecific, light intensity, and soil moisture on soybean (*Glycine max*), common cockbleur (*Xanthium strumarium*), and sicklepod (*Senna obtusifolia*) water uptake. **Weed Science**, v.41, p.534-540, 1993.

KORRES, N.E., FROUD-WILLIAMS, R.J., MOSS, S.R. Chlorophyll fluorescence technique as a rapid diagnostic test of the effects of the photosynthetic inhibitor chlortoluron on two winter wheat cultivars. **Ann. Applied Biol.**, v.143, p.53-56, 2003.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual Review of Plant Physiology and plant Molecular Biology**, v.42, p.313-349, 1991.

KLUTH, J.F.; TIETJEN, K.G.; ANDREE, R.; EWALD, R.; OETTMEIER, W.; TREBST, A. Thiazoles that inhibit photosynthetic reaction centres both in purple bacteria and chloroplasts. **Pestic. Sci.**, p.424-427, 1991.

KRAUSE, G. H.; WINTER, K. Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forest gaps: a chlorophyll fluorescence study. **Bot. Acta**, v. 109, p. 456-462, 1996.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase specificity factor, dark respiration in the light, excitation distribution between photosystems, alternative electron transport rate, and mesophyll diffusion resistance. **Plant Physiol**, v.110, p.903-912, 1996.

LANCASTER, C.R.; ERMLER, U.; MICHEL, H. 1995. **The structures of photosynthetic**. In: BLANKENSHIP, R.E.; MADIGAN, M.T.; BAUER, C.E. (Ed.). Anoxygenic photosyn reaction

centers from purple bacteria as revealed by X-ray crystallography. *Athetic bacteria*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers., 1995, p.503-526.

LIANG, J.; ZHANG, J.; WONG, M.H. Stomatal conductance in relation to xylem sap ABA concentration in two tropical trees: *Acacia confuse* and *Litsea glutinosa*. **Plant Cell Environ.**, v.19, p.93-100, 1996.

MACKAY, S.P.; O'MALLEY, P.J. Molecular modelling of interactions between optically active triazine herbicide and photosystem II. **Z Naturforsch**, v.48, p.474-481, 1993.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **J. Exp. Bot.**, v.51, p.659-668, 2000.

MATTOO, A.K.; HOFFMAN-FALK, H.; MARDER, J.B.; EDELMAN, M. Regulation of protein metabolism: Coupling of photosynthetic electron transport to in vivo degradation of the rapidly-metabolized 32kDa protein of the chloroplast membranes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.81, p.1380–1384, 1984.

MAZZA, C.A.; BOCCALANDRO, H.E.; GIORDANO, C.V.; BATTISTA, D.; SCOPEL, A.L.; BALLARÉ, C.L. Functional significance and induction by solar radiation of ultraviolet-absorbing sunscreens in field-grown soybean crops. **Plant Physiol.**, v. 122, n. 1, p. 117-126, 2000.

MECKEL, L.D.; EGLI, B.; PHILLIPS, R.E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J.E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v.76, n.4, p.647-650, 1984.

METS, L.; THIEL A. **Biochemistry and genetic control of the photosystem II herbicide target site**. In BOGER, P., SANDMANN, G., (Ed.). *Target Sites of Herbicide Action*, CRC Press: Boca Raton, FL, 1989, p.1-24.

MILES, C. D.; DANNIEL, D.J. A rapid screening technique for photosynthetic mutants of higher plants. **Plant Sci. Lett.**, v.1, p.227-240, 1973.

MOHANTY, P.; GOVINDJEE. The slow decline and the subsequent rise of chlorophyll fluorescence transients in intact algal cells. **Plant Biochem. J.**, v.1, p.78-106, 1974.

NEGRISOLI, E.; ROSSI, C.V.S.; VELINI, E.D.; CAVENAGHI, A.L.; COSTA, E.A.D.; TOLEDO, R.E.B. Controle de plantas daninhas pelo amicarbazone aplicado na presença de palha de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, v.25, p.603-611, 2007.

OETTMEIER, W. **Herbicides of photosystem II**. In: BARBER, J. (Ed.). The photosystems: Structure, function and molecular biology. Amsterdam: Elsevier., 1992, p.349-408.

OHAD, I.; KYLE, D.J.; ARNTZEN, C.J. Membrane protein damage and repair: removal and replacement of inactivated 32-kilodalton polypeptides in chloroplast membranes. **J. Cell Biol.**, v.99, p.481-485, 1984.

OLBRICH, B.W.; ROUX, D.L.E.; POULTER, A.G. Variation in water use efficiency and $G^{13}C$ levels in *Eucalyptus grandis* clones. **Journal Hydrology**, v.150, p.615-633, 1993.

OLIVEIRA, J.G.; ALVES, P.L.C.A.; MAGALHÃES, A.C. The effect of chilling on the photosynthetic activity in coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings. The protective action of chloroplastid pigments. **Braz. J. Plant Physiol.**, v.14, p.95-104, 2002.

OLIVEIRA Jr., R.S. **Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas**. In: OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J. (Ed.). Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 291-314.

OSMOND, C.B. **What is photoinhibition? Some insights from comparisons of sun and shade plants**. In: BAKER, N.R.; BOWYER, J.R. Photoinhibition and photosynthesis: from molecular mechanisms to the field. Bios scientific Publisher, 1994, p.1-24.

PEREWOSKA, I.; ETIENNE, A.L.; MIRANDA, T.; KIRILOVSKY, D. S_1 Destabilization and Higher Sensitivity to Light in Metribuzin-Resistant Mutants. **Plant Physiol.**, v.104, p.235-245, 1994.

PETERSON, R.B.; AYLOR, D.E. Chlorophyll fluorescence induction in leaves of *Phaseolus vulgaris* infected with bean rust (*Uromyces appendiculatus*). **Plant Physiol.**, v.108, p.163-171, 1995.

PFISTER, K.; STEINBACK, K.K.; GARDNER, G.; ARNTZEN, C.J. Photoaffinity labeling of a herbicide receptor in chloroplast membranes. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.78, p.981-985, 1981.

PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; VARGAS, L.; FERREIRA, F.A. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa. Universidade Federal de viçosa, 2003, 150p.

PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; VARGAS, L. **Manejo e controle de plantas daninhas em cana-de-açúcar**. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. Manual de manejo e controle de plantas daninhas. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008, 780 p.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; SILVA, A.A.; MARTINEZ, C.A.; WERLANG, R.C. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.22, p.211-216, 2004.

RENGER, G. Water cleavage by solar radiation-An inspiring challenge of photosynthesis research. **Photosyn Res**, v.38, p.229-247, 1993.

RETZINGER, E.J.; MALLORY-SMITH, C. Classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. **Weed Technol.**, v.11, p.384-393, 1997.

RICHARD JR, E.P.; GOSS, J.R.; ARNTZEN, C.J.; SLIFE, F.W. Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence. **Weed Science**, v.31, p.361-367, 1983.

RIDLEY, S.M.; MCNALLY, S.F. Effects of phosphinothricin on the isoenzymes of glutamine synthetase isolated from plant species which exhibit varying degrees of susceptibility to the herbicide. **Plant Sci**, v.39, p.31-36, 1985.

RINTAMÄKI, E.; KETTUNEN, R.; ARO, E. M. Differential D₁ dephosphorylation in functional and photodamaged Photosystem II centres. Dephosphorylation is a prerequisite for degradation of damaged D₁. **J. Biol. Chem.** v.271, p.14870-14875, 1996.

RODEN, J.S.; BALL, M.C. The effect of elevated [CO₂] on growth and photosynthesis of two eucalyptus species exposed to high temperatures and water deficits. **Plant Physiol.**, v.111, p.909-919, 1996.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**, 5 ed., Londrina, 2005, 592p.

ROSSI, C.V.S. **Dinâmica e eficácia no controle de plantas daninhas pelo herbicida metribuzin aplicado sobre palha de cana-de-açúcar**. 2004, 95p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

RYAN, P.J., GROSS, D., OWEN, W.J., LAANIO, T.L. The metabolism of chlortoluron, diuron, and CGA 43 057 in tolerant and susceptible plants. **Pestic. Biochem. Physiol.**, v.16, p.213-221, 1981.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Fisiologia vegetal**. México: Iberoamérica, 1994, 758p.

SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, R.; DAVIES, T.G.E.; COLEMAN, J.O.D.; REA, P.A. The *Arabidopsis thaliana* ABC protein superfamily: a complete inventory. **Journal of Biological Chemistry**, v.276, p.30231-30244, 2001.

SANT'ANNA A.; FERRAZ, J.V.; SILVA, M.L.M. Agriannual 2009: Anuário da Agricultura Brasileira, **iFNP**, p.256-257, 2009.

SATICHIVI, N.M.; WAX, L.M.; STOLLER, E.W.; BRISKIN, D.P. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Sci.**, v.48, p.675-679, 2000.

SENSEMAN, S.A. **Herbicide Handbook**, 9thed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America. 2007, 233p.

SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; BRADSTREET, E.D.; HEMMINGSEN, E.A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v.148, p.339-346, 1965.

SHARMA, J.; PANICO, M.; SHIPTON, C.A.; NILSSON, F.; MORRIS, H.R.; BARBER, J. Primary structure characterization of the photosystem II D₁ and D₂ subunits. **J. Biol. Chem.** v.272, p.33158-33166, 1997.

SHIMOTORI, H.; KUWATSUKA, S. Absorption, translocation and metabolism of CNP, a diphenyl ether herbicide, and its amino derivative in rice plants. **J. Pesticide**, v.3, p.267-275, 1978.

SILVA, A.A. et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília: ABEAS, 2003, 260p.

SILVA, J. F. et al. **Herbicida: absorção, translocação, metabolismo, formulação e misturas.** In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367p.

SKÓRSKA, E.; MURKOWSKI, A. Comparison of susceptibility of crop oat cv.AKT and wild oat leaves to Dicuran 80 WP in mixture with two adjuvants, measured by chlorophyll fluorescence. **Acta Agrophysica**, v.14, p.463-468, 2009.

SOBOLEV, V.; EDELMAN, M. Modeling the quinone B binding site of the photosystem II reaction center using notions of complementarity and contact-surface between atoms. **Proteins**, v.21, p.214-225, 1995.

SOUZA, J.P.; PRADO, C.H.B.A. **Influência de um bloqueador do transporte de elétrons na variação diurna da fotossíntese líquida e da fluorescência da clorofila.** Fisiologia Vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. Barueri, editora Manole, 2008. ISBN: 85.204.1553-9. www.manole.com.br/fisiologiavegetal.

SOUZA, J.R.; PERECIN, D.; AZANIA, C.A.M.; SCHIAVETO, A.R.; PIZZO, I.V.; CANDIDO, L.S. Tolerância de cultivares de cana-de-açúcar a herbicidas aplicados em pós-emergência. **Bragantia**, v.68, p.873-884, 2009.

STECKEL, G.J.; HART, S.E.; WAX, L.M. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. **Weed Sci.**, v.45, p.378-381, 1997.

SULTAN, S.E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution and Development**, v.5, p.25-33, 2003.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4ª edição. Editora Artmed, 2009, 820p.

TISCHER, W.; STROTMANN, H. Relationship between inhibitor binding by chloroplasts and inhibition of photosynthetic electron transport. **Biochim. Biophys. Acta**, v.460, p.113-125, 1977.

TOLEDO, R.E.B. et al. Dinamic (amicarbazone) - novo herbicida seletivo para o controle de plantas daninhas em pré e pós-emergência na cultura da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 24, 2004, São Pedro. **Anais...** São Pedro: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2004. p.451.

TORQUATO, S.A.; MARTINS, R.; RAMOS, S.F. Cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: eficiência econômica das regionais novas e tradicionais de produção. **Informações Econômicas**, v.39, p.92-99, 2009.

TREBST, A. The topology of the plastoquinone and herbicide binding peptides of photosystem II in the thylakoid membrane. **Z. Naturforsch.**, v.41, p.240–245, 1986.

VALENZUELA-VALENZUELA, J.M.; LOWNDS, N.K.; STERLING, T.M. Clopyralid uptake, translocation, metabolism, and ethylene induction in picloram-resistant yellow starthistle (*Centaurea solstitialis* L.). **Pestic. Biochem. Physiol.**, v.71, p.11–19, 2001.

VAN OORSCHOT, J.L.P., VAN LEEUWEN, P.H. Use of fluorescence induction to diagnose resistance of *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass) to chlortoluron. **Weed Res.**, v.32, p.473–482, 1992.

VELINI, E.D. et al. Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryne, aplicada em pré e pós emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana-planta). **Planta Daninha**, v.18, p.123-134, 2000.

VELTHUYS, B.R. Electron-dependent competition between plastoquinone and inhibitors for binding to photosystem II. **FEBS Lett**, v.126, p.277–281, 1981.

VICTORIA FILHO, R.; CHRISTOFFOLETI, P.J. **Manejo de plantas daninhas e produtividade da cana-de-açúcar**. Visão Agrícola, 2004, p.32-37.

VIDAL, R.A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre/RS. 1997. 165p.

VIRGIN, I.; GHANOTAKIS, D.F.; ANDERSSON, B. Light-induced D₁-protein degradation in isolated photosystem II core complexes. **FEBS Lett**. v.269, p.45–48, 1990.

YAMAMOTO, Y. Quality control of photosystem II. **Plant Cell Physiol.**, v.42, p.121-128, 2001.

YORDANOVA, E.; GEORGIEV, K.; GORINOVA, N.; YORDANOV, Y. Influence of the herbicide chlortoluron on photosynthetic activity in transgenic tobacco plants. **Photosynthetica**, v.39, p.313-316, 2001.

YOUNG, A. L.; FRANK, H. A. Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence. **J. Photoch. Photobiol. B: Biol.**, v.36, p.3-15, 1996.

WICHERT, R.A.; TALBERT, R.E. Soybean (*Glycine max* L.) response to lactofen. **Weed Science**, v.41, p.23-27, 1993.

WIXSON, M.B.; SHAW, D.R. Use of AC 263,222 for sicklepod (*Cassia obtusifolia*) control in soybean (*Glycine max*). **Weed Technol.**, v.5, p.276-279, 1991.