

EDICARLOS BATISTA DE CASTRO

**EFEITO DA APLICAÇÃO DIURNA E NOTURNA DE GLUFOSINATE NO
ACÚMULO DE AMÔNIA, TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E CONTROLE
DE PLANTAS DANINHAS**

Botucatu

2018

EDICARLOS BATISTA DE CASTRO

**EFEITO DA APLICAÇÃO DIURNA E NOTURNA DE GLUFOSINATE NO
ACÚMULO DE AMÔNIA, TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E CONTROLE
DE PLANTAS DANINHAS**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

Coorientador: Prof. Dr. Te-Ming Paul Tseng

Botucatu

2018

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

C355e Castro, Edicarlos Batista de, 1987-
Efeito da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle de plantas daninhas / Edicarlos Batista de Castro. - Botucatu: [s.n.], 2018
96 p.: fots. color., grafs. color., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Caio Antonio Carbonari
Coorientador: Te-ming Paul Tseng
Inclui bibliografia

1. Plantas daninhas - Controle. 2. Herbicidas. 3. Amônia. 4. Glutamina sintetase. I. Carbonari, Caio Antonio. II. Tseng, Te-ming Paul. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:

“EFEITO DA APLICAÇÃO DIURNA E NOTURNA DE GLUFOSINATE NO
ACÚMULO DE AMÔNIA, TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS E
CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS”

AUTOR: EDICARLOS BATISTA DE CASTRO

ORIENTADOR: CAIO ANTONIO CARBONARI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



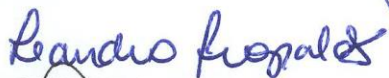
Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI

Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / FCA / UNESP / Botucatu



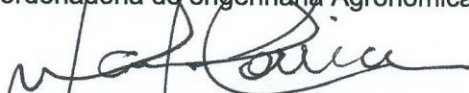
Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / FCA / UNESP de Botucatu/SP



Prof. Dr. LEANDRO TROPALDI

Coordenadoria de engenharia Agrônômica / FCAT/Unesp Dracena



Dr. MARCELO ROCHA CORRÊA

. / TECHFIELD ASSESSORIA E CONSULTORIA EM AGRICULTURA LTDA



Dra. IVANA PAULA FERRAZ SANTOS DE BRITO

. / Botucatu/SP

Botucatu, 19 de outubro de 2018.

DEDICO

Aos meus pais Maurício Castro e Tânia Regina, pelo ensinamento,
incentivo, confiança, exemplo de vida, paciência e amor.

Aos meus irmãos Elaine Castro e Euler Castro,
por todo carinho, respeito e amizade que temos entre nós

A minha sobrinha Maria Laura,
pela alegria e inspiração para seguir em frente

A minha eterna namorada, Amanda Bedette, pelo apoio,
paciência, parceria, ajuda e principalmente
pelos bons momentos que passamos juntos.

Amo vocês

AGRADECIMENTOS

A Deus por prover grandes oportunidades, sabedoria e paciência para alcançar mais um objetivo.

Agradeço ao Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari, pela orientação e amizades nesses cinco anos de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, pelas contribuições para este trabalho e todas as vezes que me pedia para ter paciência.

Aos familiares e amigos que fazem parte da minha história e me deram força para chegar até aqui.

Aos amigos de república Diego Belapart, Luis Gustavo Simões e Márcio Furriela.

Aos Amigos Da IASD-Vila dos Lavradores de Botucatu-SP pelo acolhimento e constantes orações.

Aos Amigos do NUPAM, em especial ao Fábio Krenchinski, Gabrielle Macedo, Saulo Simões, Francisco Júnior, Victor Salomão, Ronei Ben, Tiago Gazola, Giovanna Gomes, Leandro Bianchi, Renan Nascentes, Leandro Tropaldi, Renato Costa, Izabela Carvalho e Carol Sipione pela amizade e contribuição no meu crescimento profissional.

Aos amigos Luiz Marcelo Siono, José Guilherme Cordeiro e José Roberto Marques Silva pelos bons momentos vividos e constantes colaborações na realização dos experimentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia / Proteção de Plantas da Faculdade de Ciências Agronômicas-UNESP, pela oportunidade e formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A Mississippi State University, juntamente com o Prof. Dr. Paul Tseng pela oportunidade de conhecer o exterior, desenvolver meu inglês e fazer parte da família Bulldogs.

O título de Doutor aqui conquistado foi fruto da colaboração de cada um de vocês.

Meus sinceros agradecimentos

RESUMO

As plantas daninhas causam grandes perdas de produtividade nas culturas devido à competição imposta por estas espécies. Para controlar tais espécies, é necessário adotar práticas efetivas de manejo. O glufosinate, é um herbicida aplicado em pós emergência, com amplo espectro de controle em planta daninhas, podendo ser utilizado como uma alternativa viável por apresentar diferente mecanismo de ação. Estudos de efeito de glufosinate em aplicação diurna e noturna são importantes, para verificar se existe diferença em seu comportamento em função do horário de aplicação. Neste trabalho, as plantas daninhas *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica*, *Ipomoea grandifolia* e *Euphorbia heterophylla* foram submetidas a aplicação diurna e noturna de glufosinate para verificar os seus efeitos no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons (ETR) e controle desta espécie. Para atingir estes objetivos a tese foi dividida em 3 capítulos: (1) Efeitos da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle das plantas daninhas *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica*; (2) Efeitos da aplicação diurna e noturna de glufosinate em no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*; (3) Efeito de glufosinate no acúmulo de amônia em plantas daninhas aplicadas em diferentes condições de luz e formulações do herbicida, e a velocidade de resposta à ETR. As aplicações diurnas e noturnas de glufosinate geraram acúmulo de amônia diretamente proporcional à dose utilizada. A aplicação noturna de glufosinate, em plantas daninhas mantidas no escuro, não proporcionou aumento no teor de amônia. A ETR avaliada 12 horas após a aplicação (HAA) de glufosinate realizada às 7:30 h, foi reduzida; enquanto que para o mesmo período de tempo, após aplicação realizada às 19:30 h, não houve redução. Entretanto, 24 HAA, os resultados foram semelhantes, independente do horário do tratamento. As avaliações de ETR realizadas minutos após a aplicação de glufosinate, demonstraram que a ação desse herbicida reduz rapidamente a ETR. A aplicação do glufosinate proporcionou o controle eficiente das plantas daninhas, resultando em redução da massa seca de todas as espécies avaliadas. O acúmulo crescente da amônia foi inversamente proporcional à ETR, portanto, a ETR tem potencial para caracterizar a inibição da glutamina sintetase. A aplicação diurna e noturna do glufosinato apresentou controle eficiente, independente

do tempo de tratamento. Estes resultados sugerem que a aplicação diurna e noturna pode ser utilizada para o controle de *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica* em estágio inicial.

Palavras-chave: Concentração de amônia; ETR; Glutamina sintetase; Herbicida; Injúria.

ABSTRACT

The weeds cause great losses of productivity in the crops due to the competition imposed by these species. To control such species, it is necessary to adopt effective management practices. Glufosinate is a non-selective herbicide applied post-emergence, with a broad spectrum of weed control, and can be used as a viable alternative for presenting different mode of action. Glufosinate effects studies in day and night application are important, to verify if there is a difference in their behavior depending on the application time. In this study, *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum*, *Eleusine indica*, *Ipomoea grandifolia* and *Euphorbia heterophylla* were submitted to day and night application of glufosinate to verify their effects on the ammonia accumulation, electron transport rate (ETR) and weed control. To achieve these goals the thesis was divided into 3 chapters: (1) Effects of day and night glufosinate application on ammonia accumulation, electron transport rates and weed control of *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* and *Eleusine indica*; (2) Effects of day and night glufosinate application on ammonia accumulation, electron transport rates and weed control of *Euphorbia heterophylla* and *Ipomoea grandifolia*; (3) Effect of glufosinate on ammonia accumulation in applied weeds in different conditions of light and herbicide formulations, and the response of ETR. The day and night application of glufosinate generated ammonia accumulation directly proportional to the dose used. The night application of glufosinate on weeds kept in the dark not increase the ammonia content. The ETR evaluated 12 hours after application (HAA) of glufosinate performed at 7:30 a.m., was reduced; while, for the same period of time, after application at 7:30 p.m., there was not reduction. However, 24 HAA the results were similar, regardless of the treatment time. The ETR evaluations performed minutes after glufosinate application, demonstrated that the herbicide reduces the ETR rapidly. The glufosinate application provided efficient weed control resulting in dry mass reduction of all evaluated species. The increasing ammonia accumulation was inversely proportional to ETR; thus ETR has potential to characterize glutamine synthetase inhibition. The day and night time application of glufosinate presented efficient control, regardless of the treatment timing. These results suggest that day and night time application can be used to control *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum*, and *Eleusine indica* in early stage.

Keywords: Ammonia concentration; ETR; Glutamine synthetase; Herbicide; Injury.

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - Efeitos da aplicação diurna e noturna e glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle das plantas daninhas <i>Digitaria insularis</i>, <i>Lolium multiflorum</i> e <i>Eleusine indica</i>	18
1.1 INTRODUÇÃO	21
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	23
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
1.4 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS (DO CAPÍTULO).....	42
CAPÍTULO 2 - Efeitos da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle de <i>Euphorbia heterophylla</i> e <i>Ipomoea grandifolia</i>	51
2.1 INTRODUÇÃO	53
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	55
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
2.4 CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS (DO CAPÍTULO).....	69
CAPÍTULO 3 - Efeito de glufosinate no acúmulo de amônia em plantas daninhas aplicadas em diferentes condições de luz e formulações do herbicida, e a velocidade de resposta à etr	74
3.1 INTRODUÇÃO	76
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	77
Estudo 1: Quantificação da concentração de amônia nas plantas daninhas	77
Estudo 2: Efeito dos tratamentos aplicados na taxa de transporte de elétrons (ETR)	80
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
Estudo 1: Quantificação da concentração de amônia nas plantas daninhas	82
Estudo 2: Efeito dos tratamentos aplicados na taxa de transporte de elétrons (ETR)	84
3.4 CONCLUSÕES.....	87
REFERÊNCIAS (DO CAPÍTULO).....	89
CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
REFERÊNCIAS (DA INTRODUÇÃO GERAL).....	93

INTRODUÇÃO GERAL

A agricultura tem apresentado crescimento nos últimos anos, resultados de altos investimentos tecnológicos que possibilitaram a obtenção de elevados índices de produtividade. No entanto, existem vários fatores que podem interferir negativamente nessa produtividade, sendo as plantas daninhas responsáveis por grande parcela (VASCONCELOS et al., 2012). As plantas daninhas podem ocasionar redução na produtividade de grãos ao redor de 20 a 30%, chegando a atingir 90% em ausência de seu controle (BLANCO et al., 1973). Segundo Oerke (2006), as perdas na produtividade da cultura da soja podem chegar a 37% pela interferência de plantas daninhas ocasionadas no mundo. Para a cultura do milho, as perdas não se limitam unicamente à produtividade de grãos, mas também em fatores econômicos, além da qualidade de silagem e grãos (JAKELAITIS et al., 2004) e na colheita (KARAM; MELHORANÇA, 2002).

A grande perda ocasionada pela interferência das plantas daninhas nas culturas ocorre, em função da competição imposta por plantas bem adaptadas às condições edafoclimáticas desfavoráveis, por serem agressivas quanto à alta capacidade de disseminação e longevidade em novas áreas pela grande produção de propágulos (LORENZI, 1990). As plantas daninhas necessitam para seu desenvolvimento, dos mesmos fatores exigidos pela cultura, como água, luz, nutriente e espaço, estabelecendo um processo competitivo com a cultura. O grau de interferência dessas plantas nas culturas agrícolas depende da comunidade infestante, de fatores ligados a própria cultura, do ambiente e do período de convivência (PITELLI, 1985).

Uma vez que o crescimento, tanto da cultura quanto das plantas daninhas após a germinação, depende da habilidade dessas plantas em extrair os recursos existentes no ambiente e que, na maioria das vezes, esses recursos são limitados, até mesmo para o próprio desenvolvimento da cultura, estabelece-se, a partir de então, a competição. Essa limitação de recursos pode ser causada pela sua indisponibilidade, pelo suprimento deficiente, ou pela presença de plantas daninhas. Assim, qualquer planta daninha que se estabeleça na área vai usar parte dos fatores de produção da cultura, quando limitados no meio, podendo reduzir a produtividade desta (RADOSEVICH et al., 1996).

Para suprimir a interferência ocasionada pelas plantas daninhas nas culturas, se torna necessário adotar práticas de manejo eficientes. O principal método de controle de plantas daninhas utilizado atualmente é o químico, por meio da aplicação de herbicidas, tanto na condição de pré como de pós-emergência destas plantas (GOMES JR.; CHRISTOFFOLETI, 2008).

O glufosinate é um herbicida aplicado em pós emergência, com amplo espectro de controle de plantas daninhas. Esse herbicida, é uma mistura sintética de dois isômeros óticos, D e L do composto natural fosfinotricina, sendo o único herbicida comercial responsável por inibir a enzima glutamina sintetase (GS). Esta enzima apresenta como principal função a produção do aminoácido glutamina, por meio da assimilação das moléculas de amônia e glutamato (CARBONARI et al., 2016; DEVINE et al., 1993).

A inibição da GS causa o acúmulo de amônio em níveis tóxicos (DUKE; DAYAN, 2011), assim como a inibição da fotorrespiração, devido à redução dos níveis de aminoácidos (DAYAN; DUKE, 2014), a inibição da enzima ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (rubisco) (WILD; WENDLER, 1993), associados à destruição de cloroplastos, a diminuição dos níveis de fotossíntese e morte celular de plantas (FLECK et al., 2001). A inibição da GS, também causa alterações na troca gasosa e emissão de fluorescência da clorofila das plantas tratadas (LACUESTA et al. 1992). Estes autores, observaram a diminuição na fluorescência máxima momentânea, bem como uma diminuição na extinção de fluorescência sob condições fotorrespiratórias após um tratamento com glufosinate. Segundo Barberis (2012), após a aplicação de glufosinate, o baixo rendimento quântico pode significar menor quantidade de energia disponível para a fotossíntese e a energia que não é usada pela planta é perdida como calor ou luz de fluorescência. Sendo assim, a fluorescência da clorofila acaba servindo como um método de quantificação do efeito de glufosinate sobre a planta.

Após a aplicação de herbicidas, a análise da fluorescência da clorofila pode ser utilizada no entendimento dos mecanismos da fotossíntese propriamente dita, além de avaliar a capacidade fotossintética (IRELAND et al., 1986). Segundo Giroto et al. (2012), para essas avaliações são utilizados fluorômetros, devido à rápida identificação de injúrias causadas ao aparelho fotossintético, mesmo antes dos sintomas se tornarem visíveis, permitindo a análise detalhada da alteração da capacidade fotossintética da planta. Carbonari et al. (2016), após avaliarem a taxa de transporte de elétrons (ETR) por meio de fluorimetria, observaram efeito semelhante

entre ETR e injúria após a aplicação de glufosinate em plantas de algodão. Pois, ocorre uma rápida inibição da taxa fotossintética e o aumento na condutância estomática após a aplicação de glufosinate. Como por exemplo a redução em 63% da taxa fotossintética em *Amaranthus palmeri*, apenas seis horas após a aplicação do glufosinate (COETZAR; AL-KHATIB, 2001).

O herbicida glufosinate apresenta transporte limitado no xilema ou no floema (EVERMAN et al., 2009a; EVERMAN et al., 2009b; SENSEMAN, 2007). Beriault et al. (1999), sugere que a fitotoxicidade causada pelo glufosinate limita sua mobilidade nos tecidos vegetais. Assim a aplicação noturna pode apresentar maior absorção e translocação do herbicida nas plantas Seller et al. (2004). Pois, com a similaridade glufosinate em relação ao aminoácido glutamato, espera-se que sua absorção ocorra através de cotransportadores de prótons (ULLRICH et al., 1990).

Mesmo com propriedades físico-químicas para ser móvel no floema das plantas ($pK_a = 2.9; 9.8$, e $\log K_{ow} \approx 3.9$) (HSU; KLEIER, 1990; KLEIER et al., 1988), a translocação do glufosinate é limitada. Entretanto, existe diferença de translocação entre as plantas consideradas mais tolerantes e as mais suscetíveis, da qual as últimas possuem maior translocação (SHELP et al., 1992). Uma das teorias para explicar a baixa mobilidade deste herbicida é devido à imediata inibição da glutamina sintetase e o rápido acúmulo de amônia nas células e, conseqüentemente, diminuição de glutamina (COETZAR; AL-KHATIB, 2001).

Os principais sintomas causados nas plantas após a aplicação são: rápida clorose do tecido tratado, seguido de necrose e morte das plantas após poucos dias (BRUNHARO et al., 2014; REDDY et al., 2011). Com a aplicação noturna de glufosinate, talvez possa ocorrer diferentes respostas a este herbicida para plantas daninhas de difícil controle, pois sua ação é dependente de luz em diversas plantas daninhas (KÖCHER, 1983; WILD; MANDERSCHIED, 1984). Desta forma, se torna necessário entender o efeito de glufosinate aplicado em diferentes períodos do dia, afim de encontrar novas alternativas para aplicação deste herbicida. Portanto o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, ETR e controle de plantas daninhas.

CAPÍTULO 1 - Efeitos da Aplicação Diurna e Noturna e Glufosinate no Acúmulo de Amônia, Taxa de Transporte de Elétrons e Controle das Plantas Daninhas *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica*

Edicarlos B. Castro¹, Caio A. Carbonari¹, Fabio H. Krenchinski¹, Edivaldo D. Velini¹,
Te-Ming P. Tseng² e Márcio F. Dias¹

¹Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rua José Barbosa de Barros 1780, 18610-307, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: castroeb@hotmail.com

² Department of Plant and Soil Sciences, Mississippi State University, 316 Dorman Hall, Mississippi, MS, Estados Unidos.

Resumo

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, ETR e controle de *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica*. Os tratamentos consistiram de seis doses de glufosinate (0, 150, 300, 600, 1200 e 2400 g i.a. ha⁻¹) e dois períodos de aplicação (7:30 h e 19:30 h). As variáveis avaliadas incluíram acúmulo de amônia, ETR, controle e massa seca das plantas. Quando comparou-se as plantas não tratadas, a aplicação de glufosinate (2400 g i.a. ha⁻¹) resultou em acúmulo de amônia superior a 48 e 51 vezes em *D. insularis*, 65 e 79 vezes em *L. multiflorum*, e, 116 e 118 vezes em *E. indica*, em aplicações às 7:30 h e 19:30 h, respectivamente. A ETR foi reduzida rapidamente na aplicação realizada às 7:30 h; enquanto a redução da ETR foi inferior quando a

aplicação foi realizada as 19:30 nas avaliações realizadas 12 horas após a aplicação (HAA). Entretanto, 24 HAA, os resultados foram semelhantes, independente do horário do tratamento. A aplicação do glufosinate proporcionou controle eficiente das plantas daninhas a partir da dose de 300 g i.a. ha⁻¹, resultando em redução da massa seca de todas as espécies avaliadas. O acúmulo de amônia foi inversamente proporcional a ETR. Assim, a ETR tem potencial para caracterizar a inibição da glutamina sintetase. A aplicação diurna e noturna do glufosinato apresentou controle eficiente, independente do horário da aplicação. Estes resultados sugerem que a aplicação diurna e noturna de glufosinate pode ser utilizada para o controle de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica* em estágio inicial.

Palavras-chave: Concentração de amônia; ETR; Glutamina sintetase; Herbicida; Injúria.

Abstract

The objective of this study was to verify the effect of day and night application of glufosinate on ammonia accumulation, electron transport rates (ETR) and control of *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum*, and *Eleusine indica*. The treatments consisted of six doses of glufosinate herbicide (0, 150, 300, 600, 1200, and 2400 g a.i. ha⁻¹) and two application timings (7:30 a.m. and 7:30 p.m.). The variables evaluated included ammonia accumulation, ETR, control, and dry. When compared to the non-treated check, glufosinate (2400 g a.i. ha⁻¹) application resulted in ammonia accumulation greater than 48 and 51 times in *D. insularis*, 65 and 79 times in *L. multiflorum*, and 116 and 18 times in *E. indica* in applications at 7:30 a.m. and 7:30 p.m., respectively. ETR was reduced rapidly when applications were performed at 7:30 a.m.; when evaluated 12 hours after application (HAA), ETR reduction was lower when application was

performed at 7:30 p.m.. However, 24 HAA the results were similar, regardless of the treatment timing. The glufosinate application provided effective weed control at 300 g a.i. ha⁻¹, resulting in dry mass reduction of all evaluated species. The ammonia accumulation was inversely proportional the ETR; thus, ETR has potential to characterize glutamine synthetase inhibition. The day and night time application of glufosinate presented effective control, regardless of the treatment timing. These results suggest that day and night time application can be used to control *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum*, and *Eleusine indica* in early stage.

Key-words: Ammonia concentration; ETR; Glutamine synthetase; Herbicide; Injury.

1.1 Introdução

O glufosinate, é um herbicida aplicado em pós emergência, com amplo espectro de controle de plantas daninhas. Esse herbicida, é uma mistura sintética de dois isômeros óticos, D e L do composto natural fosfinotricina, e é o único herbicida comercial responsável pela inibição da enzima glutamina sintetase (GS). Enzima esta que está primeiramente envolvida na biossíntese do aminoácido glutamina, a partir da assimilação de amônia e glutamato (Carbonari et al. 2016; Devine et al. 1993).

A inibição da atividade da GS leva ao rápido acúmulo de amônia na planta, bem como à redução dos níveis de glutamina (Avila-Garcia; Mallory Smith, 2011; Brito et al. 2016; Dayan et al. 2015). Como consequência, após a aplicação do glufosinate, as plantas suscetíveis apresentam deficiência de glutamina; intoxicação devido ao acúmulo de amônia, glutamato e glioxalato, rompimento da estrutura de cloroplastos; diminuição na taxa de transporte de elétrons (ETR) e inibição da fotossíntese (Carbonari et al. 2016; Coetzer e Al-Khatib 2001; Dayan et al. 2015; Devine et al. 1993).

Recentemente, experimentos de campo e dose-resposta em casa de vegetação, confirmaram a resistência de biótipos de *Eleusine indica* (L.) Gaertn. Nesses biótipos, a dose de aplicação de glufosinate precisa ser aumentada em 3,4 vezes da dose recomendada para reduzir a massa seca das plantas em 50%. (Jalaludin et al. 2010; Seng et al. 2010). Em plantas de *Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum* (Lam.), Avila-Garcia; Mallory Smith, (2011), observaram resistência ao glufosinate de 2,4 vezes. Enquanto Ghanizadeh et al. (2015), demonstraram que o nível de resistência na mesma espécie é de 3,9. Além disso, têm sido relatadas

dificuldades no controle de populações de *Digitaria insularis* com glufosinate (Melo et al. 2012).

O herbicida glufosinate possui grande similaridade com o aminoácido glutamato, acredita-se que sua absorção seja realizada por meio de cootransportadores de prótons (Ullrich et al. 1990). Segundo Wild e Manderscheid (1984) e Köcher (1983), a ação do glufosinate é dependente de luz para o controle de diversas plantas, como a mostarda, *Sorghum halepense* e soja, portanto, a noite a enzima GS não tem atividade (Sellers et al. 2004). Entretanto, mesmo com características físico-químicas que poderiam proporcionar eficiente translocação no floema das plantas ($pK_a = <2; 2.9; 9.8$, e $\log K_{ow} \approx 3,9$) (Hsu e Kleier 1990; Kleier et al. 1988), a translocação do glufosinate é altamente reduzida. De acordo com Kumaratilake e Preston (2005), a ação rápida do glufosinate no local de aplicação provoca lesão localizada nas folhas e pode limitar a translocação desse herbicida. A hipótese levantada no presente trabalho é que, aplicações de glufosinate a noite podem aumentar os níveis de translocação desse herbicida na planta. Esta pode ser uma maneira de fornecer controle eficaz (>80%) em espécies de plantas daninhas de difícil controle, e o uso da avaliação de taxa de transporte de elétrons (ETR) para caracterizar a inibição da GS, avaliação esta, que é um método não destrutivo que apresenta resultados rápidos.

Com base neste contexto, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito a aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, ETR e controle de *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusine indica*.

1.2 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/UNESP, Câmpus de Botucatu/SP. Foram utilizadas as espécies *Eleusine indica*, *Lolium perenne multiflorum* e *Digitaria insularis*, semeadas em vasos de plástico com capacidade para contendo 0,25 L, preenchidos com substrato composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). Aos dez dias após a emergência das plantas daninhas, realizou-se o desbaste deixando-se uma planta por vaso. As condições climáticas proporcionadas pela casa de vegetação foram de temperaturas médias em torno de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar de 60 % e luz solar natural.

Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 4 repetições. Foram utilizadas quatro repetições para as avaliações de acúmulo de amônia e quatro para as avaliações de controle, ETR e massa seca. Cada repetição consistia em uma planta. Os tratamentos foram constituídos por seis doses crescentes do herbicida glufosinate (Finale®, 200 g i.a. L⁻¹, Bayer CropScience Ltd, São Paulo, SP, Brasil) 0 (controle), 150, 300, 600, 1200 e 2400 g i.a. ha⁻¹, aplicado em dois períodos diferentes diurno (7:30 h) e noturno (19:30 h). Os experimentos foram realizados em duplicata, em duas diferentes épocas para a confirmação dos resultados (Tabela 1).

Três semanas após a semeadura das plantas daninhas, os tratamentos herbicidas foram aplicados utilizando-se um pulverizador estacionário pressurizado a ar contendo uma barra de pulverização equipada com quatro pontas modelo XR 110.02 (Teejet, Jacto Máquinas Agrícolas SA, Pompéia, SP, Brasil) espaçadas em 0,5

m entre si. O pulverizador foi posicionado a uma altura de 0,5 m em relação às plantas, a uma pressão de 150 kPa e velocidade de 3,6 km h⁻¹, proporcionando um consumo de calda de 200 L ha⁻¹ (Figura 1). No momento das aplicações a temperatura média, umidade relativa média, comprimento da parte aérea das plantas e número de folhas foram determinados, e estão descritos na tabela 1.

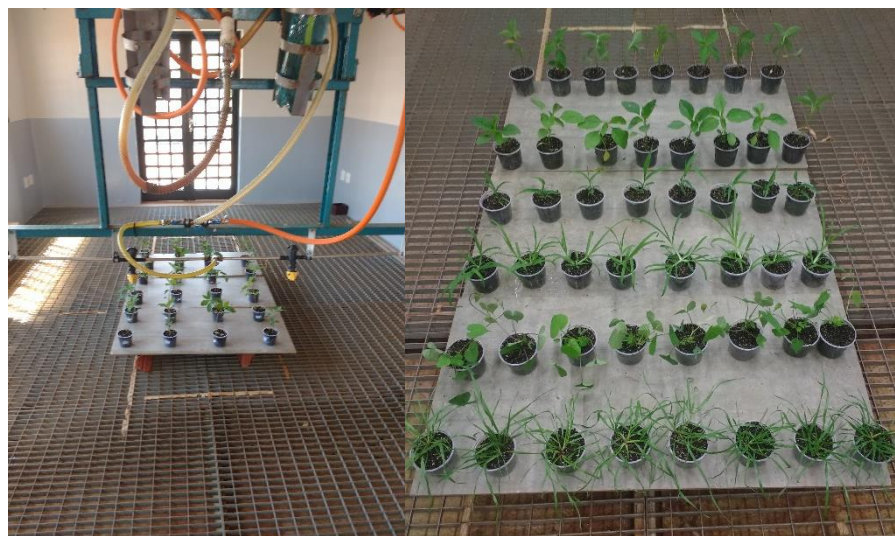


Figura 1. Pulverizador estacionário utilizado e parcelas experimentais.

Tabela 1. Descrição do estágio das plantas e características climáticas no momento da aplicação.

Época 1 (setembro - dezembro)							
Plantas daninhas	DAS	Folhas (nº)	Altura (cm)	Tº		U.R. (%)	
Aplicação				dia	noite	dia	Noite
<i>Lolium multiflorum</i>	22	5	10	24	24	65	66
<i>Digitaria insularis</i>	21	7	12	24	26	77	75
<i>Eleusine indica</i>	23	7	15	23	29	64	47
Época 2 (dezembro - março)							
<i>Lolium multiflorum</i>	20	5	10	26	26	70	72
<i>Digitaria insularis</i>	20	6	11	26	28	73	63
<i>Eleusine indica</i>	20	6	15	26	28	73	63

DAS: Dia após a semeadura

As plantas foram avaliadas quanto à concentração de amônia (mg amônia kg⁻¹ de massa fresca), taxa transporte de elétrons (ETR) (%), controle (%) e massa seca (g). Para a extração de amônia, para cada espécie de planta daninha, as folhas foram coletadas em dois dias após a aplicação (DAA) do herbicida, em 4 repetições por tratamento. O método utilizado foi desenvolvido por Barberis (2012), com o objetivo de recuperar toda a amônia das folhas. A amônia foi determinada pelo ensaio colorimétrico desenvolvido por Peterson e Hurle (2000) utilizando um espectrofotômetro (Cintra 40 – UV- Visible Spectrometer, GBC Scientific Equipment, Braeside, Austrália) ajustado no comprimento de onda de 630 nm.

A ETR foi medida com o auxílio de um fluorômetro portátil (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS 5p – Opti Sciences, Hudson, NH03051, USA), com

leituras realizadas em quatro folhas totalmente expandidas em cada repetição, sendo utilizadas quatro repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas as 12; 24; 36 e 60 horas após a aplicação (HAA). Para a aplicação noturna foi realizada uma leitura as 15 HAA, pois devido a testes realizados anteriormente foi observado a necessidade da leitura neste momento para se caracterizar a importância da luz no efeito do herbicida nas plantas. Não foram realizadas leituras de 60 HAA na época 1, e 12 HAA na época 2, para aplicação realizada 19:30h em *L. perenne multiflorum* devido à ocorrência chuva durante esses períodos de leitura. Além disso, as mesmas 4 plantas (repetições) por tratamento utilizadas para a leitura de ETR, foram utilizadas para as avaliações de controle aos 3, 7, 14 e 21 DAA segundo escala percentual de notas, onde: “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significou a morte das plantas, conforme Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995).

No final das avaliações de controle, toda a parte aérea das plantas daninhas foi coletada, acondicionados em sacos de papel e secas em estufa a 60°C, por um período de 72 horas. Posteriormente, o material seco foi pesado para determinação da massa seca em cada um dos tratamentos.

A concentração de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) nas duas épocas foi submetida à análise de variância, ANOVA two-way. Para determinar a concentração de amônia em plantas daninhas, o modelo de regressão não linear de Mitscherlich (Mitscherlich 1909) foi utilizado, com a seguinte equação:

$$Y = a[1 - 10^{(-c(x+b))}]$$

Onde a concentração máxima de amônia quantificada nas folhas de plantas daninhas correspondeu ao parâmetro a ; o deslocamento lateral da curva correspondeu ao parâmetro c ; a concavidade da curva correspondeu ao parâmetro b .

Os parâmetros mencionados foram estimados por meio de regressão não linear (método de Newton) com PROC NLIN (SAS INSTITUTE, 2006). O coeficiente de determinação (R^2) foi calculado como $R^2 = 1 - (S^2_y / S^2_{td})$, em que S^2_y é a variância dos resíduos do modelo e S^2_{td} é a variância das médias observadas da concentração de amônia.

Em relação à variável ETR (%), os dados foram analisados por meio da análise de deviance, com um modelo linear generalizado do tipo quasibinomial. A qualidade de ajuste do modelo foi verificada com uso de um envelope simulado meio normal (Moral et al. 2016). Os parâmetros do modelo para ETR foram

$$ETR = \frac{e^{\beta_0 + x\beta}}{1 + e^{\beta_0 + x\beta}}$$

Onde, e é a função exponencial, x é a dose do herbicida, e β_0 e β são os parâmetros associados à regressão logística. Para ambos modelos, normal e generalizado, a significância dos fatores isolados (dose e época) e da interação (dose x época) foram verificadas pelo teste F . Quando a interação não foi significativa, uma nova análise foi realizada com a combinação dos experimentos nas avaliações de concentração de amônia e ETR (Anexos). A análise de controle foi realizada utilizando o intervalo de confiança com o teste t estabelecido em 10% de probabilidade. Para determinar o intervalo de confiança, foi utilizada a seguinte equação:

$$IC = \frac{t \times D.V.P}{\sqrt{n}}$$

Onde, IC é o intervalo de confiança; t é o valor de t tabelado, ao nível de 10% de probabilidade; $D.V.P$ é o desvio padrão; e, $\sqrt{n}$ é a raiz quadrada do número de repetições.

Para as análises com modelos bayesianos da variável massa seca, foram utilizadas 30.000 interações utilizando o método de Monte Carlo e Cadeias de Markov MCMC com três cadeias para cada parâmetro e com burn-in de 5.000 amostras. As convergências das cadeias foram verificadas por meio de análise gráfica (não mostrado nesse trabalho). Modelos normais com prioris normal foram utilizados. Para estimação dos parâmetros, utilizou-se o R Core Team (2017) com auxílio do pacote R2Openbugs (Sturtz et al. 2005).

Para determinar o efeito da ETR e acúmulo de amônia, uma correlação entre os dados de avaliação da concentração de amônia (mg kg^{-1} massa fresca) em *Eleusine indica*, *Lolium perenne multiflorum* e *Digitaria insularis* pela ETR 12 HAA de glufosinate foi realizada. Para isso, foram utilizados médias dos dados da aplicação realizada às 7:30 h e às 19:30 h. Assim, adotou-se o modelo não-linear de Gompertz (1825) para estimar os parâmetros, com a seguinte equação:

$$F = y_0 + a * e^{[-e^{(-(x - x_0) / -b)}]}$$

Onde y_0 é a assíntota inicial; a é a assíntota de quantidade de crescimento inferior do modelo, indica o valor mínimo no eixo y ; x_0 corresponde a estabilização da curva no eixo x (redução máxima absoluta). O parâmetro b corresponde a ao deslocamento da curva de crescimento horizontal;

1.3 Resultados e Discussão

Para as avaliações de concentração de amônia (mg kg^{-1} massa fresca (M.F.)), quando comparadas com as folhas das plantas não tratadas, todos os tratamentos com glufosinate aumentaram a concentração de amônia nas folhas de todas as plantas daninhas, independentemente do horário de aplicação (Figura 2). Pornprom et al. (2000) ao aplicar glufosinate em plantas de soja e Tsai et al. (2006) ao utilizar o mesmo herbicida em plantas de arroz, observaram que o acúmulo de amônia é um indicador bioquímico da inibição da GS causada pela toxicidade do glufosinate. Os maiores teores de amônia foram observados na espécie *Lolium multiflorum*; com 250 mg kg^{-1} M.F. em doses acima de $1200 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ glufosinate. Para as plantas de *Digitaria insularia* observou-se valores próximos de 150 mg kg^{-1} M.F. Por outro lado, a menor concentração de amônia foi verificada nas plantas de *Eleusine indica*, sendo abaixo de $105,8 \text{ mg kg}^{-1}$ M.F, mesmo em altas doses do herbicida (Tabela 2). Segundo Brito et al. (2016), as plantas daninhas apresentam diferentes respostas de sensibilidade à aplicação de glufosinate, devido à ampla variabilidade genética entre elas. Além disso, espécies mais sensíveis ao glufosinate podem absorver e translocar maior quantidade do produto em relação a plantas menos sensíveis (Everman et al. 2009; Pline et al. 1999; Skora-Neto et al. 2000).

Após a aplicação do glufosinate, os níveis de acúmulo de amônia nas folhas das plantas aumentaram significativamente, sendo diretamente proporcionais a dose utilizada (Figura 2). Assim como observados por Carbonari et al. (2016), ao aplicar quatro doses do herbicida glufosinate ($200, 400$ e $600 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em plantas convencionais de algodão, verificaram aumento da concentração de amônia ($52, 62$ e 149 mg kg^{-1} M.F., respectivamente em comparação a dose 0). Embora, o herbicida

tenha sido aplicado às 7:30h e 19:30h, os resultados demonstraram que o acúmulo de amônia aos 2 DAA apresentou similaridade dentro de cada espécie utilizada. Segundo Sellers et al. (2004), a 1 DAA de glufosinate realizado às 14:00 h e 22:00 h, a concentração de amônia continuou a aumentar nos tecidos vegetais em relação às avaliações anteriores, e a concentração de amônia foi similar nas plantas tratadas, independentemente do horário de aplicação. Desta forma, os resultados observados no presente estudo corroboram com o exposto.

Tabela 2. Resultados das análises de variância e regressão. Parâmetros das equações obtidas.

Parâmetros do Modelo de Mitscherlich	Plantas Daninhas					
	Aplicação 7:30 horas			Aplicação 19:30 horas		
	<i>Digitaria</i>	<i>Lolium</i>	<i>Eleusine</i>	<i>Digitaria</i>	<i>Lolium</i>	<i>Eleusine</i>
	<i>insularis</i>	<i>multiflorum</i>	<i>indica</i>	<i>insularis</i>	<i>multiflorum</i>	<i>indica</i>
A	143,9	248,1	84,4	153,4	269,4	105,8
B	1,8103	2,0713	0,9782	1,6614	1,8151	1,3334
C	0,0298	0,0037	0,0651	0,0254	0,00979	0,016
F	142,38**	2043,59**	35,61**	128,87**	294,39**	121,93**
r ²	0,9683	0,9979	0,9039	0,9671	0,9868	0,9697

** Significância a 1% no nível de probabilidade.

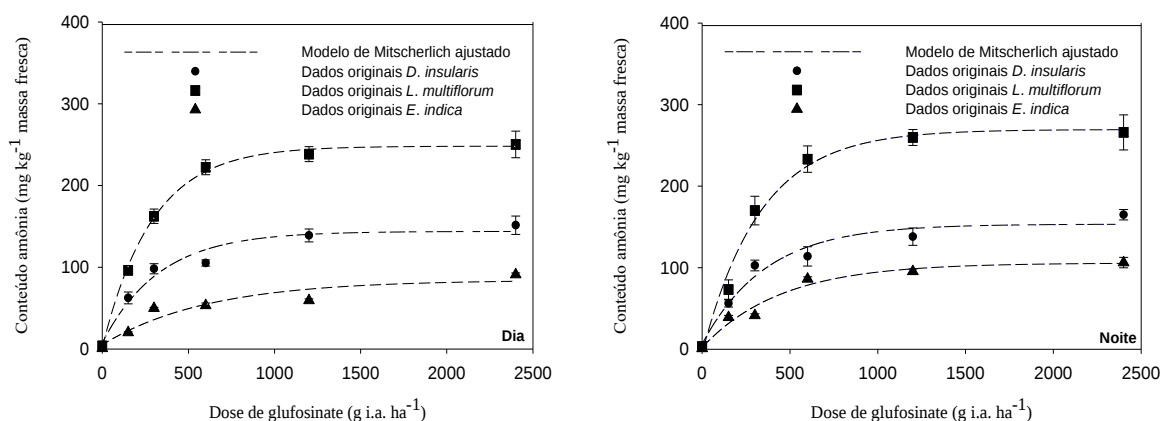


Figura 2. Modelos de Mitscherlich ajustados para o teor de amônia (mg kg⁻¹ massa fresca) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹) aplicadas em plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica*. Dia: Aplicação realizada às 7:30; Noite: Aplicação realizada às 19:30.

As Figuras 3, 4 e 5 mostram os modelos ajustados aos dados da ETR após a aplicação de glufosinate em plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica*, respectivamente. A aplicação de glufosinate às 7:30 h em *D. insularis* proporcionou leve redução de ETR nas avaliações realizadas 12 e 24 horas após a aplicação (HAA) para todas as doses aplicadas (Figura 3 A). Com redução máxima de aproximadamente 40% em relação à testemunha sem aplicação às 24 HAA. Às 36 HAA, as plantas apresentaram redução superior à 70% na ETR, mesmo para a dose mais baixa de 150 g i.a. ha⁻¹. Sendo que, às 60 HAA a redução observada na ETR foi de 60% (Figura 3 A).

A aplicação de glufosinate às 19:30 h, praticamente não reduziu a ETR às 12 e 15 HAA (Figura 3 B), demonstrando assim a importância da luz para a atividade do glufosinate nas plantas (Wild e Manderscheid 1984). Porém, 9 horas após a segunda avaliação (24 HAA), a redução da ETR foi consideravelmente alta, próximo a 40% em relação à avaliação de 15 HAA. Sendo que, 60 HAA as doses mais eficientes foram

1200 e 2400 g i.a. ha⁻¹, com redução de 75% de ETR em relação à testemunha não tratada (Figura 3 B). É importante ressaltar que, já na dose de 150 g i.a. ha⁻¹ foi suficiente para proporcionar grande redução de ETR nas plantas (Figura 3 A e B).

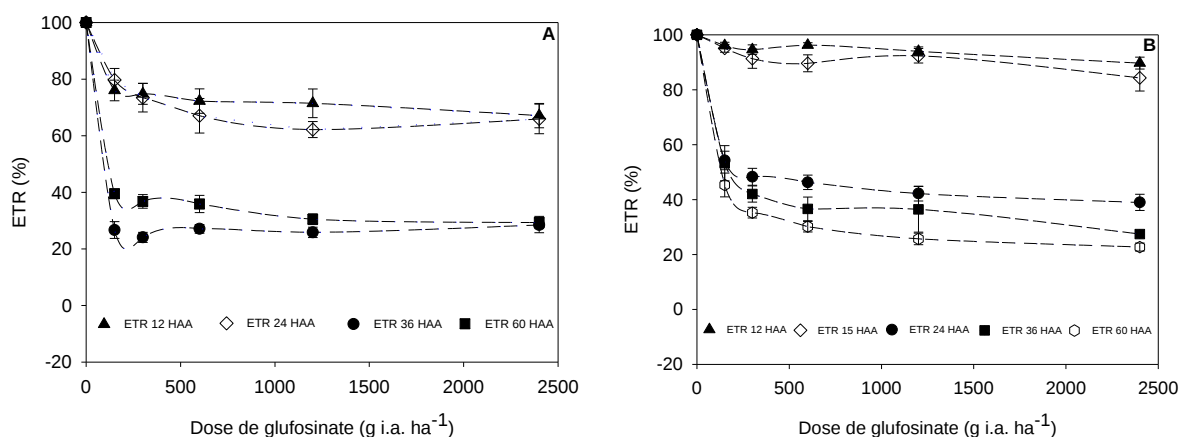


Figura 3. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em *D. insularis*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

Em *Lolium multiflorum*, a aplicação de glufosinate às 7:30 h provocou uma redução pronunciada na avaliação às 12 HAA, a partir da dose de 300 g i.a. ha⁻¹. A ETR foi semelhante entre os diferentes períodos de avaliação (Figura 4 A). A maior redução de ETR ($\geq 80\%$) foi verificada 60 HAA na época 2 a partir da dose de 300 g a.i. ha⁻¹ e a 60 HAA na época 1 apenas na dose 2400 g i.a. ha⁻¹ (Figura 4 A).

Os valores de ETR para a aplicação realizada às 19:30 h apresentaram pequena redução em 150 g i.a. ha⁻¹ para todas as avaliações da época 2 (Figura 4 B). Observou-se que 12 HAA a redução da ETR foi apenas de aproximadamente 20% em relação à testemunha em todas as doses. Às 15 HAA, da dose de 300 g i.a. ha⁻¹ causou grande redução de 70 e 60% na época 1 e 2, respectivamente. Outras

avaliações mostraram redução semelhante com 300 g i.a. ha⁻¹, no entanto, 60 HAA a redução da ETR foi a maior (≥13%) (Figura 4 B).

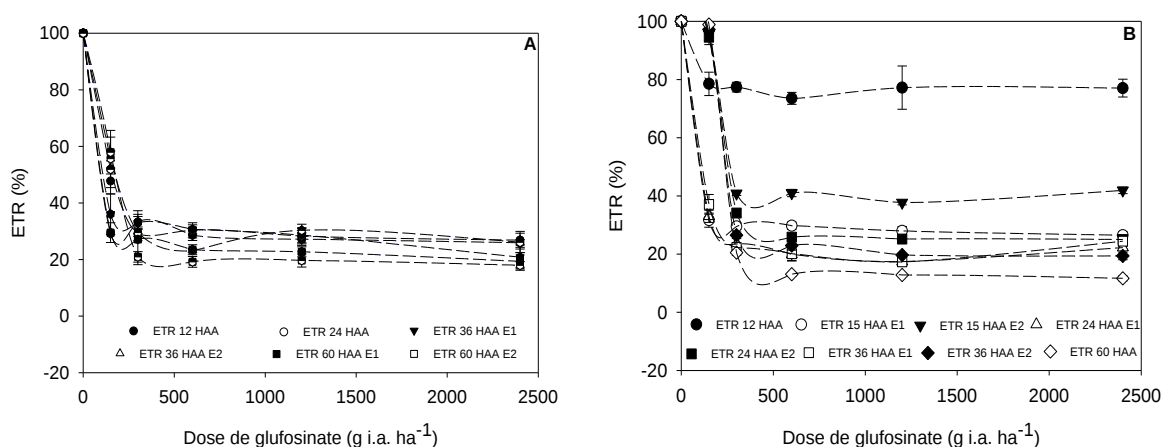


Figura 4. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em *L. multiflorum*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

Nos tratamentos de glufosinate aplicados em plantas de *E. indica* às 7:30 h, os dados das diferentes épocas foram analisados separadamente, uma vez que houve interação significativa entre épocas e doses. A dose de 150 g i.a. ha⁻¹ proporcionou redução de ETR acima de 42% em relação à testemunha sem aplicação, para todos as avaliações realizadas (Figura 5 A). A partir 300 g i.a. ha⁻¹ houve redução da ETR em todos os períodos de avaliação, exceto as 24 HAA (<33%). Na época 2, 60 HAA na dose de 2400 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate, a ETR foi de aproximadamente 11%, demonstrando um grande efeito do herbicida na planta. Houve também redução significativa da ETR às 12 HAA, semelhante ao que ocorreu com *L. multiflorum* (Figura 5 A).

Para as avaliações realizadas em *E. indica* que receberam aplicação do glufosinate às 19:30 h, o comportamento foi semelhante ao das plantas de *L. multiflorum*, uma vez que às 12 HAA houve uma redução média de ETR de aproximadamente 20% para ambas as épocas (Figura 5 B). Apenas 3 horas após a primeira avaliação (15 HAA), o herbicida glufosinate proporcionou valores de ETR abaixo de 65% com 150 g i.a. ha⁻¹ e menor que 42% para as demais doses; novamente confirmando o importante papel desempenhado pela luz no processo de ativação do herbicida na planta. A maior redução (>77%) da ETR foi observado 60 HAA de glufosinate a partir de 300 g i.a. ha⁻¹ (Figura 5 B).

Nas figuras 5 A e 5 B é evidente a ação importante da luz após a aplicação do glufosinate, pois, mesmo 12 HAA do herbicida, a ETR apresentou pequena redução sob aplicação noturna comparado à drástica redução quando o glufosinate foi aplicado às 7:30 h.

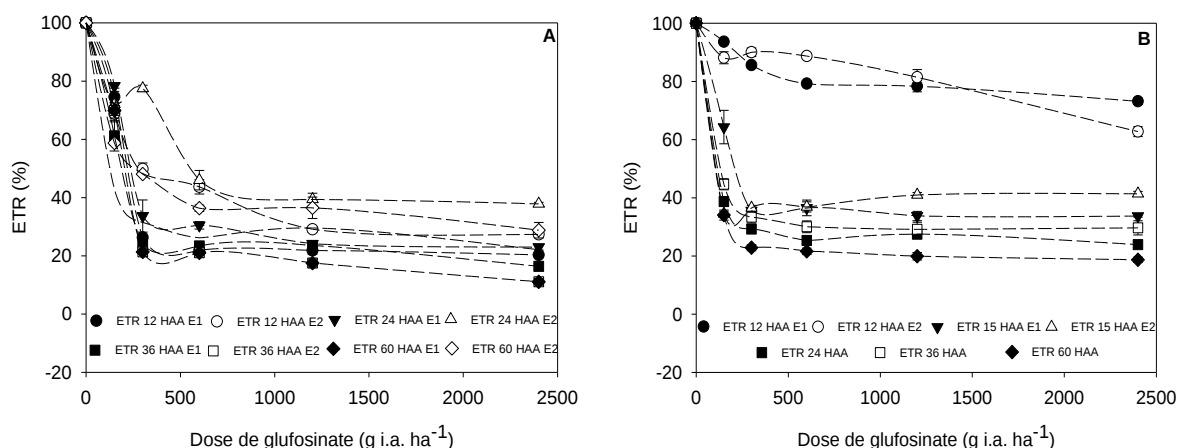


Figura 5. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em *E. indica*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

A aplicação de glufosinate nas três plantas daninhas estudadas indicou uma redução eficiente na ETR mesmo para a menor dose utilizada. Sellers et al. (2004), observaram que ao aplicar glufosinate nas doses de 160 e 320 g ha⁻¹ em plantas *Abutilon theophrasti* a atividade da glutamina sintetase (GS), apresentou inibição mesmo sendo doses menores que o recomendado. Quando o herbicida foi aplicado em diferentes períodos do dia (7:30 h e 19:30 h), observou-se que às 12 HAA, a ETR das plantas aplicadas as 19:30 h não foi reduzida quando comparada a aplicação das 7:30 h. Isso pode ser explicado pela quantidade de luz recebida pelas plantas daninhas na aplicação realizada as 7:30 h (Wild e Manderscheid 1984), causando a inibição da glutamina sintetase (GS) (Sellers et al. 2004).

As plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica* acima da curva exibiram menor redução de ETR e maioria apresentaram conteúdo de amônia acima de 45 mg kg⁻¹ M.F. para o modelo de correlação entre a ETR 12 HAA e conteúdo de amônia (Figura 6). Já as plantas exibidas abaixo da curva mostram alta redução da ETR 12 HAA e a maioria com conteúdo de amônia acima de 45 mg kg⁻¹ M.F.. Observa-se de maneira geral, que para se acumular concentração de amônia superior a 45 mg kg⁻¹ M.F. é necessário reduzir a ETR acima de 40%. Esta curva, portanto, sugere que a avaliação de ETR tem potencial para caracterizar a inibição da GS. A inibição da GS, conseqüentemente, leva ao acúmulo de amônia, e redução na ETR pela ruptura do cloroplasto, e inibição da síntese de proteínas, especialmente Qb, que está diretamente envolvida com o transporte de elétrons na planta (Dayan e Zaccaro, 2012; Devine et al. 1993; Kleczkowski 1993; Reedy et al. 2011; Sauer et al. 1987; Tan et al. 2006).

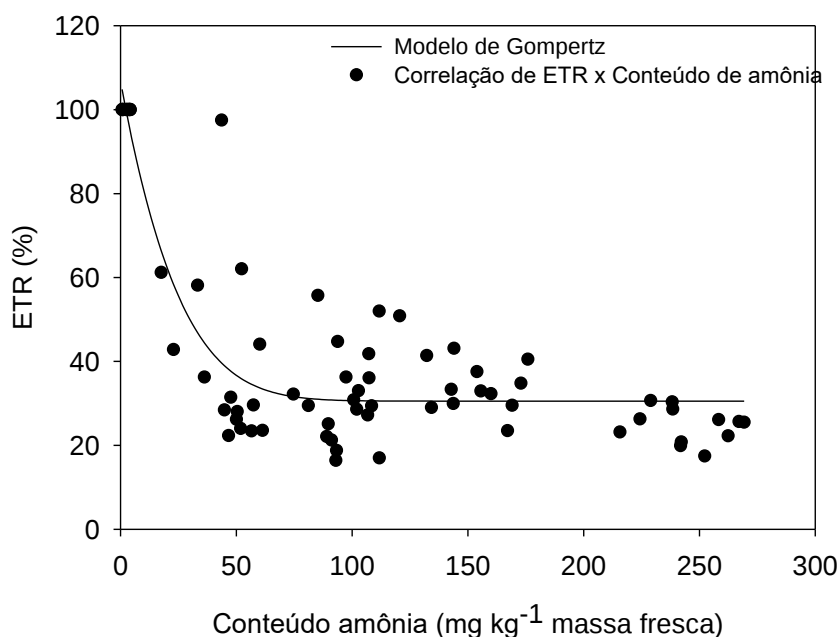


Figura 6. Correlação dos valores de ETR por conteúdo de amônia em plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica* após a aplicação de diferentes doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹). ETR: 12 horas após a aplicação de glufosinate. Equação: $Y = 30,5342 + 5134,3628 \cdot e^{-[(x - 153,3704) / -106,6579]}$ ($R^2 = 0.83$).

Na análise de controle ocasionado pelo glufosinate em plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica*, observou-se que houve comportamento semelhante entre as espécies de plantas daninhas em ambos os horários de aplicação. Isso sugere que a atividade do herbicida nessas gramíneas foi eficiente no controle, independentemente do horário de aplicação (Figuras 7, 8 e 9). Tais resultados indicam que, inicialmente, a maior fitointoxicação ocorreu nas plantas aplicadas às 7:30 h, pois nas aplicações realizadas às 19:30 h, ocorreu ausência de luz nas primeiras 12 HAA. Porém, conforme os dias passaram, a diferença de fitointoxicação foi minimizada. Uma possível explicação para estes resultados, segundo Seller et al. (2004), pode ser devido à maior absorção e translocação nas plantas tratadas com glufosinate as 22:00

h quando comparadas com a aplicação realizada às 14:00 h. Beriault et al. (1999), sugere que a fitotoxicidade causada pelo glufosinate limita sua mobilidade na planta.

Aos 3 DAA, o herbicida glufosinate apresentou rápida ação com controle acima de 20% em todas as aplicações (Figura 7, 8 e 9). Aos 7 DAA houve um significativo aumento de injúria em ambos horários de aplicação, quando comparados com a avaliação aos 3 DAA. Nas plantas de *D. insularis*, para a aplicação às 19:30 h na dose de 2400 g i.a. ha⁻¹ da época 1 (Figura 7 B) e, *E. indica* para as doses a partir de 600 g i.a. ha⁻¹ na época 2 (Figura 9 B), observou-se controle acima de 95%. Aos 14 DAA todas as plantas estavam totalmente controladas (100%) a partir de 600 g i.a. ha⁻¹ independentemente do horário de aplicação (7:30 h e 19:30 h) conforme demonstrado nas figuras 7, 8 e 9. Segundo Kumaratilake et al. (2002), apesar da natureza não seletiva, nem todas as plantas daninhas podem ser manejadas com igual efetividade pelo glufosinate. Devido à translocação limitada, o glufosinate não é muito eficaz no controle de muitas plantas daninhas anuais e perenes (Pline et al. 1999). Tal fato pode ser observado no presente trabalho, o qual demonstram excelente controle das espécies avaliadas utilizando o glufosinate. Este efeito pode também estar associado ao fato de que a aplicação foi realizada em as plantas em estágio inicial. Resultados semelhantes de eficiência no controle de *D. insularis* foram observados por Silva et al. (2017), quando o glufosinate aplicado em plantas com 3-4 folhas (25 dias após a emergência), resultou em 100% de controle aos 28 DAA.

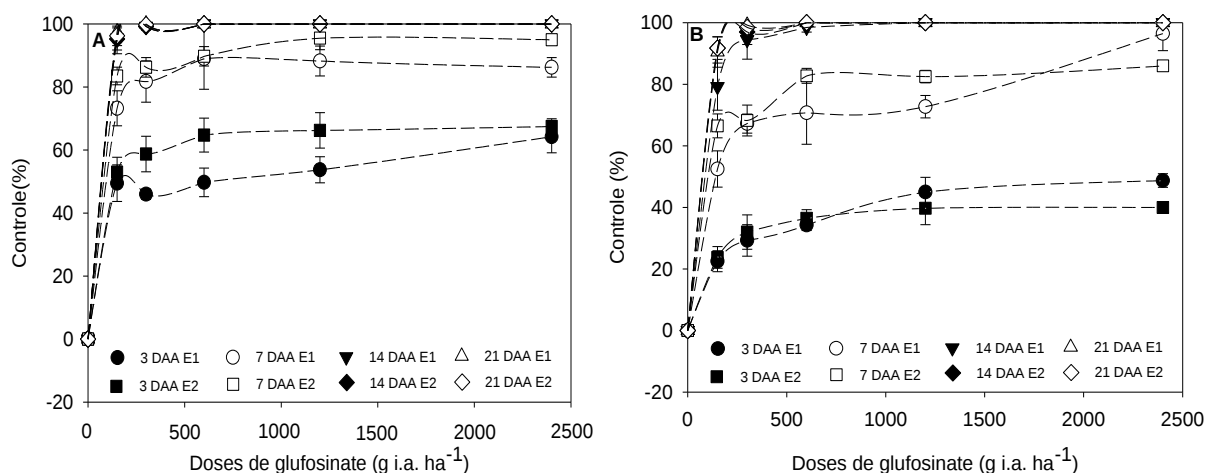


Figura 7. Avaliação visual de controle (%) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), em plantas de *D. insularis*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

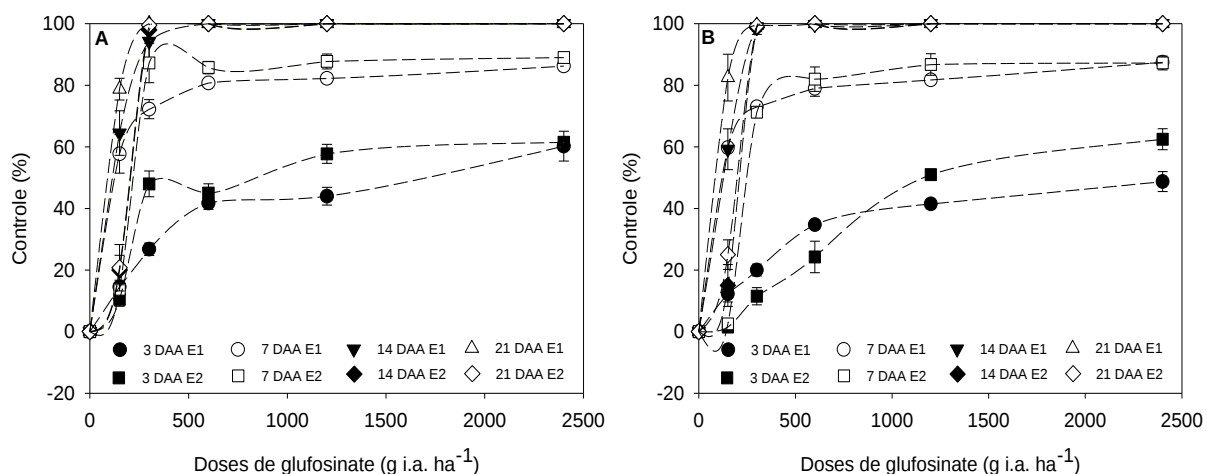


Figura 8. Avaliação visual de controle (%) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), em plantas de *L. multiflorum*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

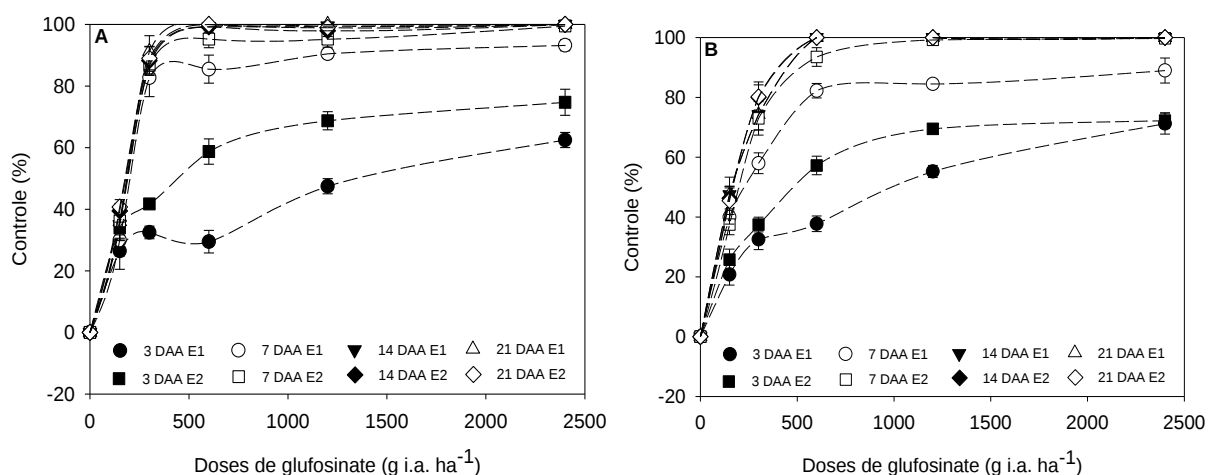


Figura 9. Avaliação visual de controle (%) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), em plantas de *E. indica*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

A aplicação do glufosinate reduziu a massa seca de todas as espécies de plantas daninhas em todos os tratamentos, independentemente do horário de aplicação (Figura 9). Porém, os maiores valores de redução foram observados quando utilizadas doses de 300 g i.a. ha⁻¹. De acordo com Sellers et al. (2004), a aplicação do herbicida glufosinate em plantas de *Abutilon theophrasti*, na dose de 320 g ha⁻¹ do produto comercial resultou em massa seca semelhante entre a aplicação durante o dia e à noite.

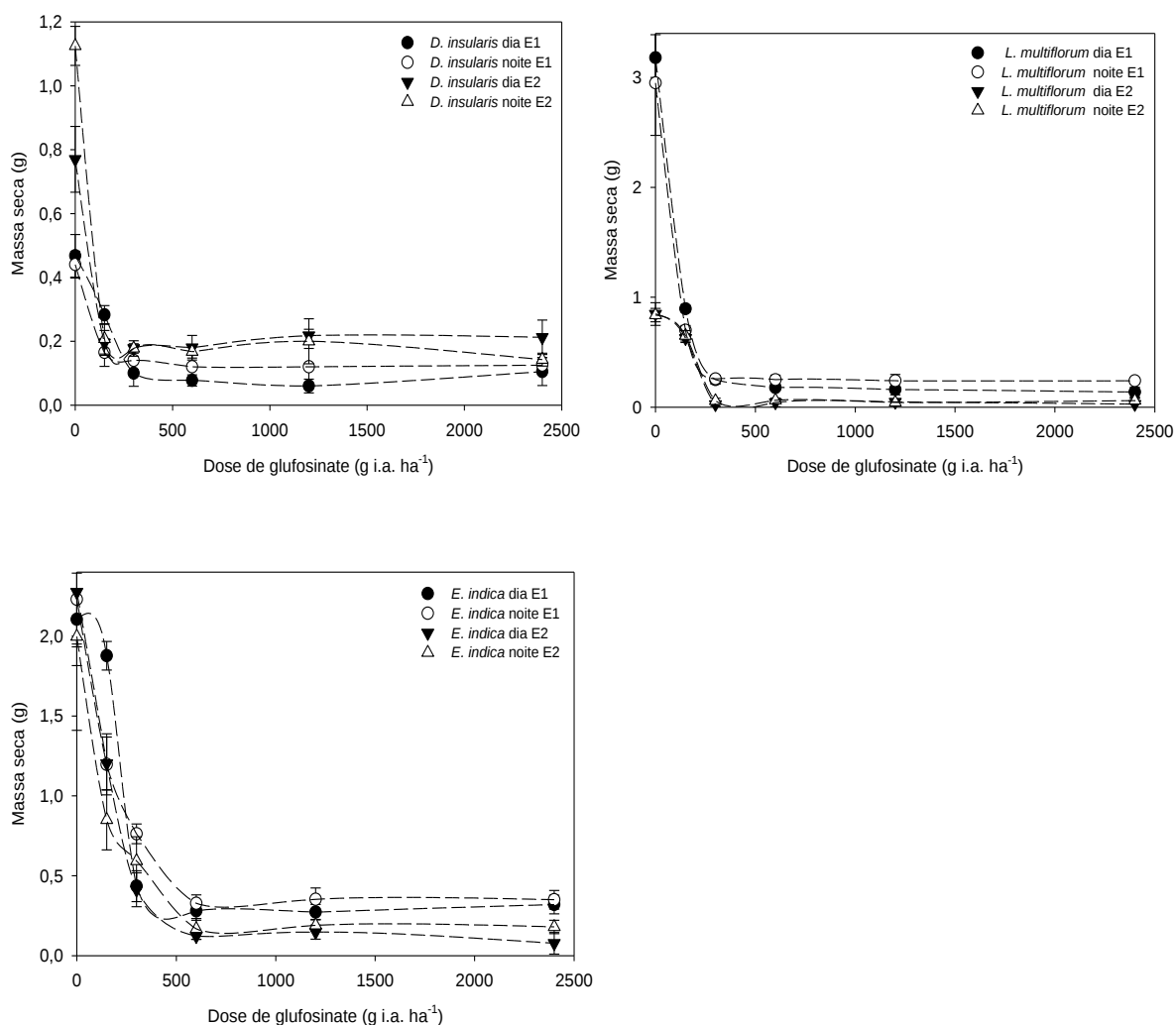


Figura 10. Massa seca (g) de plantas de *D. insularis*, *L. multiflorum* e *E. indica* após a aplicação diurna e noturna de diferentes doses de glufosinate.

Para caracterizar a eficiência do herbicida glufosinate em plantas tratadas, a quantificação do acúmulo de amônia tem sido amplamente utilizada como marcador bioquímico para detectar a inibição da GS (Avila-Garcia e Mallory Smith 2011; Brito et al. 2016; Brito et al. 2017; Tsai et al. 2006), semelhante a análise visual de injúria (Barberis 2012; Carbonari et al., 2016). No presente trabalho, foi demonstrado que a avaliação de taxa de transporte de elétrons (ETR) pode ser usada para caracterizar a inibição de GS. A exposição de plantas ao glufosinate leva ao aumento nos níveis de

amônia nas plantas, e isso, por sua vez, resulta na redução da taxa de transporte de elétrons. Além disso, é um método eficiente e não destrutivo para medir a inibição de GS.

1.4 Conclusões

A aplicação do glufosinate foi eficiente no controle das plantas daninhas avaliadas neste estudo, tanto nas aplicações diurnas como nas noturnas. O acúmulo de amônia foi inversamente proporcional a ETR; assim a ETR tem potencial de caracterizar a inibição da glutamina sintetase em *Digitaria insularis*, *Lolium multiflorum* e *Eleusina indica*. Estes resultados sugerem que a aplicação diurna e noturna pode ser utilizada para o controle de plantas daninhas em estágio inicial.

Referências

- Avila-Garcia WV, Mallory-Smith C. 2011. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perene*) populations also exhibit resistance to glufosinate. **Weed Science**, 59: 305–309
- Barberis LRM. (2012). **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja**. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, p 66.
- Berault JN, Horsman GP, Devine MD. 1999. Phloem transport of D,L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate-resistant and –susceptible *Brassica napus*, **Plant Physiology**. 121: 619–627
- Brito IPFS, Marchesi BB, Pucci C, Carbonari CA, Velini ED. 2016. Variation in the Sensitivities of Hairy Beggarticks (*Bidens pilosa*) Plants and Their Progenies to Glufosinate Ammonium. **Weed Science**, 64: 570-578
- Brito IPFS, Morais CP, Marchesi BB, Carbonari CA, Velini ED. 2017. Sensitivity of morningglory plants and their progenies to glufosinate ammonium. **Planta Daninha**, 35: e017159881
- Carbonari CA, Latorre DO, Gomes GLGC, Velini ED, Owens DK, Pan Z, Dayan FE. 2016. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**, 243: 925–933
- Coetzer, E.; Al-Khatib, K. 2001. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in *Palmer amaranth* after glufosinate application. **Weed Science**, 49: 454-459
- Dayan FE, Zaccaro ML. 2012. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. **Pestic. Biochem. Physiol.** 102: 189-197

- Dayan FE, Owens DK, Corniani N, Silva FML, Watson SB, Howell J, Shaner DL. 2015. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. **Weed Science**. 63: 23-63.
- Devine M, Duke SO, Fedtke C. 1993. Physiology of herbicide action. Englewood Cliffs: PTR Prentice Hall: Englewood Cliffs, New Jersey, 1, 441 pp.
- Everman WJ, Mayhew CR, Burton JD, York AC, Wilcut JW. 2009. Absorption, translocation, and metabolism of ^{14}C -glufosinate in glufosinate resistant corn, goosegrass (*Eleusine indica*), large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*), and sicklepod (*Senna obtusifolia*). **Weed Science**, 57:1-5
- Ghanizadeh H, Harrington KC, James TK. 2015. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* and *Lolium perenne* populations from New Zealand are also resistant to glufosinate and amitrole. **Crop Protection**, 78:1-4
- Gompertz, B. 1825. On the Nature of the Function Expressive of the Law of Human Mortality, and on a New Mode of Determining the Value of Life Contingencies. **Phil Trans R Soc Lond**, 115:513-583
- Hsu FC, Kleier DA. 1990. Phloem mobility of xenobiotics. III. Sensitivity of unified model to plant parameters and application to patented chemical hybridizing agents. **Weed Science**, 38: 315-322.
- Jalaludin A, Ngim J, Bakar BHJ, Alias Z. 2010. Preliminary findings of potentially resistant goosegrass (*Eleusine indica*) to glufosinate-ammonium in Malaysia. **Weed Biology and Management**. 10: 256-260
- Kleczkowski LA. 1993. Inhibitors of photosynthetic enzymes/carriers and metabolism. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 45: 339- 367
- Kleier DA. 1988. Phloem mobility of xenobiotics: I. Mathematical model unifying the weak acid and intermediate permeability theories. **Plant Physiol**, 86: 803-810

- Köcher, H. 1983. Influence of the light factor on physiological effects of the herbicide HOE 39866, **Annals Applied Biology**, 4: 227
- Kumaratilake AR, Preston C. 2005. Low temperature reduces glufosinate activity and translocation in wild radish (*Raphanus raphanistrum*). **Weed Sci.** 53: 10- 16.
- Kumaratilake AR, Lorraine-Colwill DF, Preston C. 2002. A comparative study of glufosinate efficacy in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) and sterile oat (*Avena sterilis*). **Weed Science**, 50:560-566.
- Melo MSC, Rosa LE, Brunharo CACG, Nicolai M, Christoffoleti PJ. 2012. Alternativas para o controle químico de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, 11:195-203
- Mitscherlich EA. 1909. Das gesetz des minimums und das gesetz des abnehmenden bodenertrages. **Landwirtsch Jahrb.** 38: 537– 552
- Moral RA, Hinde J, Demetrio CGB. (2016). hnp: **Half-Normal Plots with Simulation Envelopes**. R package version 1.2-2. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>
- Petersen J, Hurle K. 200. Einsatz von Liberty zur Klettenlabkrautbekaämpfung in glufosinat resistentem Winterraps. **Z PflKrankh PflSchutz**, 17: 389-396
- Pline WA, Wu J, Hatzios KK. 1999. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in five weed species as influenced by ammonium sulfate and pelargonic acid. **Weed Science**, 47:636-43
- Pornprom T, Surawattananon S, Srinives P. 2000. Ammonia Accumulation as an Index of Glufosinate-Tolerant Soybean Cell Lines. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 68: 102-106
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Reddy KN, Zablotowicz RM, Bellaloui N, Ding W. 2011. Glufosinate Effects on Nitrogen Nutrition, Growth, Yield, and Seed Composition in Glufosinate-Resistant and Glufosinate-Sensitive Soybean. **International Journal of Agronomy**, 2011: 9
- Sas Institute. SAS/STAT user's guide (SAS Institute, 2006).
- Sauer H, Wild A, Rühle W. 1987. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis II. The causes of inhibition of photosynthesis. **Zeitschrift für Naturforschung**. 42: 270-278
- Sellers BA, Smeda RJ, Li J. 2004. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation is influenced by time of glufosinate application. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 78: 9–20
- Seng CT, Van Lun L, San CT, Bin Sahid I. 2010. Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. **Weed Biology and Management**. 10: 229-233
- Silva WT, Karam D, Vargas L, Silva AF. 2017. Alternativas de controle químico para capim-amargoso (*digitaria insularis*) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 16: 578-586
- Skora Neto F, Coble H, Corbin F. 2000. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glufosinate in *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa*, and *Ipomoea purpurea*. **Weed Science**. 48:171-5.
- Sociedade Brasileira Da Ciência Das Plantas Daninhas – SBCPD. 1995. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 42 p
- Sturtz S, Ligges U, Gelman A. 2005. R2WinBUGS: A Package for Running WinBUGS from R. *Journal of Statistical Software*, 12: 1-16

- STURTZ, S.; LIGGES, U.; GELMAN, A. R2WinBUGS: A Package for Running WinBUGS from R. **Journal of Statistical Software**, v.12, n.3, p.1-16, 2005.
- Tan S, Evans R, Singh B. 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, 30: 195–204
- Tsai CJ, Wang CS, Wang CY. 2006. Physiological characteristics of glufosinate resistance in rice. **Weed Science**, 54: 634–640
- Ullrich WR, Ullrich-Eberius CI, Kocher H. 1990. Uptake of glufosinate and contaminant membrane potential changes in *Lemna gibba* G1. **Pesticide Biochemistry and Physiol.**, 37: 1-11
- Wild A, Manderscheid R. 1984. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. **Z. Naturforsch.** 39: 500–504

Anexos

Anexo 1. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre o conteúdo de amônia (mg amonia kg⁻¹ massa fresca), de acordo com doses do herbicida glufosinate aplicado em diferentes horários em plantas daninhas.

<i>D. insularis</i> dia	$F_{5,36}= 0,5325; P= 0,7502$
<i>D. insularis</i> noite	$F_{5,36}=0,4276; P= 0,8263$
<i>L. multiflorum</i> dia	$F_{5,36}= 0,5693; P= 0,7229$
<i>L. multiflorum</i> noite	$F_{5,36}=0,8429; P= 0,5284$
<i>E. indica</i> dia	$F_{5,36}= 1,3893; P= 0,2514$
<i>E. indica</i> noite	$F_{5,36}= 0,2444; P= 0,9399$

Anexo 2. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre ETR (%) em *Digitária insularis*, de acordo com doses de herbicida glufosinate aplicado em diferentes horários.

Aplicação dia					Aplicação noite				
ETR 12 HAA					ETR 12 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)		Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)
Epoca	1	1,32	0,1959	0,6607	1	2,456	0,7609	0,3888	
Dose	5	484,01	14,3938	>0,001***	5	125,359	7,7670	>0,001***	
Epoca x Dose	5	6,80	0,2023	0,9594	5	10,897	0,6751	0,6450	
ETR 15 HAA					ETR 15 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)		Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)
Epoca	-	-	-	-	1	105,629	16,5431	>0,001***	
Dose	-	-	-	-	5	205,884	6,4489	>0,001***	
Epoca x Dose	-	-	-	-	5	28,579	0,8952	0,4947178	
ETR 24 HAA					ETR24 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)		of	Residual Deviance	F	Pr (>5)
Epoca	1	57,31	9,5041	0,003921**	1	17,95	9,4209	0,004064**	
Dose	5	597,90	19,8321	>0,001***	5	1133,67	118,9952	>0,001***	
Epoca x Dose	5	49,56	1,6440	0,173435 ^{ns}	5	9,60	1,0079	0,427233 ^{ns}	
ETR 36 HAA					ETR 36 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)		of	Residual Deviance	F	Pr (>5)
Epoca	1	19,95	17,7520	>0,001***	1	70,62	13,2623	0,0008451	
Dose	5	1800,45	320,3997	>0,001***	5	1439,27	54,0560	>0,001***	
Epoca x Dose	5	2,37	0,4217	0,830479 ^{ns}	5	39,80	1,4949	0,2157909 ^{ns}	
ETR 60 HAA					ETR 60 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)		of	Residual Deviance	F	Pr (>5)
Epoca	1	5,79	4,8573	0,03401*	1	0,08	0,0352	0,08523	
Dose	5	1491,49	250,2904	>0,001***	5	1676,51	156,0428	>0,001***	
Epoca x Dose	5	13,48	2,2622	0,06897 ^{ns}	5	4,69	0,4367	0,8199	

Anexo 3. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre ETR (%) em *Lolium multiflorum*, de acordo com doses de herbicida glufosinate aplicado em diferentes horários.

Aplicação dia					Aplicação noite				
ETR 12 HAA					ETR 12 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	12,68	4,1747	0,0484*					
Dose	5	1651,40	108,7106	>0,001***	5	193,69	11,617	>0,001***	
Epoca x Dose	5	17,53	1,1537	0,3506 ^{ns}					
ETR 15 HAA					ETR2 15 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	-	-	-	-	1	167,83	70,283	>0,001***	
Dose	-	-	-	-	5	1543,51	129,273	>0,001***	
Epoca x Dose	-	-	-	-	5	233,28	19,538	>0,001***	
ETR 24 HAA					ETR 24 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	76,19	45,4776	0,21651 ^{ns}	1	107,2	31,999	>0,001***	
Dose	5	1687,14	201,4043	>0,001***	5	2058,2	122,874	>0,001***	
Epoca x Dose	5	14,47	1,7274	0,01217*	5	228,2	13,623	>0,001***	
ETR 36 HAA					ETR 36 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	3,39	1,5824	0,354011 ^{ns}	1	54,76	26,765	>0,001***	
Dose	5	1686,35	157,4794	>0,001***	5	2221,87	217,178	>0,001***	
Epoca x Dose	5	36,81	3,4375	0,001944**	5	273,28	26,712	>0,001***	
ETR 60 HAA					ETR 60 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	2,61	0,8816						
Dose	5	1980	133,5707	>0,001***	5	1212,6	103,34	>0,001***	
Epoca x Dose	5	70,52	4,7559						

Anexo 4. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre ETR (%) in *Eleusina indica*, de acordo com doses de herbicida glufosinate aplicado em diferentes horários em plantas daninhas.

Aplicação dia					Aplicação noite				
ETR 12 HAA					ETR 12 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	38,89	23,8569	>0,001***	1	0,03	0,0139	0,90695 ^{ns}	
Dose	5	1853,59	227,4264	>0,001***	5	451,09	39,2265	>0,001***	
Epoca x Dose	5	49,25	6,0423	>0,001***	5	35,79	3,1125	0,01952*	
ETR 15 HAA					ETR 15 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	-	-	-	-	1	2,49	0,8650	0,358526 ^{ns}	
Dose	-	-	-	-	5	1330,76	92,4816	>0,001***	
Epoca x Dose	-	-	-	-	5	78,84	5,4793	0,000753***	
ETR 24 HAA					ETR 24 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	93,67	25,6067	>0,001***	1	76,01	48,0370	>0,001***	
Dose	5	1592,99	87,0932	>0,001***	5	1761,82	222,6890	>0,001***	
Epoca x Dose	5	101,76	5,5633	>0,001***	5	5,46	0,6898	0,6344 ^{ns}	
ETR 36 HAA					ETR 36 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	0,17	0,0771	0,782917 ^{ns}	1	259,29	73,8599	>0,001***	
Dose	5	1864,83	170,2604	>0,001***	5	1657,69	94,4384	>0,001***	
Epoca x Dose	5	41,38	3,7785	>0,001***	5	31,04	1,7685	0,1442 ^{ns}	
ETR 60 HAA					ETR 60 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
	1	61,51	28,0146	>0,001***	1	76,66	35,8920	0,3438 ^{ns}	
Dose	5	1881,98	171,4174	>0,001***	5	2037,19	190,7636	>0,001***	

Crop Protection

CAPÍTULO 2 - Efeitos da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*

E.B. Castro¹, C.A. Carbonari¹, F.H Krenchinski¹, E.D. Velini¹, T. P. Tseng², e F. J.

Sales¹

¹Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rua José Barbosa de Barros 1780, 18.610-307, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: castroeb@hotmail.com

² Department of Plant and Soil Sciences, Mississippi State University, 316 Dorman Hall, Mississippi, MS, Estados Unidos.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, ETR e controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. Os tratamentos consistiram de seis doses de glufosinate de amônia (0, 150, 300, 600, 1200 e 2400 g i.a. ha⁻¹) e dois períodos de aplicações (7:30 e 19:30 horas). As variáveis avaliadas foram acúmulo de amônia, ETR, controle, e massa seca das plantas. A aplicação de glufosinate proporcionou aumentos crescentes no acúmulo de amônia, sendo diretamente proporcional a dose aplicada. Os maiores níveis de amônia acumulados em cada espécie foram observados em aplicação às 7:30 h em *E. heterophylla* e *I. grandifolia* (277 e 144 mg kg⁻¹ massa fresca, respectivamente). Enquanto que, para a aplicação às 19:30 h o acúmulo de amônia em *E. heterophylla* e *I. grandifolia* foi de 192 e 134 mg kg⁻¹ massa fresca, respectivamente. A ETR foi reduzida rapidamente na aplicação às 7:30 h, porém, a redução da ETR foi inferior quando a aplicação foi realizada às 19:30 nas avaliações realizadas 12 horas após a aplicação (HAA). Entretanto, 24 HAA os resultados foram semelhantes, independentemente do horário do tratamento. A aplicação do herbicida

glufosinate proporcionou controle efetivo das plantas daninhas e consequente redução da massa seca de todas as plantas daninhas. Pelo acúmulo de amônia, mesmo sendo maior na aplicação realizada as 7:30 h, a redução da ETR e massa seca, e o controle, demonstraram que o glufosinate foi eficiente em baixas doses (300 g i.a. ha⁻¹) no controle de *I. grandifolia* e *E. heterophylla* em estágio inicial, independentemente do horário de aplicação. Os resultados de correlação de ETR e controle sugerem que a inibição da glutamina sintetase pode ser evidenciada poucas horas após a aplicação do glufosinate, podendo as avaliações de ETR serem utilizadas para prever injúria em plantas.

Palavras-chave: Concentração de amônia; ETR; Glutamina sintetase; Injúria; Herbicida.

Abstract

The objective of this study was to verify the effect of day and night application on ammonia accumulation, electron transport rates (ETR) and control of *Euphorbia heterophylla* and *Ipomoea grandifolia*. Treatments consisted of six doses of ammonium glufosinate herbicide (0, 150, 300, 600, 1200 and 2400 g a.i. ha⁻¹) and two application timings (7:30 a.m. and 7:30 p.m.). The variables evaluated included ammonia accumulation, ETR, control, and dry mass. Glufosinate application resulted increases in the ammonia accumulation, being directly proportional to the dose applied. The highest levels of ammonia accumulated in each specie were observed in application at 7:30 a.m. in *E. heterophylla*. and *I. grandifolia* (277 and 144 mg ammonia kg⁻¹ fresh weight, respectively). When the application was at 7:30 p.m. the ammonia accumulation in *E. heterophylla*. and *I. grandifolia* were 192 and 134 mg ammonia kg⁻¹ fresh weight, respectively. ETR were reduced rapidly when applications were performed at 7:30 a.m.; when evaluated 12 hours after application (HAA), ETR reduction was lower when applications were performed at 7:30 p.m.. However, 24 HAA, the results were similar, regardless of the treatment timing. Glufosinate application provided effective weed control, resulting in dry mass reduction of all evaluated species. The ammonia accumulation, ETR, control and dry mass, demonstrated efficiency in low doses of glufosinate (300 g a.i. ha⁻¹) in the control of *E. heterophylla* and *I. grandifolia* in initial stage, regardless of the treatment timing. The ETR and control correlation results suggest that the inhibition of glutamine synthetase

can be evidenced few hour after the glufosinate application, and ETR evaluations can be used to predict plant injury.

Key-words: Ammonia concentration; ETR; Glutamine synthetase; Injury; Herbicide.

2.1 Introdução

As plantas daninhas apresentam grande importância para cultivos agrícolas, pois influenciam diretamente na produção das culturas, por causarem decréscimos na produtividade, dificuldade na colheita e aumento nos custos de produção (Ciuberkis et al., 2007).

A espécie *Euphorbia heterophylla* é uma planta daninha que causa grandes problemas devido a sua alta capacidade competitiva com culturas (Chemale e Fleck, 1982). Atualmente no mundo são registrados quatro casos de resistência a herbicida dessa espécie, três deles a inibidores da ALS, dos quais um possui resistência múltipla aos inibidores de Protopex e outro caso com resistência a herbicidas inibidores do Fotossistema II (HEAP, 2018). A presença dessa planta daninha na cultura da soja pode proporcionar perdas diárias de produtividade de 5,15 kg ha⁻¹, ao passo que sua ausência até 44 DAE pode representar ganho diário de produtividade de 7,27 kg ha⁻¹ (Meschede et al., 2002).

As plantas de *Ipomoea grandifolia* além de competidoras importantes na cultura da soja, dificultam a colheita em função do seu hábito de crescimento volúvel (Kissmann e Groth, 1999). Segundo Baldwin, (1995), espécies do gênero *Ipomoea* estão entre as mais tolerantes ao herbicida glyphosate, apresentando variações de tolerância entre populações da mesma espécie. A tolerância pode estar relacionada à menor translocação de herbicida nestas plantas (Monquero et al., 2004).

A adoção de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e culturas transgênicas surgem como alternativa para o controle de plantas daninhas tolerantes ou resistentes. O cultivo de variedades transgênicas com resistência a herbicidas, como as tecnologias “Liberty Link” (LL[®]) nas quais a cultura tolera aplicações de glufosinate proporcionam mais opções para o controle de plantas daninhas dicotiledôneas em cultivos similares. Segundo Braz et al. (2011) *E. heterophylla* possui sensibilidade ao glufosinate em aplicações em estágio precoces. Para as plantas de *I. grandifolia* altos níveis de intoxicação foram verificados após a aplicação de

glufosinate, causando diminuição de glutamato e glutamina e acúmulo de amônia em plantas tratadas a partir de seis horas após a aplicação (Silva et al., 2016).

O glufosinate é um herbicida aplicado em pós emergência, com baixa translocação, amplo espectro de controle de plantas e atividade residual no solo mínima. A aplicação do glufosinate inibe a síntese de glutamina a partir de glutamato e amônia, inibindo a atividade da glutamina sintetase. Consequentemente, ocasiona um rápido acúmulo de amônia e inibição da fotossíntese na planta (Avila-Garcia; Dayan et al., 2015; Mallory Smith, 2011; Sauer et al., 1987; Wild e Manderscheid, 1984). Como consequência, plantas suscetíveis ao glufosinate apresentam, após a sua aplicação, deficiência de glutamina, intoxicação pelo acúmulo de amônia, glutamato e glioxalato, rompimento da estrutura de cloroplastos, concomitante à diminuição de taxa de transporte de elétrons (ETR) e inibição da fotossíntese (Carbonari et al. 2016; Coetzer e Al-Khatib, 2001; Dayan et al. 2015; Devine et al. 1993).

Entretanto, existem diferenças na tolerância ao glufosinate entre as espécies que podem ser explicadas pela absorção e/ou pela translocação do herbicida (Acaster e Weitzman, 1985; Köcher e Löttsch, 1985). Segundo Brito et al. (2016), a sensibilidade de espécies de plantas daninhas ao herbicida glufosinate é distinta, e também foi observado variabilidade no acúmulo de amônia. Segundo Carbonari et al. (2016), a quantificação de amônia, a avaliação da ETR e o nível de injúria pode indicar nível de resistência em plantas. Dessa forma, a aplicação de glufosinate em diferentes períodos do dia pode ser uma forma de melhorar a translocação desse herbicida e amenizar a grande variabilidade no acúmulo de amônia nas plantas daninhas e por fim proporcionar controle eficaz (>80). Consequentemente, a avaliação da taxa de transporte de elétrons (ETR), juntamente com a avaliação de injúria pode caracterizar a inibição da GS.

Com base neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da aplicação diurna e noturna de glufosinate no acúmulo de amônia, taxa de transporte de elétrons e controle de *E. heterophylla* e *I. grandifolia*.

2.2 Material e métodos

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas – FCA/UNESP, Câmpus de Botucatu/SP. Foram utilizadas as espécies de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*, que foram semeadas em vasos contendo 0,25 L preenchidos com substrato comercial composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). Aos dez dias após a emergência das plantas daninhas, realizou-se o desbaste deixando uma planta por vaso. As condições climáticas na casa de vegetação foram de temperaturas médias em torno de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar em 60 % e luz natural.

Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 4 repetições. Para o estudo de acúmulo de amônia foram utilizadas quatro repetições, enquanto que para análise de injúria visual, ETR e a massa seca das plantas, foram utilizadas mais 4 repetições. Cada repetição foi composta por uma planta daninha. Os tratamentos foram constituídos de doses crescentes do herbicida glufosinate (Finale®, 200 g i.a. L^{-1} , Bayer CropScience Ltd, São Paulo SP, Brasil) 0 (controle), 150, 300, 600, 1200 e 2400 g i.a. ha^{-1} , aplicados às 7:30 h e às 19:30 h. Os experimentos foram realizados em duplicata, em duas diferentes épocas para a confirmação e validação dos resultados.

Três semanas após a semeadura das plantas daninhas, os tratamentos herbicidas foram aplicados utilizando-se um pulverizador estacionário pressurizado a ar contendo uma barra de pulverização equipada com quatro pontas modelo XR 110.02 (Teejet, Jacto Máquinas Agrícolas SA, Pompéia, SP, Brasil) espaçadas em 0,5 m entre si. O pulverizador foi posicionado a uma altura de 0,5 m em relação às plantas, a uma pressão de 150 kPa e velocidade de $3,6 \text{ km h}^{-1}$, proporcionando um consumo de calda de 200 L ha^{-1} (Fig. 1). No momento das aplicações a temperatura média, umidade relativa média, comprimento da parte aérea das plantas e número de folhas foram registrados (Tabela 1).

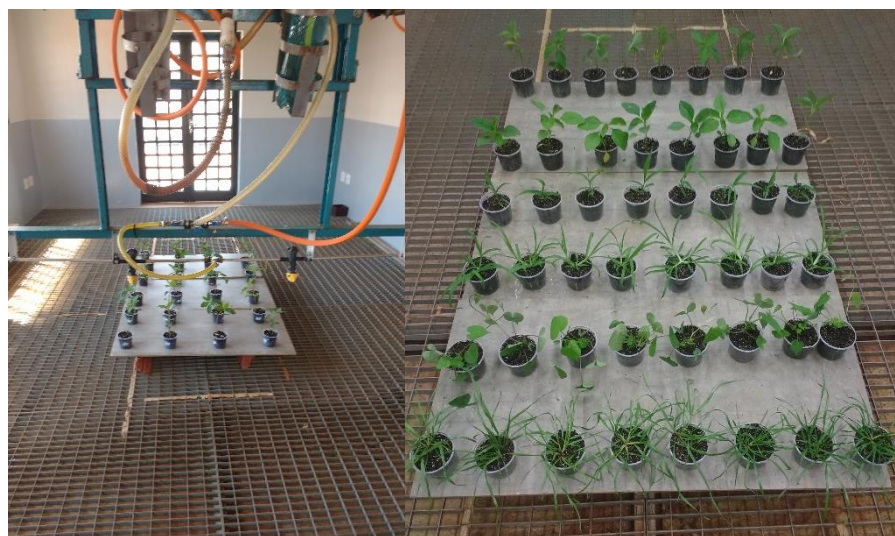


Fig. 1. Pulverizador estacionário utilizado e parcelas experimentais.

Tabela 1 – Descrição do estágio das plantas e características climáticas no momento da aplicação.

Época 1 (Outubro - Dezembro)							
Plantas daninhas	DAS	folhas (nº)	altura (cm)	Tº		U.R. (%)	
Aplicação				dia	noite	dia	noite
<i>Euphorbia heterophylla</i>	22	9	15	23	28	70	52
<i>Ipomoea grandifolia</i>	20	7-8	20	24	26	77	75
Época 2 (Dezembro - Fevereiro)							
<i>Euphorbia heterophylla</i>	21	8	14	26	26	70	72
<i>Ipomoea grandifolia</i>	23	8-9	25	23	27	82	71

DAS: Dia após a semeadura

As plantas foram avaliadas quanto à taxa transporte de elétrons (ETR) (%), concentração de amônia (mg amônia kg^{-1} de massa fresca), controle (%) e massa seca (g). Para a extração de amônia nas plantas daninhas, as folhas foram coletadas dois dias após a aplicação (DAA) do herbicida. Utilizando o método foi desenvolvido por Barberis (2012), com o objetivo de recuperar toda a amônia das folhas. A amônia foi determinada pelo ensaio colorimétrico desenvolvido por Peterson e Hurle (2000) utilizando-se um espectrofotômetro (Cintra 40 – UV- Visible Spectrometer, GBC Scientific Equipment, Braeside, Austrália) ajustado no comprimento de onda de 630

nm. A ETR foi medida com o auxílio de um fluorômetro portátil (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS 5p – Opti Sciences, Hudson, NH03051, USA), com leituras realizadas em quatro folhas totalmente expandidas por repetição. As avaliações foram realizadas às 12; 24; 36 e 60 horas após a aplicação (HAA). Para a aplicação noturna foi realizada uma leitura às 15 HAA, pois devido aos testes realizados anteriormente, foi observado a necessidade da leitura neste momento para se caracterizar a importância do efeito da luz na planta. Não foram realizadas leituras de ETR 60 HAA na época 1, para aplicação realizada 19:30 h em *E. heterophylla* devido à chuva durante esses períodos de leitura. Além disso, 4 plantas (repetições) foram utilizadas por tratamento para as avaliações de controle aos 3, 7, 14 e 21 DAA adotando-se escala percentual de notas, “0” correspondeu a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995). No final das avaliações de controle, toda a parte aérea das plantas daninhas foram coletadas, acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa a 60°C, por um período de 72 horas. Posteriormente, o material seco foi pesado para determinação da massa seca em cada um dos tratamentos.

Os valores de concentração de amônia (mg de amônia kg⁻¹ massa fresca) para as duas épocas foram submetidos à análise de variância, ANOVA. Para determinar a concentração de amônia a análise de regressão polinomial utilizou-se o programa computacional SigmaPlot versão 12.5®.

$$Y = y_0 + ax + bx^2$$

Em relação à variável *ETR* (%), os dados foram analisados utilizando análise de deviance, com um modelo linear generalizado do tipo quasibinomial. A qualidade de ajuste do modelo foi verificada com uso de um envelope simulado meio normal (Moral et al. 2016). Os parâmetros do modelo para ETR foram:

$$ETR = \frac{e^{\beta_0 + x\beta}}{1 + e^{\beta_0 + x\beta}}$$

Onde, *e* é a função exponencial, *x* é a dose do herbicida, e β_0 e β são os parâmetros associados à regressão logística. Para ambos modelos, normal e

generalizado (concentração de amônia e ETR, respectivamente), a significância dos fatores isolados (dose e época) e da interação (dose x época) foram verificadas pelo teste *F*. Quando a interação não foi significativa (Anexos), uma nova análise foi realizada com a combinação dos experimentos.

A análise de controle foi realizada utilizando o intervalo de confiança com o teste *t* estabelecido em 10% de probabilidade. Para determinar o intervalo de confiança, foi utilizada a seguinte equação:

$$IC = \frac{t \times D.V.P}{\sqrt{n}}$$

Onde, IC é o intervalo de confiança; *t* é o valor de *t* tabelado, ao nível de 10% de probabilidade; D.V.P. é o desvio padrão; e, $\sqrt{n}$ é a raiz quadrada do número de repetições.

Para as análises com modelos bayesianos da variável massa seca, foram utilizadas 30.000 interações utilizando o método de Monte Carlo e Cadeias de Markov MCMC com três cadeias para cada parâmetro e com burn-in de 5.000 amostras. As convergências das cadeias foram verificadas por meio de análise gráfica (não mostrado nesse trabalho). Sendo utilizados modelos normais com prioris normal. Para estimação dos parâmetros, utilizou-se o R Core Team (2017) com auxílio do pacote R2Openbugs (Sturtz et al., 2005).

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para identificar variação e ordenação na resposta de *I. grandifolia* e *E. heterophylla* ao herbicida glufosinate. Os dados foram padronizados dividindo-se a diferença entre cada ponto de dados e a média aritmética da variável de interesse pelo desvio padrão da mesma variável.

A área de contorno biplot foi definida pelo mapa de valores dos autovetores, conforme utilizado por Malaquias et al. (2017a). Os componentes foram selecionados para todos os contingentes do PCA sobre os autovalores da matriz de correlação de acordo com o critério da Kaiser (Kaiser 1974; Malaquias et al. 2017b), que é baseado na presença de componentes com autovalores maiores que 1 (Kaiser 1974; Malaquias et al., 2017b).

2.3 Resultados e Discussão

Os níveis de amônia foram semelhantes para a espécie *Ipomoea grandifolia* independente do horário de aplicação (Fig. 2). No entanto, a plantas de *Euphorbia heterophylla* aplicadas as 7:30 h apresentaram maior acúmulo de amônia em relação as plantas aplicadas às 19:30 h. As plantas de *E. heterophylla* com aplicação as 7:30 h e 19:30 h (277 e 192 mg kg⁻¹ massa fresca (M.F.), respectivamente) apresentaram maior acúmulo de amônia quando comparadas a *I. grandifolia* com aplicação as 7:30 h e 19:30 h (144 e 134 mg kg⁻¹ M.F., respectivamente) (Fig. 2). O aumento na concentração de amônia foi diretamente proporcional à dose aplicada, como observado por Carbonari et al. (2016) e Brito et al. (2017).

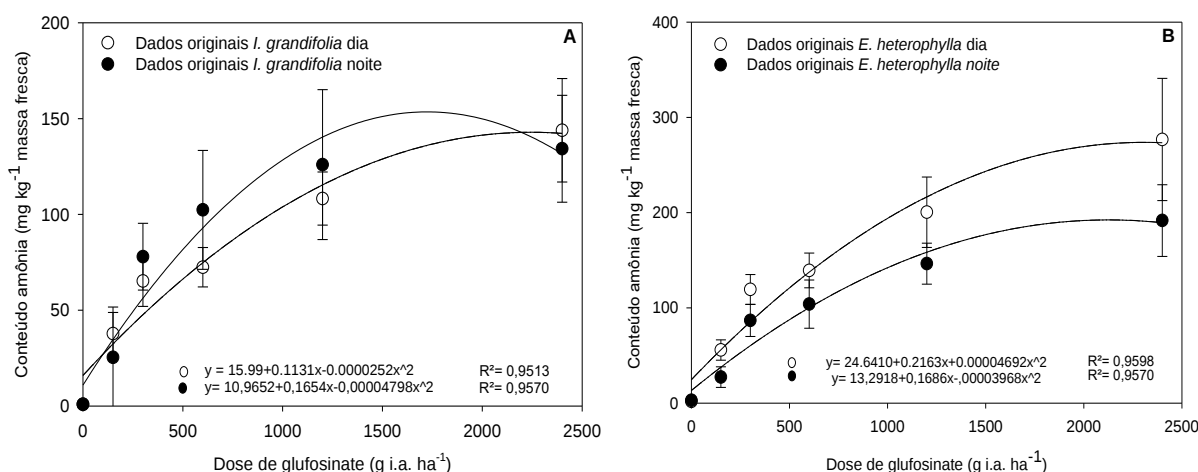


Fig. 2. Modelos de Regressão polinomial ajustados para o teor de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹) aplicadas em plantas de *I. grandifolia* e *E. heterophylla*. A: Aplicação realizada às 7:30 h; B: Aplicação realizada às 19:30 h.

A aplicação de glufosinate realizada as 7:30 h proporcionou aproximadamente 50% de redução na ETR a partir de 300 g i.a. ha⁻¹ às 12 HAA (Fig. 3). Na aplicação às 19:30 h observou-se a mesma redução (≥50%) a partir de 300 g i.a. ha⁻¹, apenas as 15 HAA. Pois, às 12 HAA, as plantas de *I. grandifolia* não haviam entrado em contato com a luz. Demonstrando assim, a importância da luz no efeito do glufosinate nas plantas (Wild e Manderscheid, 1984). Nas avaliações 60 HAA observou-se grande redução da ETR (≥80 %) a partir de 600 g i.a. ha⁻¹, sendo os menores valores de ETR na aplicação às 19:30 h nas 2 épocas.

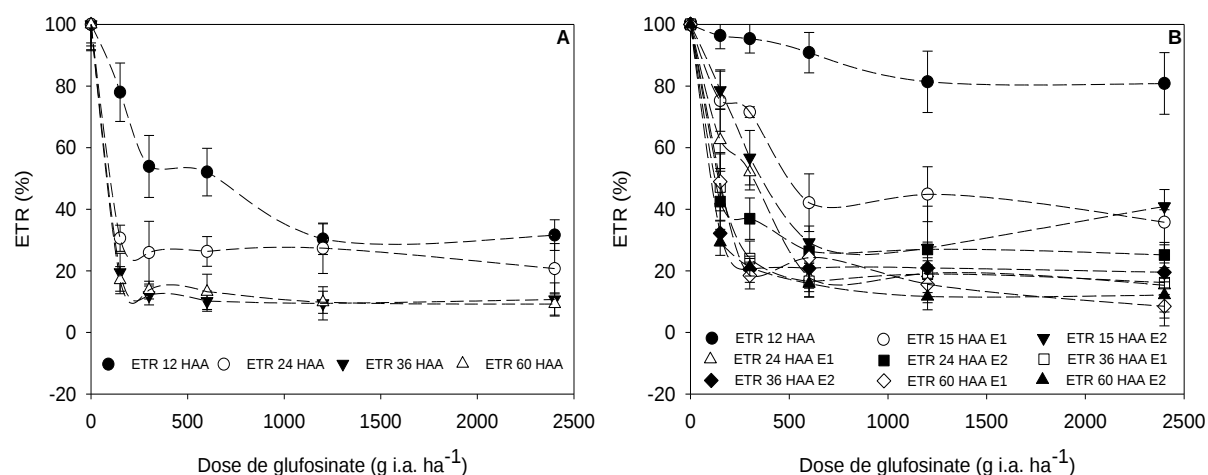


Fig. 3. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em *I. grandifolia*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

Na Fig. 4 A, a aplicação de glufosinate às 7:30 h em plantas de *E. heterophylla*, proporcionou redução de ETR superior a 70% nas avaliações às 12 HAA, mesmo na menor dose do herbicida glufosinate (150 g i.a. ha⁻¹) quando comparada à testemunha sem aplicação. O mesmo comportamento da redução da ETR foi observado nas avaliações seguintes (Fig. 4 A). De acordo com Carbonari et al. (2016), após a aplicação de glufosinate em algodão, um dos efeitos secundários da resposta fitotóxica observado foi a redução da ETR. Isso foi relatado em outras dicotiledôneas, como a mostarda branca (Ziegler e Wild 1989), soja (Barberis, 2012) e plantas de pepino (Dayan e Zaccaro 2012).

Para aplicação às 19:30 h, houve uma leve redução de ETR na avaliação às 12 HAA, independentemente da época avaliada (Fig. 4 B). Nas avaliações seguintes, houve um pronunciado declínio da ETR de acordo com o aumento da dose de glufosinate (Fig. 4 B), assim, como observado por Carbonari et al. (2016). Tal fato ocorreu, devido a enzima GS atingir sua atividade mínima no período escuro, enquanto que alcança o pico máximo no período de luz (Cánovas et al., 1986).

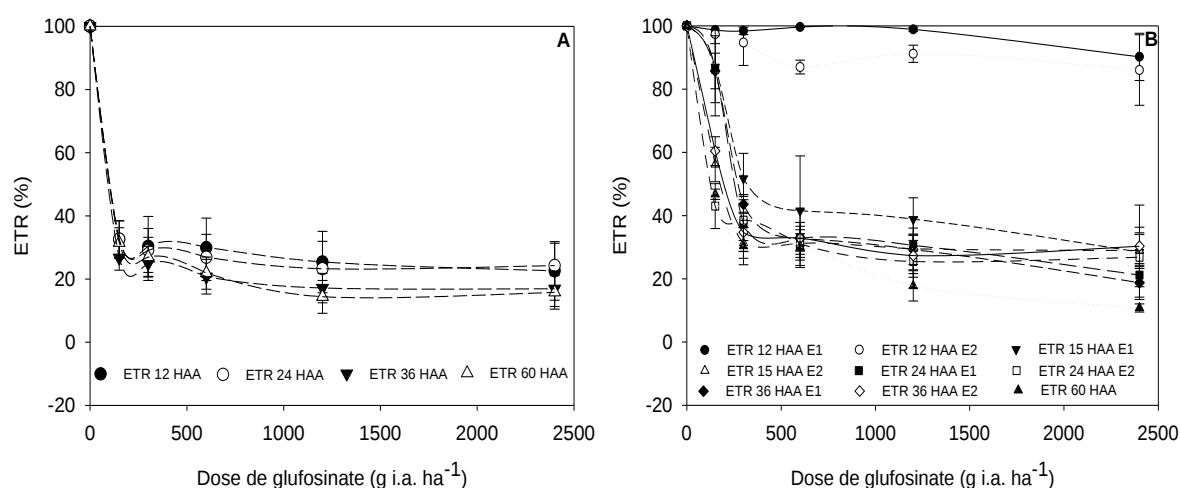


Fig. 4. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em *E. heterophylla*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

A análise de controle realizada nas plantas de *I. grandifolia* e *E. heterophylla* após a aplicação de glufosinate, demonstrou comportamento semelhante, para os tratamentos realizados às 7:30 h e 19:30 h (Fig. 5 e 6). Aos 3 DAA, na aplicação às 7:30 h em ambas as épocas e, às 19:30 h na época 2 nas plantas de *I. grandifolia*, o controle foi superior a 50% a partir de 300 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 5). Enquanto que na aplicação às 19:30 h na época 1 o controle foi superior a 50% apenas para dose acima de 600 g i.a. ha⁻¹ (Figura 4). A partir dos 7 DAA acima de 300 g i.a. ha⁻¹, todas as plantas daninhas foram totalmente controladas (100%). Braz et al. (2011), relataram que a velocidade de desencadeamento dos sintomas provocados pela aplicação do glufosinate nas folhas podem ocasionar rápida senescência das plantas daninhas.

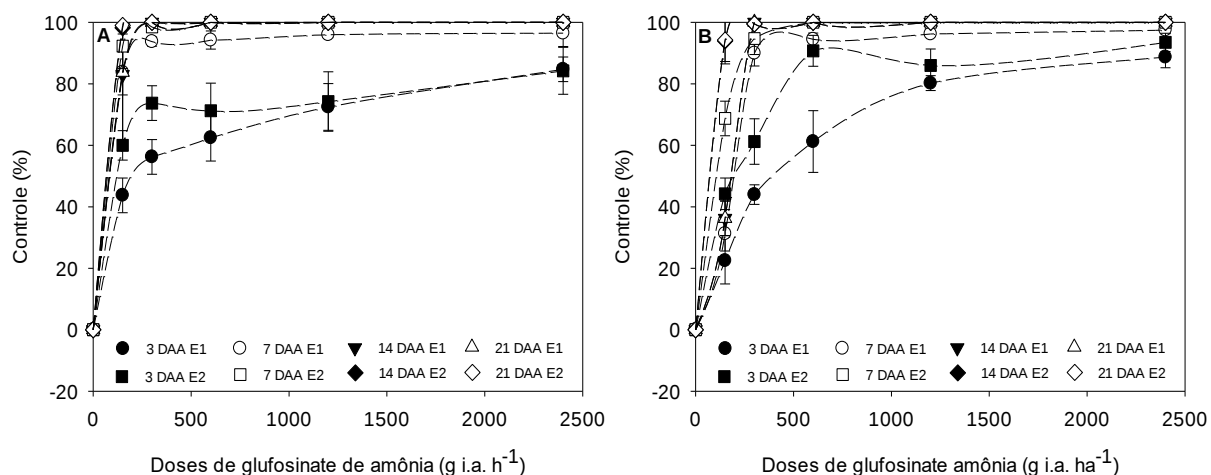


Fig. 5. Avaliação visual de controle (%) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), em plantas de *I. grandifolia*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

Aos 3 DAA a aplicação de glufosinate em plantas de *E. heterophylla* em ambos os horários, provocou fitointoxicação acima de 40 % a partir de 300 g i.a. ha⁻¹. Aos 7 DAA todas as plantas desta espécie foram totalmente controladas (100%) (Fig. 6). Souza et al. (2013), observaram a morte das plantas de *I. grandifolia* com 24 a 35 cm de altura (6 a 8 folhas) após a aplicação de glufosinate. Assim como Gelmini et al. (2005), aplicando glufosinate para o controle de *E. heterophylla* com 2 a 4 folhas verdadeiras, verificaram controle acima de 85% para a dose de 150 i.a. ha⁻¹.

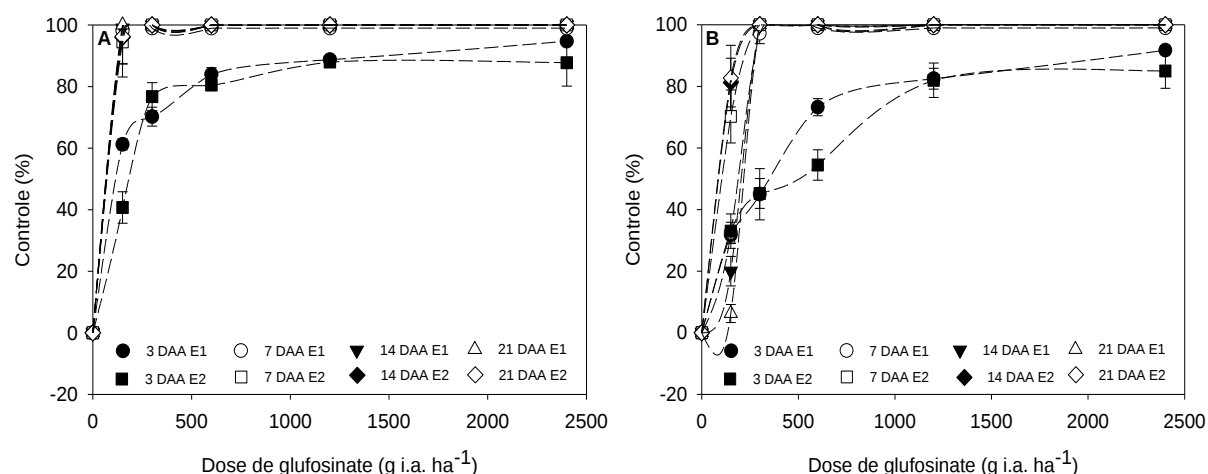


Fig. 6. Avaliação visual de controle (%) em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), em plantas de *E. heterophylla*. **A** aplicação 7:30 h e **B** aplicação 19:30 h.

A aplicação de glufosinate reduziu a massa seca das plantas *I. grandifolia* e *E. heterophylla*. No entanto, em *E. heterophylla* a redução ocorreu a partir de 150 g i.a. ha⁻¹ na época 1 com aplicação as 19:30, com massa seca similar ao da testemunha sem aplicação (Fig. 7). Estes resultados demonstram que o horário de aplicação de glufosinate nestas espécies de plantas daninhas em estágio inicial não afetou o controle, mesmo para concentração abaixo da dose comercial. Segundo Sellers et al. (2004), independentemente do horário de aplicação de glufosinate e com a dose de 320 g ha⁻¹ do produto comercial, a massa seca da planta *Abutilon theophrasti* foi semelhante. A aplicação de glufosinate além de proporcionar um efetivo controle em plantas de *E. heterophylla*, pode reduzir substancialmente a massa seca (Gelmini et al., 2005).

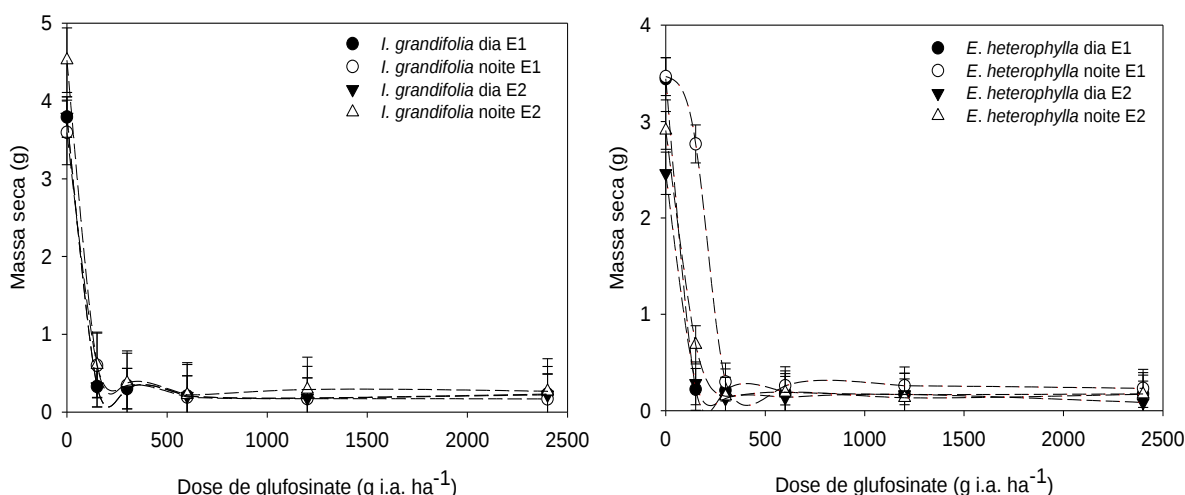


Fig. 7. Massa seca (g) em, *I. grandifolia* e *E. heterophylla* após a aplicação de glufosinate amônia.

Os altos níveis de correlação positiva e negativa [cosseno (θ)] (Tabela 2) relacionados com a planta daninha *I. grandifolia* são demonstrados pelas seguintes variáveis:

Tabela 2 - Correlação positiva e negativa [cosseno (θ)] no arranjo de vetores relacionado a *Ipomoea grandifolia*

correlação positiva		
massa seca x ETR _[24]	cosseno (θ)	0,9500
massa seca x ETR _[36]	cosseno (θ)	0,9800
ETR _[24] x ETR _[36]	cosseno (θ)	0,9700
correlação negativa		
massa seca x controle	cosseno (θ)	-0,9700
ETR _[24] x controle	cosseno (θ)	-0,9700
ETR _[36] x controle	cosseno (θ)	-0,9800

Foram selecionados dois componentes (PC1 e PC2) com base na presença de componentes com autovalores da matriz de correlação maior que 1. Além disso, a soma cumulativa da variância explicada no PC1 explica mais de 90% da variação total dos dados (Fig. 8).

De acordo com os valores de autovetor (v), o primeiro componente do biplot é representado principalmente pelo contraste entre a massa seca [$v = -0,4513$], ETR_[24] [$v = -0,4624$] e ETR_[36] [$v = -0,4612$] com amônia [$v = 0,3928$] e controle [$v = 0,4642$]. O segundo componente é representado pela média ponderada de amônia [$v = 0,8888$], massa seca [$v = 0,3571$] e ETR_[36] [$v = 0,2669$].

A caracterização dos tratamentos no arranjo dos vetores na bioplat demonstrados na Tabela 2 em que a análise da ETR_[24] e _[36] horas após a aplicação é eficiente para prever resultados de controle e massa seca, se confirmam na Fig. 8.

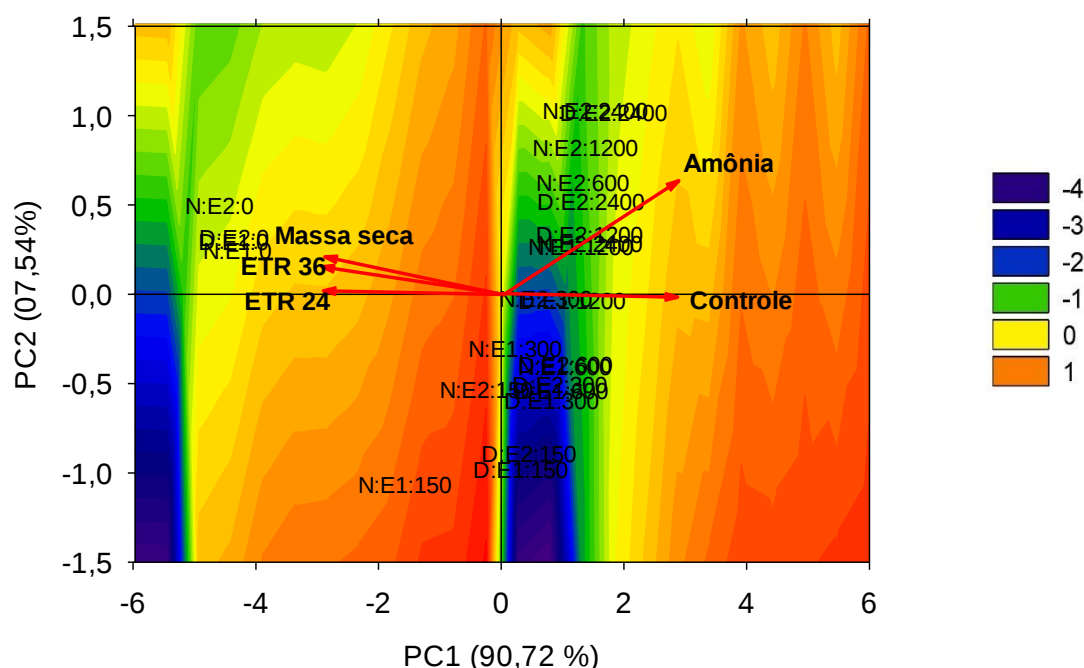


Fig. 8. Biplots para a aplicação de glufosinate em *I. grandifolia*. A área de contorno foi definida pelo mapa de valores dos autovetores. D: dia; N: noite; E1: Época 1; E2: Época 2; 0, 150, 300, 600, 1200, 2400: Doses; Controle: Controle 7 dias após a aplicação; ETR 24: Taxa de transporte de elétrons 24 horas após a aplicação; ETR 36: Taxa de transporte de elétrons 36 horas após a aplicação.

Os altos níveis de correlação positiva e negativa [cosseno (θ)] (Tabela 3) relacionados com a planta daninha *E. heterophylla* são demonstrados pelas seguintes variáveis:

Tabela 2 - Correlação positiva e negativa [cosseno (θ)] no arranjo de vetores relacionado a *Euphorbia heterophylla*

correlação positiva		
massa seca x ETR _[24]	cosseno (θ)	0,9700
massa seca x ETR _[36]	cosseno (θ)	0,9600
ETR _[24] x ETR _[36]	cosseno (θ)	0,9800
correlação negativa		
massa seca x controle	cosseno (θ)	-0,9800
ETR _[24] x controle	cosseno (θ)	-0,9800
ETR _[36] x controle	cosseno (θ)	-0,9700

Os componentes PC1 e PC2 também foram selecionados com base na presença de componentes com autovalores da matriz de correlação maior que 1 para a planta daninha *Euphorbia heterophylla*. Além disso, a soma cumulativa da variância explicada PC1 explica mais de 91% da variação total dos dados. De acordo com os valores do autovetor (v), o primeiro componente do biplot é representado principalmente pelo contraste entre massa seca [$v = -0,4558$], ETR_[24] [$v = -0,4630$] e ETR_[36] [$v = -0,4641$] com Amônia [$v = 0,3894$] e Controle [$v = 0,4590$]. O segundo componente é representado pela média ponderada de Amônia [$v = 0,8999$], Massa secas [$v = 0,3002$] e ETR_[24] [$v = 0,1396$].

A caracterização dos tratamentos no arranjo dos vetores na bioplat demonstrados na Tabela 3 em que a análise da ETR_[24] e _[36] horas após a aplicação é eficiente para prever resultados de controle e massa seca, se confirmam na Fig. 9.

Os resultados de correlação de Person e o arranjo dos vetores na biplot caracterizam resultados semelhantes para *I. grandifolia* e *E. heterophylla*. Desta forma, a redução dos valores de ETR_[24] e _[36] demonstra uma tendência a à redução na massa seca das plantas de *I. grandifolia*. Enquanto que a redução da ETR_[24] e _[36] demonstra uma tendência de aumento do controle sobre plantas de *I. grandifolia* (Fig. 9).

De acordo com Reddy et al. (2011), com a inibição da GS uma série de efeitos secundários podem ser desencadeados, como por exemplo a interferência no fluxo de elétrons do fotossistema. Assim, a caracterização via bioplat demonstra que os resultados do presente trabalho evidenciam a inibição da GS pelos valores da ETR_[24] e ETR_[36]. Estes resultados observados são importantes, pois, de acordo com Girotto et al. (2012), a ETR apresenta resultados rápidos, mesmo antes dos sintomas se tornarem visíveis na planta. Além do processo de obtenção de medidas é específico e não destrutivo (Mohanty e Govindjee, 1974). Com a redução dos valores da ETR observada após a aplicação de glufosinate em plantas de algodão, observou-se uma tendência de aumento da injúria semelhante ao observado no presente estudo (Carbonari et al. 2016).

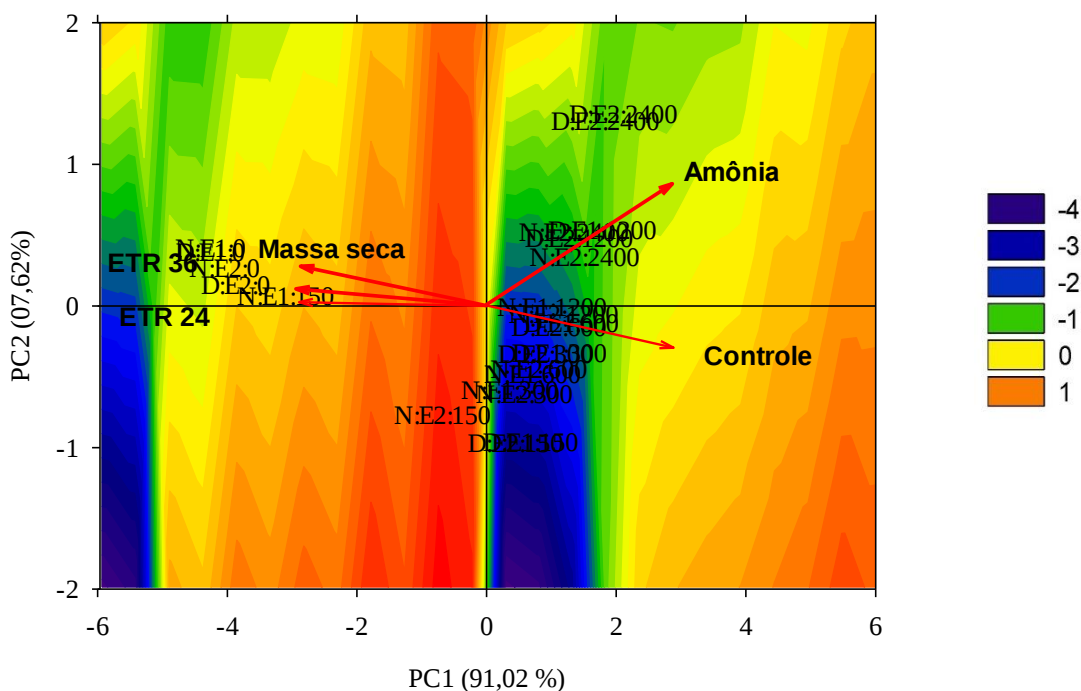


Fig. 9. Biplots para a aplicação de glufosinate em *I. grandifolia*. A área de contorno foi definida pelo mapa de valores dos autovetores. D: dia; N: noite; E1: Época 1; E2: Época 2; 0, 150, 300, 600, 1200, 2400: Doses; Controle: Controle 7 dias após a aplicação; ETR 24: Taxa de transporte de elétrons 24 horas após a aplicação; ETR 36: Taxa de transporte de elétrons 36 horas após a aplicação.

2.4 CONCLUSÕES

A aplicação realizada às 7:30 h proporcionou maiores níveis de acúmulo de amônia em *E. heterophylla* e *I. grandifolia* (277 e 144 mg kg⁻¹ massa fresca, respectivamente). Equanto que, na aplicação às 19:30 o acúmulo de amônia em *E. heterophylla* e *I. grandifolia* foi de 192 e 134 mg kg⁻¹ massa fresca, respectivamente. A aplicação de glufosinate proporcionou controle efetivo das plantas daninhas e consequente redução taxa de transporte de elétrons (ETR) e massa seca de todas as espécies avaliadas, independente do horário de aplicação.

Os resultados de acúmulo de amônia, ETR, injúria e massa seca, demonstraram o herbicida glufosinate é eficiente em baixas doses (300 g i.a. ha⁻¹) para aplicação sobre *I. grandifolia* e *E. heterophylla* em estágio inicial, independentemente do horário de aplicação.

Os resultados de correlação de ETR e controle sugerem que a inibição da glutamina sintetase pode ser evidenciada poucas horas após a aplicação do glufosinate, podendo as avaliações de ETR serem utilizadas para prever injúria em plantas.

Referências

- Acaster, M.A., P.D.J. 1985. Weitzman Kinetic analysis of glutamine synthetases from various plants. FEBS Letters. 189: 241.
- Avila-Garcia, W.V., Mallory-Smith, C. 2011. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perene*) populations also exhibit resistance to glufosinate. Weed Science. 59: 305–309.
- Baldwin F.L. 1995. Weed control in Roundup tolerant soybeans. South Weed Sci Soc. 48: 46
- Barberis, L.R.M. (2012). Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, p 66.
- Braz, G.B.P., Oliveira Jr. R.S., Constantin, J., Dan, H.A., Oliveira Neto, A.M., Santos, G., Constantin, A.F., Takano, H.K. 2011. Herbicidas alternativos no controle de *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* resistentes a inibidores de ALS na cultura do algodão. Revista Brasileira de Herbicidas, 10: 74-85.
- Brito, I.P.F.S., Marchesi, B.B., Pucci, C., Carbonari, C.A., Velini, E.D. 2016. Variation in the Sensitivities of Hairy Beggarticks (*Bidens pilosa*) Plants and Their Progenies to Glufosinate Ammonium. Weed Science. 64: 570-578.
- Cánovas, F.M., Avila, C., Botella, J.R., Valpuesta, V., Castro, I.N. Effect of light-dark transition on glutamine synthetase activity in tomato leaves. Physiologia Plantarum. 66: 648-652.
- Carbonari, C.A., Latorre, D.O., Gomes, G.L.G.C., Velini, E.D., Owens, D.K., Pan, Z., Dayan, F.E.. 2016. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. Planta. 243: 925–933.
- Chemale, V.M., Fleck, N.G. 1982. Avaliação de cultivares de soja (*Glycine max* (L.) em competição com *Euphorbia heterophylla* L. sob três densidades e dois períodos de ocorrência. Planta Daninha. 5: 36-45.
- Ciuberkis, S., Bernotas, S., Raudonius, S., Felix, J. 2007. Effect of weed emergence time and intervals of weed and crop competition on potato yield. Weed Technology. 21: 213-218.
- Coetzer E., Al-Khatib, K. 2001. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in *Palmer amaranth* after glufosinate application. Weed Science. 49: 454-459.

- Dayan F.E., Owens, D.K., Corniani, N., Silva, F.M.L., Watson, S.B., Howell, J., Shaner, D.L. 2015. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. *Weed Science*. 63: 23-63.
- Devine M., Duke, S.O., Fedtke, C. 1993. *Physiology of herbicide action*. Englewood Cliffs: PTR Prentice Hall: Englewood Cliffs, New Jersey. 1, 441 pp.
- Giroto M., Araldi, R., Velini, E.D., Trindade, M.L.B., Carbonari, C.A. 2012. Efeito do hexazinone isolado e em mistura na eficiência fotossintética de *Panicum maximum*. *Planta Daninha*. 30: 341-347.
- Heap, I. The international survey of herbicide resistance weeds. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 13 jul. 2018.
- Kaiser, H. F. 1974. An index of factorial simplicity. *Psychometrika*. 39: 31–36.
- Kissmann K.G., Groth, D. 1999. *Plantas infestantes e nocivas*. 2. ed. São Paulo: BASF, . 978 p.
- Köcher H., Lotzsch, K. 1985. Uptake, translocation and mode of action of the herbicide glufosinateammonium in warm climate weed species. In: *Asian Pacific Weed Science Conference*, 10., 1985, Chiang Mai. *Proceedings...* Chiang Mai: Asian-Pacific Weed Science Society, p. 193.
- Malaquias J.B., Godoy, W.A.C., Garcia, A.G., Ramalho, F.S., Omoto, C. 2017a. Larval Dispersal of *Spodoptera frugiperda* Strains on Bt Cotton: A Model for Understanding Resistance Evolution and Consequences for its Management. *Scientific Reports*. 7(16109)
- Malaquias J.B., Ramalho, F.S., Dias, C.T.S., Brugger, B.P., Lira, A.C.S., Wilcken, C.F., Pachú, J.K.S., Zanuncio, J.C. 2017 b. Multivariate approach to quantitative analysis of *Aphis gossypii* Glover (*Hemiptera: Aphididae*) and their natural enemy populations at different cotton spacings. *Scientific Reports*. 7(41740).
- Meschede D.K., Oliveira Jr. R.S., Constantin, J., Scapim, C.A. 2002. Período crítico de interferência de *Euphorbia Heterophylla* na cultura da soja sob baixa densidade de semeadura. *Planta Daninha*. 20 :381-387.
- Mohanty P., Govindjee, G. 1974. The slow decline and the subsequent rise of chlorophyll fluorescence transients in intact algal cells. *Plant Biochemical Journal*. 1: 78-106.

- Monquero P.A., Christoffoleti, P.J., Osuna, M.D., Prado, R.A. 2004. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. *Planta Daninha*. 22: 445-51.
- Moral R.A., Hinde, J., Demetrio, C.G.B. 2016. hnp: Half-Normal Plots with Simulation Envelopes. R package version 1.2-2. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>.
- Petersen J., Hurle, K. 2000. Einsatz von Liberty zur Klettenlabkrautbekämpfung in glufosinat resistentem Winterraps. *Z PflKrankh PflSchutz*. 17: 389-396.
- R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reddy K.N., Zablotowicz R.M., Bellaloui N., Ding W. 2011. Glufosinate effects on nitrogen nutrition, growth, yield, and seed composition in glufosinate-resistant and glufosinate-sensitive soybean. *International Journal of Agronomy*. 1-9.
- Sauer H., Wild, A., Rühle, W. 1987. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis II. The causes of inhibition of photosynthesis. *Zeitschrift für Naturforschung*. 42: 270-278.
- Silva I.P.F., Carbonari, C.A., Velini, E.D., Silva Jr., J.F., Tropaldi, L., Gomes, G.L.G.C. 2016. Absorption velocity of glufosinate and its effects on weeds and cotton. *Agrociencia*. 50: 239-49.
- Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas – SBPCPD. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina: 1995. 42p.
- Sturtz S., Ligges, U., Gelman, A. 2005. R2WinBUGS: A Package for Running WinBUGS from R. *Journal of Statistical Software*. 12: 1-16.
- Wild A., Manderscheid, R. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. *Z. Naturforsch*. 39c: 500–504.

Anexos

Anexo 1. Análise de variação dos resultados do estudo combinado sobre o teor de amônia em tecidos vegetais, segundo doses de herbicida glufosinato aplicadas em diferentes horários em plantas daninhas

<i>I. grandifolia</i> dia	$F_{5,36}= 1,4360$; $P= 0,235052$ ^{ns}
<i>I. grandifolia</i> noite	$F_{5,36}= 1,8271$; $P= 0,1322$ ^{ns}
<i>E. heterophylla</i> dia	$F_{5,36}= 0,0392$; $P= 0,9991$ ^{ns}
<i>E. heterophylla</i> noite	$F_{5,36}= 0,2289$; $P= 0,9475$ ^{ns}

*significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%

Anexo 2. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre a ETR (%) em *Ipomoea grandifolia*, de acordo com doses de herbicida glufosinato aplicadas em diferentes horários em plantas daninhas

Aplicação dia					Aplicação noite				
ETR 12 HAA					ETR 12 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	6.15	0.7220	0.4011 ^{ns}	1	10.45	2.4167	0.1288 ^{ns}	
Dose	5	1509.01	35.4477	>0,001*	5	359.17	16.6060	>0,001*	
Epoca x Dose	5	24.60	0.5778	0.7166 ^{ns}	5	22.65	1.0473	0.4053 ^{ns}	
ETR 15 HAA					ETR2 15 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	-	-	-	-	1	18.50	9.1193	0.0046*	
Dose	-	-	-	-	5	1456.87	143.6417	>0,001*	
Epoca x Dose	-	-	-	-	5	39.57	3.9019	0.0063*	
ETR 24 HAA					ETR 24 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	0.98	0.3856	0.5385 ^{ns}	1	1.08	0.3260	0.5716 ^{ns}	
Dose	5	1820.65	143.1759	>0,001*	5	1858.02	112.2465	>0,001*	
Epoca x Dose	5	10.53	0.8279	0.5383 ^{ns}	5	76.50	4.6212	0.0023*	
ETR 36 HAA					ETR 36 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	0.02	0.0057	0.9403 ^{ns}	1	1.14	0.8833	0.3536 ^{ns}	
Dose	5	2649.06	143.9758	>0,001*	5	2052.95	316.9182	>0,001*	
Epoca x Dose	5	7.62	0.4142	0.8358 ^{ns}	5	22.91	3.5373	0.0106*	
ETR 60 HAA					ETR 60 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	0.00	0.0001	0.9943 ^{ns}	1	9.94	6.8811	0.0127*	
Dose	5	2615.78	297.9220	>0,001*	5	2312.99	320.2570	>0,001*	
Epoca x Dose	5	10.86	1.2374	0.3120 ^{ns}	5	31.02	4.2948	0.0037*	

*significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%

Anexo 3. Análise da variação dos resultados do estudo combinado sobre a ETR (%) em *Euphorbia heterophylla*, de acordo com doses de herbicida glufosinato aplicadas em diferentes horários em plantas daninhas

Aplicação dia					Aplicação noite				
ETR 12 HAA					ETR 12 HAA				
	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	Of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	43,67	21,723	>0,001*	1	66,688	23,1245	>0,001*	
Dose	5	1757,03	174,795	>0,001*	5	171,226	11,8746	>0,001*	
Epoca x Dose	5	4,70	0,468	0,7975 ^{ns}	5	38,275	2,6544	0,0384*	
ETR 15 HAA					ETR 15 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	-	-	-	-	1	66,78	14,3853	>0,001*	
Dose	-	-	-	-	5	1594,52	68,6990	>0,001*	
Epoca x Dose	-	-	-	-	5	59,20	2,5508	0,0448*	
ETR 24 HAA					ETR 24 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	52,39	113,489	>0,001*	1	25,38	10,338	0,0028*	
Dose	5	1799,21	779,500	>0,001*	5	1720,79	140,202	>0,001*	
Epoca x Dose	5	3,94	1,708	0,1578 ^{ns}	5	143,74	11,711	>0,001*	
ETR 36 HAA					ETR 36 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	2,24	1,7672	0,1921 ^{ns}	1	8,00	5,8855	0,2041*	
Dose	5	2077,26	328,3385	>0,001*	5	1798,33	264,4523	>0,001*	
Epoca x Dose	5	6,39	1,0093	0,4264 ^{ns}	5	77,31	11,3690	>0,001*	
ETR 60 HAA					ETR 60 HAA				
	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	of	Residual Deviance	F	Pr (>5)	
Epoca	1	0,04	0,0241	0,8775 ^{ns}					
Dose	5	2095,10	256,2853	>0,001*	5	1035,2	285,98	>0,001***	
Epoca x Dose	5	3,59	0,4386	0,8186 ^{ns}					

*significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%

CAPÍTULO 3 - EFEITO DE GLUFOSINATE NO ACÚMULO DE AMÔNIA EM PLANTAS DANINHAS APLICADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE LUZ E FORMULAÇÕES DO HERBICIDA, E A VELOCIDADE DE RESPOSTA À ETR

Resumo

Objetivou-se verificar o efeito de glufosinate no acúmulo de amônia em plantas daninhas aplicadas em diferentes condições de luz e formulações do herbicida, e a velocidade de resposta à ETR. Foram realizados dois estudos contendo 2 experimentos cada, em casa de vegetação. Estudo 1, quantificou-se o acúmulo de amônia após a aplicação de glufosinate. Para isso, no experimento 1, utilizou-se 0 e 600 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate, aplicados às 19:30 em plantas de *Digitaria insularis*, *Lolium mutiflorum*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. Para o experimento 2, utilizou-se as doses de 0,30, 90, 180, 360, 720 e 1440 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate em diferentes formulações: glufosinate de amônia e de potássio, e sulfato de amônia aplicados às 7:30 h em *D. insularis* e *E. heterophylla*. Estudo 2, verificou-se o efeito de glufosinate aplicado às 7:30 h na taxa de transporte de elétrons (ETR). Para o experimento 1, aplicou-se 0 e 600 g i.a. ha⁻¹ de glufosinate em *D. insularis*, *L. mutiflorum*, *E. indica*, *E. heterophylla* e *I. grandifolia* com avaliações realizadas aos 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 180, 240, 480 minutos após a aplicação (MAA). No experimento 2, utilizou-se *D. insularis* e *E. heterophylla* com tratamentos compostos de glufosinate de amônia, glufosinate de potássio e sulfato de amônia (0 e 600 g i.a. ha⁻¹) e avaliações realizadas aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 e 720 MAA. No estudo 1, não observou-se aumento no acúmulo de amônia em nenhuma das espécies mantidas no escuro (experimento 1). Para o experimento 2, apenas a aplicação do glufosinate de amônia e de potássio às 7:30 h aumentou a concentração de amônia em *E. heterophylla* e *D. insularis*. No estudo 2, houve a redução da ETR (>70) 480 MAA em todas as plantas daninhas do experimento 1. O glufosinate de amônia e de potássio foram eficientes em reduzir a ETR de *E. heterophylla* e *D. insularis* (experimento 2). Os resultados sugerem que, a luz é importante na ação de glufosinate em plantas daninhas e o glufosinate de amônia e de potássio são eficientes em aumentar o acúmulo de amônia e reduzir a ETR.

Palavras-chave: Aplicação noturna; Elétron; Glufosinate de amônia; Glufosinate de potássio

Abstract

The objective of this study was to verify the effect of glufosinate on the ammonia accumulation in weeds applied in different light conditions and herbicide formulations, and electron transport rate (ETR) response. Two studies were performed containing two experiments in each study in greenhouse. Study 1, the ammonia accumulation was quantified after glufosinate application. In experiment 1, the doses 0 and 600 g a.i. ha⁻¹ of glufosinate were applied at 7:30 p.m. in *Digitaria insularis*, *Lolium mutiflorum*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla* and *Ipomoea grandifolia*. In experimente 2, the dose 0, 30, 90, 180, 360, 720 and 1440 g a.i. ha⁻¹ of glufosinate was applied at 7:30 a.m. in different formulations: glufosinate of ammonium and potassium, and ammonium sulfate in *D. insularis* and *E. heterophylla*. Study 2, the effect of glufosinate applied on the ETR was verified. In experimente 1, the doses 0 and 600 g a.i. ha⁻¹ of glufosinate were applied in *D. insularis*, *L. mutiflorum*, *E. indica*, *E. heterophylla* and *I. grandifolia* with evaluations carried out at 5, 10, 20, 20, 30, 40, 50, 75, 90, 180, 240, 480 minutes after application (MAA). In experimente 2, *D. insularis* and *E. heterophylla* were treated with 0 and 600 g a.i. ha⁻¹ of glufosinate of ammonium and potassium, and ammonium sulfate applied at 7:30, evaluated at 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 720 MAA. In Study 1, there was no increase in ammonia accumulation in any species kept in the dark (experiment 1). For the experiment 2, the glufosinate of ammonium and potassium application increased the ammonia accumulation in *D. insularis* and *E. heterophylla*. In study 2, glufosinate provided ETR reduction (>70%) 480 MAA in all species of the experiment 1. Glufosinate of ammonium and potassium were efficient to reduce the ETR in *D. insularis* and *E. heterophylla* (experimente 2). These results suggest that light is importante to the action of glufosinate in weeds, and glufosinate of ammonium and potassium are efficient to increase the ammonia accumulation and reduce the ETR.

Key-words: Night application; Electron; Glufosinate ammonium; Glufosinate potassium.

3.1 Introdução

O glufosinate é um herbicida não seletivo aplicado em pós-emergência, que apresenta baixa translocação e um amplo espectro de controle de plantas daninhas. É o único herbicida comercializado atualmente que inibe a atividade da enzima glutamina sintetase (GS) (VELINI et al., 2005). Este produto também inibe a primeira reação de incorporação de amônia nas células vegetais (DEVINE et al., 1993). Em decorrência da aplicação do glufosinate ocorre aumento dos níveis de amônia nos tecidos da planta (AVILA-GARCIA; MALLORY SMITH, 2011; DAYAN et al., 2015; SAUER et al., 1987; WILD; MANDERSCHIED, 1984). Porém, a amônia intracelular acumulada, pode não ser o principal responsável pela morte da célula após a aplicação de glufosinate, pois, além do aumento desses, o herbicida pode inibir a síntese de proteínas (especialmente proteína Qb envolvida no transporte de elétrons), pelo acúmulo de glioxalato tóxico, devido à deficiência de aminoácidos doadores ou pela insuficiente regeneração de intermediários do ciclo C_3 (DEVINE et al., 1993; KLECZKOWSKI, 1993).

Com a aplicação de diferentes formulações do herbicida glufosinate com sais de amônio e potássio, observou-se que a amônia proveniente da formulação comercial do glufosinate não interferiu nas concentrações de amônia intracelular em plantas de soja (BARBERIS, 2012). Assim, a quantificação de amônia intracelular se torna um dos principais indicadores da intoxicação de plantas por esse herbicida (AVILA-GARCIA; MALLORY-SMITH, 2011; BRITO et al., 2018; BRITO et al., 2017; CARBONARI et al., 2016). Entretanto, estudos demonstraram que, para a atividade máxima da enzima GS, e, conseqüentemente, maior acúmulo de amônia, é necessário que as plantas estejam expostas à luz após a aplicação do herbicida (CANOVAS et al., 1986; SEELERS et al., 2004).

Após a aplicação de glufosinate e a inibição da enzima GS, também ocorrem efeitos secundários no fluxo de elétrons do fotossistema II, causando danos irreversíveis à planta (SAUER et al. 1987; WILD et al., 1987). O amônio não-assimilado gera a ruptura da estrutura do cloroplasto e, indiretamente por afetar a fase fotoquímica da fotossíntese, bloqueia a cadeia de transporte de elétrons (DAYAN; ZACCARO 2012; TAN et al. 2006) e afeta a fotorrespiração devido à redução dos níveis de aminoácidos (DAYAN; DUKE 2014). Com isso, é possível observar a

redução pronunciada da taxa de transporte de elétrons (ETR) e a morte da planta dentro de poucos dias (BARBERIS, 2012; CARBONARI et al., 2016).

Desta forma, confirmar os resultados do acúmulo de amônia em plantas daninhas mantidas no escuro após a aplicação e conhecer a velocidade de atuação do glufosinate sobre a ETR, independente da formulação utilizada pode contribuir para a caracterização da inibição da GS.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de glufosinate no acúmulo de amônia em plantas daninhas aplicadas em diferentes condições de luz e formulações do herbicida, e a velocidade de resposta à ETR.

3.2 Material e Métodos

Foram instalados quatro experimentos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/UNESP, campus de Botucatu/SP. O trabalho foi dividido em dois estudos: 2 experimentos para quantificar o conteúdo de amônia e dois para avaliar a taxa de transporte de elétrons (ETR) nas plantas daninhas após a aplicação de glufosinate. As espécies de plantas daninhas foram semeadas em vasos com capacidade para 0,25 L preenchidos com substrato comercial composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). Aos dez dias após a emergência das plantas daninhas, realizou-se o desbaste mantendo-se uma planta por vaso. As condições na casa de vegetação foram de temperaturas médias em torno de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar em 60 %, com luz solar.

Estudo 1: Quantificação da concentração de amônia nas plantas daninhas

Para o experimento 1, foram utilizadas as plantas daninhas *Digitaria insularis*, *Lolium mutiflorum*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos das doses 0 (controle) e 600 g i.a. ha^{-1} do herbicida glufosinate de amônio (Finale®, 200 g i.a. L^{-1} , Bayer CropScience Ltda, São Paulo SP, Brasil), com a aplicação às 19:30 horas. Após

a aplicação as plantas daninhas foram mantidas no escuro até o momento da avaliação.

Para o experimento 2 foram utilizadas as plantas daninhas *D. insularis* e *E. heterophylla*, sendo instalado em delineamento inteiramente casualizado, com aplicação de doses crescentes de glufosinate (30; 90; 180; 360; 720 e 1440 g i.a.ha⁻¹) e quatro repetições. Para isso utilizou-se duas diferentes formulações de glufosinate: glufosinate de amônio e glufosinate de potássio, além do sulfato de amônia, devido à importância de se conhecer o efeito da amônia aplicada diretamente sobre as plantas daninhas, a dose utilizada foi proporcional à concentração de amônia do herbicida glufosinate de amônio.

O método utilizado para formular o glufosinate de potássio foi desenvolvido por Barberis (2012), que utilizou uma alíquota de 100 ml do produto comercial Finale para 1000 ml de água chegando-se a concentração de 10% v/v da formulação original do produto. Foi corrigido o pH=13,00 com KOH (Hidróxido de Potássio) em capela com ventilação forçada para que a volatilização ocorresse de forma espontânea após a adição do KOH. Após 24 horas foi quantificada uma amostra da solução para verificar que a amônia não estava mais presente. Após constatar a ausência de amônia na solução, foi ajustado o pH=7,0 para a formulação de glufosinate do potássio. Em seguida o glufosinate presente na formulação foi quantificado por cromatografia e espectrometria de massas, comprovando que não ocorreram perdas do produto durante o preparo da formulação. A aplicação de sulfato de amônio foi realizada

Três semanas após a semeadura das plantas daninhas, os tratamentos herbicidas foram aplicados utilizando-se um pulverizador estacionário pressurizado a ar contendo uma barra de pulverização equipada com quatro pontas modelo XR 110.02 (Teejet, Jacto Máquinas Agrícolas SA, Pompéia, SP, Brasil) espaçadas em 0,5 m entre si. O pulverizador foi posicionado a uma altura de 0,5 m em relação às plantas, a uma pressão de 150 kPa e velocidade de 3,6 km h⁻¹, proporcionando um consumo de calda de 200 L ha⁻¹ (Figura 1). No momento das aplicações a temperatura média, umidade relativa média, comprimento da parte aérea das plantas e número de folhas foram registrados (Tabela 1).



Figura 1. Pulverizador estacionário utilizado e parcelas experimentais.

Tabela 1. Descrição do estágio das plantas e características climáticas no momento da aplicação.

Experimento 1					
Plantas daninhas	DAS	folhas (nº)	comprimento (cm)	T°	U.R. (%)
<i>Euphorbia heterophylla</i>	21	9	14	23	77
<i>Ipomoea grandifolia</i>	21	8	20	23	77
<i>Digitaria insularis</i>	21	7	13	23	77
<i>Lolium multiflorum</i>	21	5	10	23	77
<i>Eleusine indica</i>	21	6	14	23	77
Experimento 2					
<i>Euphorbia heterophylla</i>	21	9	14	25	73
<i>Digitaria insularis</i>	21	7	13	25	73

DAS: Dia após a semeadura

Para a extração de amônia das plantas daninhas do experimento 1, a coleta das folhas foi realizada às 4:30 horas, nove horas após a aplicação (HAA) do herbicida. Após a coleta as folhas foram lavadas para a retirada do amônio proveniente do glufosinate e acondicionadas em tubos de centrífuga. Enquanto que para o experimento 2, a coleta das folhas foi realizada aos 2 DAA do herbicida. O método utilizado foi desenvolvido por Barberis (2012), com o objetivo de recuperar toda a amônia das folhas das plantas daninhas. Posteriormente, a amônia foi

determinada pelo ensaio colorimétrico desenvolvido por Peterson e Hurle (2000) utilizando um espectrofotômetro (Cintra 40 – UV- Visible Spectrometer, GBC Scientific Equipment, Braeside, Austrália) ajustado no comprimento de onda de 630 nm

A concentração de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) para o primeiro experimento foi submetida ao intervalo de confiança pelo teste t a 10% de probabilidade, sendo adotada a seguinte equação:

$$IC = \frac{t \times D.V.P}{\sqrt{n}}$$

Onde, IC é o intervalo de confiança; t é o valor de t tabelado, ao nível de 10% de probabilidade; D.V.P é o desvio padrão; e, $\sqrt{n}$ é a raiz quadrada do número de repetições. Os dados das concentrações de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) do experimento 2 foi ajustada pelo modelo de regressão não linear de Mitscherlich (MITSCHERLICH 1909) utilizando a seguinte equação:

$$Y = a[1 - 10^{(-c(x+b))}]$$

Onde a concentração máxima de amônia quantificada nas folhas de plantas daninhas correspondeu ao parâmetro a; o deslocamento lateral da curva correspondeu ao parâmetro c; e a concavidade da curva correspondeu ao parâmetro b. Os parâmetros mencionados foram estimados por meio de regressão não linear (método de Newton) com PROC NLIN (SAS INSTITUTE, 2006). O coeficiente de determinação (R^2) foi calculado como $R^2 = 1 - (S^2_y / S^2_{td})$, em que S^2_y é a variância dos resíduos do modelo e S^2_{td} é a variância das médias observadas da concentração de amônia.

Estudo 2: Efeito dos tratamentos aplicados na taxa de transporte de elétrons (ETR)

No experimento 1, foram utilizadas as plantas daninhas *Digitaria insularis*, *Lolium mutiflorum*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia*. Os tratamentos foram constituídos das doses 0 (controle) e 600 g i.a. ha⁻¹ do herbicida glufosinate de amônio (Finale®, 200 g i.a. L⁻¹, Bayer CropScience Ltda, São Paulo SP,

Brasil), com a aplicação sendo realizada as 7:30 horas e compostos por quatro repetições.

No experimento 2, utilizou-se as plantas daninhas *Euphorbia heterophylla* e *Digitaria insularis*. Os tratamentos utilizados foram duas diferentes formulações de glufosinate: glufosinate de amônio e glufosinate de potássio, utilizando-se como base a concentração comercial de glufosinate (Finale®, 200 g i.a. L⁻¹, Bayer CropScience Ltda, São Paulo SP, Brasil), e, sulfato de amônia com base na concentração de amônia no produto comercial glufosinate. No momento das aplicações para ambos experimentos a temperatura média, umidade relativa média, comprimento da parte aérea das plantas e números de folhas estão descritas na Tabela 2.

Após a aplicação dos tratamentos, a ETR foi medida com o auxílio de um fluorômetro portátil (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS 5p – Opti Sciences, Hudson, NH03051, USA), com leituras realizadas em quatro folhas totalmente expandidas por repetição, sendo quatro repetições por tratamento no total. As avaliações foram realizadas aos 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 120, 180, 240 e 480 minutos após a aplicação (MAA). Para o segundo experimento as avaliações foram realizadas aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 e 720 MAA.

Tabela 2. Descrição do estágio das plantas e características climáticas no momento da aplicação.

Experimento 1					
Plantas daninhas	DAS	folhas (nº)	comprimento (cm)	T°	U.R. (%)
<i>Euphorbia heterophylla</i>	21	9	14	22	70
<i>Ipomoea grandifolia</i>	21	8	20	22	70
<i>Digitaria insularis</i>	21	7	13	22	70
<i>Lolium multiflorum</i>	21	5	10	22	70
<i>Eleusine indica</i>	21	6	14	22	70
Experimento 2					
<i>Euphorbia heterophylla</i>	21	9	14	24	75
<i>Digitaria insularis</i>	21	7	13	24	75

DAS: Dia após a semeadura

Os dados de ETR (%) foram analisados por meio da análise de deviance, com um modelo linear generalizado do tipo quasibinomial. A qualidade de ajuste do modelo

foi verificada com uso de um envelope simulado meio normal (Moral *et al.* 2016). Os parâmetros do modelo para ETR foram

$$ETR = e^{\beta_0 + x\beta} / 1 + e^{\beta_0 + x\beta}$$

Onde, e é a função exponencial, x é a dose do herbicida, e β_0 e β são os parâmetros associados à regressão logística.

3.3 Resultados e Discussão

Estudo 1: Quantificação da concentração de amônia nas plantas daninhas

A aplicação de 600 g i.a.ha⁻¹ de glufosinate às 19:30 h, não provocou diferença na concentração de amônia na avaliação ocorrida nove horas após a aplicação (HAA), independente da espécie utilizada, quando comparadas à testemunha sem aplicação (Figura 2). Tal fato pode ocorrer, uma vez que a fotorrespiração cessa durante o período escuro e é consistente com pesquisas anteriores (KOCHER, 1983; SELLERS, *et al.*, 2004; WILD; MANDERSCHIED, 1984), além da baixa atividade da enzima glutamina sintetase (GS) no período escuro (CÁNOVAS *et al.*, 1986; SELLERS *et al.*, 2004). Com essa diferença, fica evidente a importância da luz para a ação do herbicida glufosinate sobre as plantas daninhas estudadas.

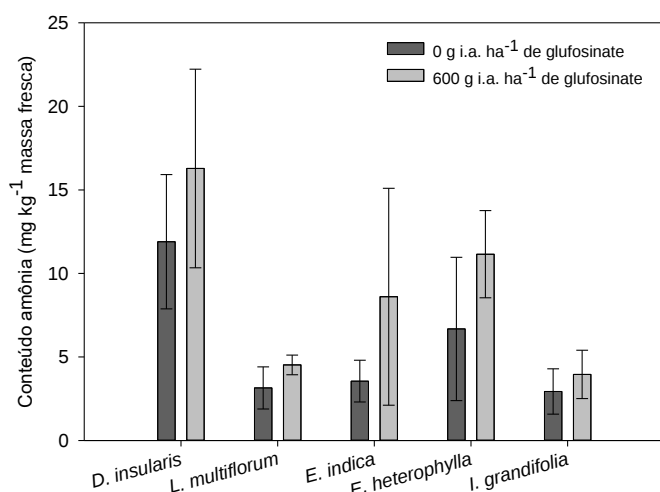


Figura 2. Concentração de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) avaliada 9 horas após a aplicação de glufosinate (19:30) em diferentes espécies de plantas daninhas. A barra de erros corresponde ao intervalo de confiança a 10%.

No experimento 2, a análise de regressão da concentração de amônia (mg kg⁻¹ massa fresca) nas folhas das plantas daninhas após a aplicação do herbicida glufosinate de amônio e de potássio, foram realizadas segundo o modelo de Mitscherlich (Tabela 3). A aplicação desses tratamentos provocou acúmulo de amônia proporcional a dose utilizada para as plantas de *D. insularis* e *E. heterophylla* (Figura 3). Entretanto, o comportamento para ambos os herbicidas foi semelhante para as espécies estudadas. A aplicação de sulfato de amônia não provocou aumento na concentração de amônia nas plantas. Desta forma, o amônio aplicado de forma externa, contidos no glufosinate de amônio e sulfato de amônia não interfere no acúmulo de amônia intracelular na planta. Isso demonstra que o real acúmulo de amônia na planta é causado pela inibição da GS sintetase pelo glufosinate (BARBERIS, 2012).

Tabela 3. Resultados das análises de variância e regressão. Parâmetros das equações obtidas.

Parâmetros do Modelo de Mitscherlich	Plantas daninhas			
	<i>Digitaria insularis</i>		<i>Euphorbia heterophylla</i>	
	glufosinato de amônio	glufosinato de potássio	glufosinato de amônio	glufosinato de potássio
A	61,5645	57,2651	109,2	84,1921
B	1,5755	1,8133	0,6849	1,8713
C	0,012	0,00469	0,2302	0,075
F	73,66**	143,76**	238,09**	228,48**
r ²	0,9400	0,9676	0,9646	0,9557

** Significativo a 1% de probabilidade

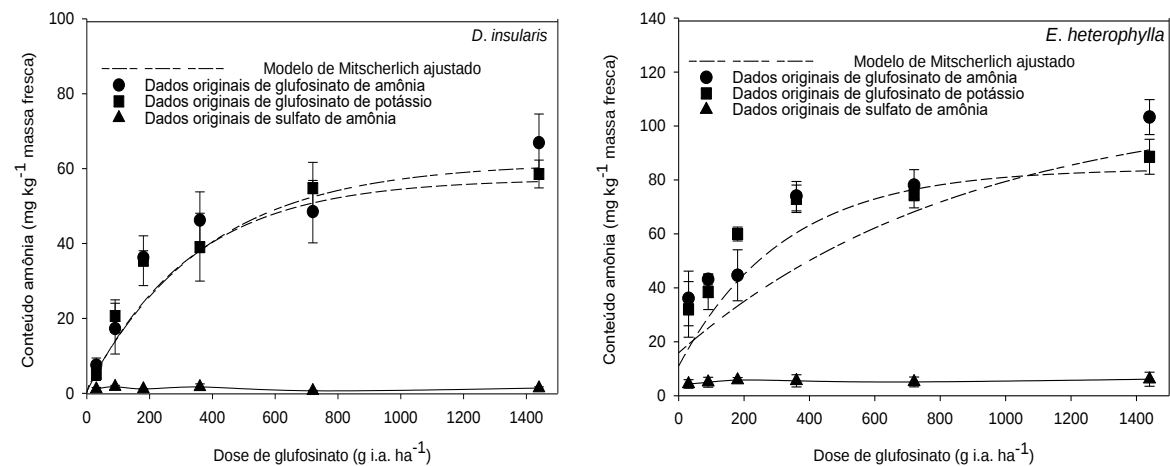


Figura 3. Modelos de Mitscherlich ajustados para o teor de amônia (mg amônia kg⁻¹ massa fresca) em função da aplicação de diferentes formulações de glufosinate e sulfato de amônia aplicadas em plantas de *D. insularis* e *E. heterophylla*. A barra de erros corresponde ao intervalo de confiança a 10%.

Estudo 2: Efeito dos tratamentos aplicados na taxa de transporte de elétrons (ETR)

Experimento 1

A aplicação de glufosinate de amônio proporcionou rápida redução na taxa de transporte de elétrons (ETR), independente da planta daninha utilizada. As plantas

daninhas *L. multiflorum*, *E. indica* e *E. heterophylla*, foram as espécies que mais rapidamente reduziram a ETR, em aproximadamente 50% apenas 72 MAA de glufosinate (Figura 4). Enquanto que, *I. grandifolia* e *D. insularis* apresentaram a mesma redução (50%) de ETR apenas 180 MAA de glufosinate, com máximo de redução de 73 e 70% de ETR, aos 480 MAA, respectivamente (Figura 4).

A maior redução de ETR (81, 80 e 81%,) foi observada em *L. multiflorum*, *E. indica* e *E. heterophylla*, respectivamente aos 480 MAA. Assim, a amônia não-assimilada pela GS, se associa rapidamente com a ruptura da estrutura do cloroplasto e indiretamente com a fase fotoquímica da fotossíntese ocasionando o bloqueio da cadeia de transporte de elétrons (DAYAN; ZACCARO 2012; TAN et al. 2006). Segundo Coetzer e Al-Khatib (2001), o glufosinate (410 g i.a. ha⁻¹) reduziu ligeiramente a taxa fotossintética, 30 min após a sua aplicação em plantas de *Amaranthus palmeri*. Estes mesmos autores ainda observaram que 6 horas após a aplicação do herbicida houve redução da taxa fotossintética acima de 63%. Assim, os resultados do presente trabalho, demonstram que a ETR pode ser utilizada para prever sintomas mesmo antes deles se tornarem visíveis, e de forma rápida e sem ser um método de análise destrutivo. Destaca-se ainda a importância da avaliação precoce da ETR para acompanhar a manifestação dos sintomas do glufosinate.

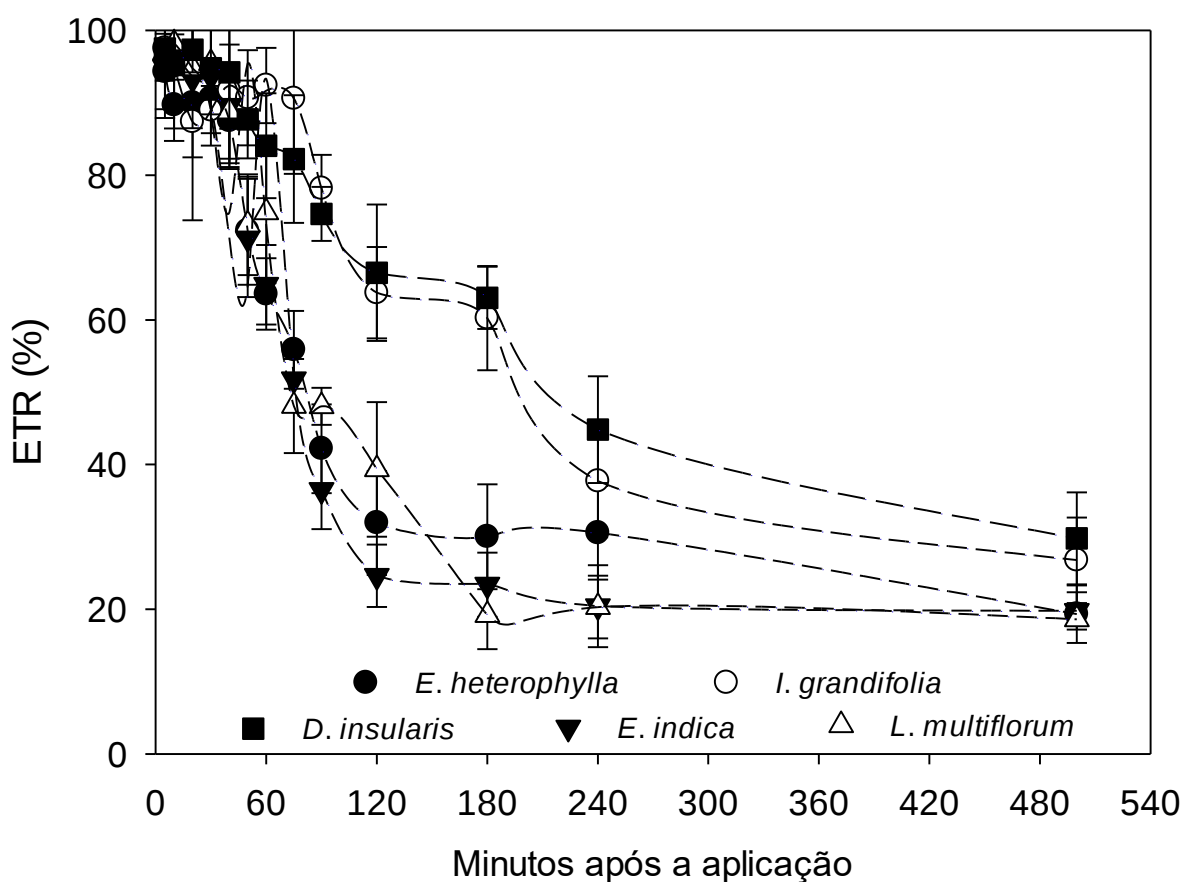


Figura 4. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função das doses de glufosinate (g i.a. ha⁻¹), nos períodos de avaliação (HAA) em plantas daninhas.

No experimento 2, a aplicação de glufosinate de amônio e glufosinato de potássio foi eficiente na redução da ETR, enquanto que o sulfato de amônia não reduziu a ETR de forma pronunciada em *D. insularis* e *E. heterophylla* (Figura 5).

Para reduzir 50% de ETR em *D. insularis*, foi necessário acima de 120 MAA. A maior redução observada foi de 76%, 720 MAA, independente do herbicida utilizado. Por outro lado, a aplicação de glufosinate de amônia em *E. heterophylla*, reduziu a ETR em mais de 50% apenas 50 MAA, enquanto que, houve a mesma redução de ETR com a aplicação de glufosinate de potássio acima de 90 MAA. A maior redução foi observada aos 720 MAA, aproximadamente 84% para ambos os herbicidas.

Carbonari et al. (2016), também observaram uma rápida redução de ETR após a aplicação de glufosinate de amônio em plantas de algodão. Assim, como Barberis

(2012), não verificou diferenças significativas em aplicação de glufosinate de amônio e glufosinate de potássio em plantas de soja. Isso pode ser explicado, devido ao herbicida glufosinate inibir a enzima GS e um dos efeitos secundários atuar no fluxo de elétrons do Fotossistema II, promovendo danos irreversíveis às plantas (SAUER et al. 1987; WILD et al. 1987).

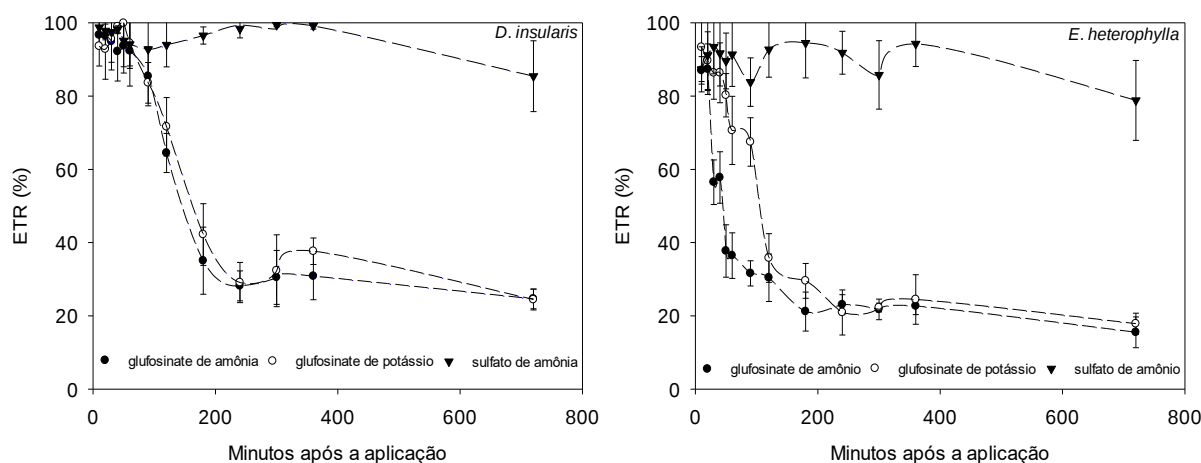


Figura 5. Valores de ETR em porcentagem em relação à testemunha em função da aplicação de diferentes formulações de glufosinato e sulfato de amônia, nos períodos de avaliação (MAA) em plantas de *D. insularis* e *E. heterophylla*.

Na Figura 2 observou-se que as plantas de *E. heterophylla* acumularam maior quantidade de amônia em relação às plantas de *D. insularis*, isso pode ser explicado pela maior sensibilidade de *E. heterophylla* ao herbicida desse mecanismo de ação e consequentemente maior eficiência em reduzir a ETR, como visto também com *E. heterophylla* na Figura 4.

3.4 Conclusões

O glufosinate aplicado às 19:30 h não proporcionou aumento no acúmulo de amônia em *Digitaria insularis*, *Lolium mutiflorum*, *Eleusine indica*, *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* mantidas no escuro após a aplicação.

As formulações de glufosinate de amônia e glufosinate de potássio foram eficientes em aumentar o acúmulo de amônia e reduzir a ETR em *Euphorbia heterophylla* e *Digitaria insularis* após a aplicação às 7:30 h. Por outro lado, a amônia

presente na formulação do glufosinate de amônia não interfere na quantificação de amônia no tecido vegetal.

Referências

- AVILA-GARCIA, W. V.; MALLORY-SMITH, C. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perene*) populations also exhibit resistance to glufosinate. **Weed Science**, v. 59, p. 305–309, 2011.
- BARBERIS, L. R. M. (2012). **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja**. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, p 66.
- BRITO, I. P. F. S.; MARCHESI, B. B.; PUCCI, C; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Variation in the Sensitivities of Hairy Beggarticks (*Bidens pilosa*) Plants and Their Progenies to Glufosinate Ammonium. **Weed Science**, v. 64, n. 4, p. 570-578, 2016.
- CÁNOVAS, F. M.; AVILA, C.; BOTELLA, J. R.; VALPUESTA, V.; CASTRO, I. N. Effect of light-dark transition on glutamine synthetase activity in tomato leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 66, p. 648-652, 1986.
- CARBONARI, C. A.; LATORRE, D. O.; GOMES, G. L. G. C.; VELINI, E. D.; OWENS, D. K.; PAN, Z.; DAYAN, F. E. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**, v. 243, p. 925–933, 2016.
- COETZER, E.; AL-KHATIB, K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in *Palmer amaranth* after glufosinate application. **Weed Science**, v. 49, p. 454-459, 2001.
- DAYAN F.E.; OWENS, D. K.; CORNIANI, N.; SILVA, F. M. L.; WATSON, S. B.; HOWELL, J.; SHANER, D. L.. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. **Weed Science**. v. 63, p. 23-63, 2015.
- DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural compounds as nextgeneration herbicides. **Plant Physiology**, v. 166, p. 1090–1105, 2014.

DAYAN, F. E.; ZACCARO, M. L. M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry Physiology**. v. 102, p. 189–197, 2012

DEVINE, M. D.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. **Inhibition of amino acid biosynthesis**. In Physiology of Herbicide Action. Englewood Cliffs, New Jersey, p. 252-263, 1993.

GIROTTTO, M.; ARALDI, R.; VELINI, E. D.; TRINDADE, M. L. B.; CARBONARI, C. A. Efeito do hexazinone isolado e em mistura na eficiência fotossintética de *Panicum maximum*. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 341-347, 2012

KLECZKOWSKI, L. A. Inhibitors of photosynthetic enzymes/carriers and metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 45, p. 339-367, 1993.

MITSCHERLICH, E. A. Das gesetz des minimums und das gesetz des abnehmenden bodenertrages. **Landwirtsch Jahrb**. v. 38, p. 537– 552, 1909.

MORAL, R. A.; HINDE, J.; DEMETRIO, C. G. B. (2016). hnp: **Half-Normal Plots with Simulation Envelopes**. R package version 1.2-2. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>

PETERSEN, J.; HURLE, K. Einsatz von Liberty zur Klettenlabkrautbekämpfung in glufosinat resistentem Winterraps. **Z PflKrankh PflSchutz**, v. 17, p. 389-396, 2000.

SAUER, H.; WILD, A.; RÜHLE, W. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis II. The causes of inhibition of photosynthesis. **Zeitschrift für Naturforschung**. 1987, 42, 270-278.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user's guide** (SAS Institute, 2006).

SELLERS, B. A.; SMEDA, R. J.; LI, J. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation is influenced by time of glufosinate application. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.78, n. 1, p.9–20, 2004.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, v. 30, p. 195–204, 2006.

WILD, A.; MANDERSCHIED, R. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. **Zeitschrift für Naturforsch.**, v. 39c, p. 500–504, 1984.

WILD, A.; SAUER, H.; RUBLE, W. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis. I. Inhibition of photosynthesis and accumulation of ammonia, **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 42, p. 263, 1987.

VELINI, E. D.; TRINDADE, M. L. B.; ALVES, E.; CATANEO, A. C.; MARINO, C. L.; MAIA, I. G.; MORI, E. S.; FURTADO, E. L.; GUERRINI, I. A.; WILCKEN, C. F. Eucalyptus ESTs corresponding to the enzyme glutamine synthetase and the protein D1, sites of action of herbicides that cause oxidative stress. **Genetics and Molecular Biology**, v. 28, p. 555– 561, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O glufosinate é um herbicida aplicado em pós-emergência, e a eficácia depende do seu comportamento desde o contato inicial até o sítio de ação e a inibição da glutamina sintetase (GS). A inibição da atividade GS ocasiona um rápido acúmulo de amônia na planta bem como à redução nos teores do aminoácido glutamina. Sendo assim, a quantificação de amônia é considerada um marcador bioquímico da inibição da GS. Por outro lado, a avaliação de taxa de transporte de elétrons (ETR) apresenta resultados inversamente proporcionais aos resultados de concentração de amônia na planta após a aplicação de glufosinate. Acredita-se que a avaliação de ETR seja uma importante ferramenta para caracterizar a inibição da GS por ser um método rápido e não destrutivo.

Os resultados encontrados no presente trabalho indicam que a aplicação diurna e noturna de glufosinate apresenta controle efetivo, independente do horário de aplicação e podem ser utilizadas para controlar tanto plantas daninhas monocotiledôneas quanto dicotiledôneas em estágio inicial. A aplicação diurna e noturna de glufosinate geram acúmulo de amônia diretamente proporcional à dose utilizada. Entretanto, plantas mantidas no escuro após a aplicação de glufosinate não apresentaram acúmulo de amônia. O acúmulo de amônia foi inversamente proporcional a ETR. Esta pesquisa sugere que a ETR tem potencial para ser utilizada na caracterização da inibição da GS, por apresentar resultados rápidos, além de indicar que o uso da ETR é um meio eficaz de avaliar a injúria após a aplicação de glufosinate.

REFERÊNCIAS

- BARBERIS, L. R. M. (2012). **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja**. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, p 66.
- BLANCO, H.G.; OLIVEIRA, D.A.; ARAUJO, J.B.M. GLASI, N. Observações sobre o período em que as plantas daninhas competem com a soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **O Biológico**, v.39, n.2, p.31-35, 1973
- BRUNHARO, C. A. C. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. Aspectos do mecanismo de ação do amônio glufosinato: culturas resistentes e resistência de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.13, n.2, p.163-177, 2014
- CARBONARI, C. A.; LATORRE, D. O.; GOMES, G. L. G. C.; VELINI, E. D.; OWENS, D. K.; PAN, Z.; DAYAN, F. E. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**, v. 243, p. 925–933, 2016.
- COETZER, E.; AL-KHATIB, K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in *Palmer amaranth* after glufosinate application. **Weed Science**, v. 49, p. 454-459, 2001.
- DAYAN, F. E.; DUKE S. O; Natural compounds as next generation herbicides. **Plant Physiology**, v. 166, p. 1090–1105, 2014.
- DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. Physiology of herbicide action. Englewood Cliffs: PTR Prentice Hall: Englewood Cliffs, New Jersey, 1993, 1, 441 pp.
- DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Modes of action of microbially-produced phytotoxins. **Toxins**. v.3, p. 1038-1064, 2011.

EVERMAN, W. et al. Absorption, translocation, and metabolism of ^{14}C glufosinate in glufosinate-resistant corn, goosegrass (*Eleusine indica*), large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*), and sickpod (*Senna obtusifolia*). **Weed Science**, v.57, n.1, p.1-5, 2009a.

EVERMAN, W.J. et al. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in transgenic and nontransgenic cotton, palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*), and pitted morninglory (*Ipomoea lacunosa*). **Weed Science**, v.57, n.4, p.257-361, 2009b.

FLECK N. G. RIZZARDI, M. A.; NEVES, R.; AGOSTINETTO, D. Ação dos herbicidas atrazine e glufosinate de amônio no aproveitamento de nitrogênio pelas plantas de milho. **Planta Daninha**. v. 19, p. 235-45, 2001.

GIROTTTO, M.; ARALDI, R.; VELINI, E. D.; TRINDADE, M. L. B.; CARBONARI, C. A. Efeito do hexazinone isolado e em mistura na eficiência fotossintética de *Panicum maximum*. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 341-347, 2012

GOMES JR., F. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Biologia e manejo de plantas daninhas em áreas de plantio direto. **Planta Daninha**, v. 26, n. 4, p. 789-798, 2008

HSU, F.C.; KLEIER, D.A. Phloem mobility of xenobiotics. III. Sensitivity of unified model to plant parameters and application to patented chemical hybridizing agents. **Weed Science**, v.38, n.3, p.315-322, 1990.

IRELAND, R. J.; LEA, P. J. (1999). **The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine, and aspartate metabolism**. Pages 49–110 in SinghBK, ed. Plant Amino Acids. New York: Marcel Dekker

JAKELAITIS, A.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. F.; FREITAS, F. C. L. Manejo de plantas daninhas no consórcio de milho com capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*). **Planta Daninha**, MG, v. 22, n. 4, p. 553-560, 2004.

KARAM, D.; MELHORANÇA, A. L. **Cultivo do milho**: plantas daninhas na cultura do milho. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2002. 10 p. (Comunicado técnico, 58)

KLEIER, D.A. Phloem mobility of xenobiotics: I. Mathematical model unifying the weak acid and intermediate permeability theories. **Plant Physiology**, v.86, n.3, p.803-810, 1988.

KÖCHER, H. Influence of the light factor on physiological effects of the herbicide HOE 39866, **Annals Applied Biology**, v. 4, p. 227, 1983.

LACUESTA, M. MUNOZ-RUEDA, A.; GONZALEZ-MURUA, C.; SIVAK, M. N. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and chlorophyll fluorescence by barley leaves illuminated under photorespiratory and nonphotorespiratory conditions. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 43, p. 159-165, 1992.

LORENZI, H. 1990. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: Plantio direto e convencional**. 3ª ed. Plantarum, Nova Odessa, Brasil, 269pp

OERKE, E. C. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, v. 144, n. 1, p. 31–43, 2006.

PITELLI, R. A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. Inf. Agropec., v. 11, n. 129, p. 16-27, 1985.

RADOSEVICH, S. R.; HOLT, J.; GHERSA, C. Physiological aspects of competition. In: **Weed ecology: Implication for managements**. New York: John Willey & Sons, 1996. p. 217-301.

REDDY KN, ZABLOTOWICZ RM, BELLALLOUI N, DING W. Glufosinate effects on nitrogen nutrition, growth, yield, and seed composition in glufosinate-resistant and glufosinate-sensitive soybean. **International Journal of Agronomy**, 2011.

SELLERS, B. A.; SMEDA, R. J.; LI, J. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation is influenced by time of glufosinate application. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.78, n. 1, p.9–20, 2004.

SENSEMAN, S. A. (2007) **Herbicide Handbook**. 9th ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America. 458 p

SHELP, B.J.; SWANTON, C.J.; HALL, J.C. Glufosinate (phosphinothricin) mobility in young soybean shoots. **Journal of Plant Physiology**, v.139, n.1, p.626-628, 1992.

ULLRICH, W.R.; ULLRICH-EBERIUS, C.I.; KOCHER, H. Uptake of glufosinate and contaminant membrane potential changes in *Lemna gibba* G1. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.37, n.1, p.1-11, 1990

VASCONCELOS, M. C. C.; SILVA, A. F. A.; LIMA, R. S. Interferência de Plantas Daninhas sobre Plantas Cultivadas. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.8, n.1, p.01-06, 2012.

WILD, A.; WENDLER, C. Inhibitory action of glufosinate on photosynthesis. **Z Naturforsch**, v. 48. p. 369–373, 1993.

WILD, A.; MANDERSCHIED, R. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. **Z. Naturforsch.**, v. 39c, p. 500–504, 1984.