

## EFEITO DA APLICAÇÃO DE CLOMAZONE E SAFLUFENACIL NA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA DE *Alternanthera tenella*

DIESEL, F.<sup>1</sup>, SEBIM, D. E.<sup>2,3</sup>, PASSOS, A. I.<sup>3</sup>, PAZUCH, D.<sup>3</sup>, MARCHESI A. J.<sup>1</sup>, TREZZI, M. M.<sup>1</sup>, CAPELIN, D.<sup>3</sup>, HASSE, B.<sup>1</sup>.

**RESUMO:** A análise da fluorescência da clorofila vem sendo amplamente aplicada para elucidar os danos acarretados pela aplicação de herbicidas causadores de estresse oxidativo aos fotossistemas. O objetivo deste trabalho foi verificar se a combinação de herbicidas causadores de estresse oxidativo com diferentes mecanismos de ação influenciam na fluorescência da clorofila de *Alternanthera tenella*. O experimento foi conduzido em vasos acondicionados em estufa, com delineamento inteiramente casualizado e três repetições. Totalizando-se 18 tratamentos representados pelo uso de Saflufenacil (0; 3,5; 7; 10,5; 14; 17,5 g i.a. ha<sup>-1</sup> isolado ou em mistura Clomazone (0, 288 e 388,8 g i.a. ha<sup>-1</sup>). Foram analisadas as variáveis fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ) e a relação entre fluorescência variável e máxima ( $F_v/F_m$ ). O herbicida Clomazone isolado não apresentou efeito satisfatório sobre a espécie em questão, nas 3 doses testadas. O Saflufenacil, mesmo quando aplicado nas menores doses causou fortes danos à planta, similares aos observados nas maiores doses.

**Palavras-chave:** apaga-fogo, herbicida, rendimento quântico.

### INTRODUÇÃO

A *Alternanthera tenella* pertence à família Amaranthaceae, conhecida popularmente como apaga-fogo, perpétua-do-campo ou manjeriço. É uma planta daninha perene que está disseminada em todo o território brasileiro, infestando principalmente lavouras e pastagens pela formação de colônias (MOREIRA; BRAGANÇA, 2010). A presença da espécie acarreta perdas de qualidade e produtividade das culturas (VIDAL *et al.*, 2001).

No processo da fotossíntese, os carotenóides têm a função de dissipar o excesso de energia da clorofila na forma de calor e evitar a formação de clorofila tripleto (3Chl). O herbicida Clomazone age inibindo a síntese de carotenóides, com posterior estresse oxidativo, que destrói as membranas das células levando as plantas à morte (KRUSE, 2001).

O Saflufenacil é um herbicida inibidor da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), esta enzima cataliza a última etapa da biossíntese do grupo heme da clorofila. A inibição desta enzima causa dessecação rápida das folhas da planta na presença de luz, pois ocorre o acúmulo da protoporfirina IX nas células das plantas tratadas. Este acúmulo descontrolado e a presença de luz e oxigênio produz a forma reativa deste elemento ( $O_2^-$ ), com consequente

<sup>1</sup> PPGA – UTFPR, Pato Branco/PR

<sup>2</sup> UTFPR, Pato Branco/PR

<sup>3</sup> djuniorsebim@hotmail.com

peroxidação dos lipídios da membrana celular, e outros sintomas como o encarquilhamento, a clorose e a necrose foliar (DAYAN; WATSON, 2011).

Esses herbicidas, com capacidade de gerar estresse oxidativo, podem levar à supressão do desenvolvimento ou morte das plantas. O estresse oxidativo em plantas causa danos às células através da produção de EROs (espécies de oxigênio reativo), ou seja, uma molécula de oxigênio em seu estado diatômico ( $O_2$ ), que aceita um elétron, formando o superóxido  $O_2^-$ , que é a primeira espécie de oxigênio reativo (EROs) formado. Como processo mitigador desta ação, as plantas produzem as enzimas catalase, superóxido dismutase e peroxidase, que convertem as EROs em moléculas não tóxicas como a água (MORI; SCHROEDER, 2004).

Para estudar a alteração na capacidade fotossintética causada pelo uso de herbicidas, são utilizados equipamentos que fazem mensurações que variam desde a rápida identificação de injúrias causadas ao aparelho fotossintético, mesmo com sintomas não visíveis, até análises que envolvem, principalmente, a fluorescência da clorofila, trocas gasosas nas plantas, teor de clorofila e taxa de transporte de elétrons (GIROTTO *et al.*, 2010). A análise da fluorescência da clorofila vem se tornando uma importante ferramenta no entendimento dos mecanismos da fotossíntese e capacidade fotossintética em função da aplicação de herbicidas (IRELAND *et al.*, 1986).

O objetivo deste trabalho foi verificar se a combinação de herbicidas causadores de estresse oxidativo com diferentes mecanismos de ação influenciam na fluorescência da clorofila de *Alternanthera tenella*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em vasos com capacidade de 9 litros, acondicionados em estufa. Foi utilizado Latossolo Vermelho, coletado na Área Experimental do câmpus Pato Branco da UTFPR, peneirado e depositado nos vasos. O delineamento experimental foi completamente casualizado, com três repetições, totalizando 18 tratamentos representados pelo uso de Saflufenacil (0; 3,5; 7; 10,5; 14; 17,5 g i.a.  $ha^{-1}$ ) isolado ou em mistura com Clomazone (média dos tratamentos com 0, 288 e 388,8 g i.a.  $ha^{-1}$ ). Foi adicionado o óleo mineral a 0,5%. Sementes de apaga-fogo foram semeadas no dia 26/09/2011, e após foi realizado um desbaste deixando 8 plantas por vaso. Quando as plantas estavam com aproximadamente cinco folhas completamente expandidas, foram aplicados os tratamentos herbicidas. Na aplicação dos herbicidas utilizou-se pulverizador pressurizado a  $CO_2$ , munido de dois bicos tipo leque 110 03, utilizando-se volume de calda de 200 L  $ha^{-1}$ . A aspersão foi efetuada no dia 31/10/2011 às 21 horas em ausência de vento, com temperatura média de 16,2°C e 62,5% de umidade relativa do ar.

A fluorescência foi determinada em folhas completamente expandidas nos horários 0, 10, 16, 22, 48, 72 e 96 horas após aplicação, através de um sistema aberto de medição de trocas gasosas equipado com um analisador infravermelho de gases (IRGA – *Infra-red Gas Analyzer*) modelo LI-6400XT (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA), acoplado a uma câmara de fluorescência para folhas modelo 6400-40 (LI-COR, Lincoln, Nebraska – USA), com área de 2 cm<sup>2</sup>.

A folha para realização da avaliação da fluorescência foi adaptada ao escuro por 20 minutos (fluorescência com todos os aceptores do FSII “abertos”; quinona – Qa – totalmente oxidada), a fim de determinar a fluorescência inicial da clorofila (F<sub>0</sub>). Com a folha ainda adaptada ao escuro foi obtida a fluorescência máxima da clorofila (F<sub>m</sub>) através da aplicação de um flash de saturação de ~7900 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, por aproximadamente 0,8 segundos, de modo que todos os aceptores do FS II fossem “fechados” (Qa totalmente reduzida). A fluorescência variável (F<sub>v</sub>) foi dada pela diferença entre a fluorescência máxima e a mínima (F<sub>v</sub> = F<sub>m</sub> - F<sub>0</sub>). O máximo rendimento quântico do FS II foi dado pela relação F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo esquema fatorial triplo, probabilidade p<0,05, utilizando o pacote estatístico ASSISTAT (SILVA, 2012), e aplicado teste Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> e F<sub>m</sub>, todos os tratamentos se ajustaram à equações cúbicas, apresentadas na Tabela 1, exceto para a dose zero de Saflufenacil e o tratamento Clomazone, que não apresentaram diferenças durante todo o tempo analisado após a aplicação. Em ambas as variáveis não foi observada interação entre os três fatores.

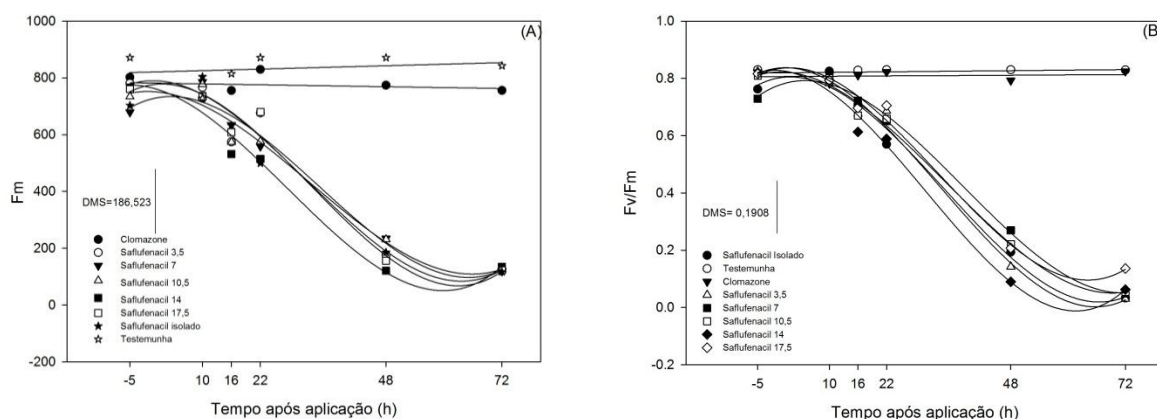
**Tabela 1.** Equações de regressão obtidas nas respostas às doses de Saflufenacil e Clomazone das F<sub>m</sub> (fluorescência máxima) e F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> (rendimento quântico) em plantas de *Alternanthera tenella*. UTFPR, 2012.

Doses (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	F <sub>m</sub>		F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	
<sup>1</sup> Sem Saflufenacil/ com Clomazone	y= 781,2499 - 0,2599.x	(ns)	y= 0,8065 + 9,2373E-5.x	(ns)
Saflufenacil isolado	y= 748,2310 + 1,7732.x - 0,5866.x <sup>2</sup> + 0,0061.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,96*	y= 0,8030 + 0,0021.x - 0,0006.x <sup>2</sup> + 5,816E-6.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Saflufenacil 3,5	y= 789,8224 - 0,2155.x - 0,5172.x <sup>2</sup> + 0,0054.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,95*	y= 0,8370 + 0,0009.x - 0,0006.x <sup>2</sup> + 6,090E-6.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Saflufenacil 7	y= 727,6538 + 3,7479.x - 0,5621.x <sup>2</sup> + 0,0055.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,97*	y= 0,7792 + 0,0054.x - 0,0006.x <sup>2</sup> - 5,093E-6.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Saflufenacil 10,5	y= 751,1210 - 1,0921.x - 0,4115.x <sup>2</sup> + 0,0043.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,97*	y= 0,8222 - 0,0003.x - 0,0005.x <sup>2</sup> + 4,5885E-6.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Saflufenacil 14	y= 762,6300 - 4,6956.x - 0,4319.x <sup>2</sup> + 0,0053.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,98*	y= 0,8269 - 0,0056.x - 0,0018.x <sup>2</sup> + 6,672E-6.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Saflufenacil 17,5	y= 789,8244 - 0,2155.x - 0,5172.x <sup>2</sup> + 0,0054.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,95*	y= 0,8354 + 0,0020.x - 0,0006.x <sup>2</sup> + 6,075E-5.x <sup>3</sup>	R <sup>2</sup> =0,99*
Testemunha (H <sub>2</sub> O)	y=820,7586 + 0,4551.x	(ns)	y=0,8194 + 0,0002.x	(ns)

<sup>1</sup>médias de 3 doses de Clomazone (0, 288 e 388,8 g i.a. ha<sup>-1</sup>) sem Saflufenacil; (ns) não significativo; \* significativo a 5% de probabilidade de erro.

A variável F<sub>0</sub> apresentou regressão significativa apenas para o fator tempo após aplicação. No entanto, observou-se que os tratamentos que só continham Clomazone e a

testemunha, apresentaram comportamento linear e constante ( $F_o$  variando entre 131 e 157). Os tratamentos que continham Saflufenacil apresentaram comportamento cúbico ( $F_o = 177$ ), com seu pico de  $F_o$  16 horas após a aplicação, e seu mínimo de  $F_o$  72 horas após a aplicação ( $F_o = 114$ ). A elevação da  $F_o$  observada nas primeiras horas após a aplicação é um indicativo de danos estruturais nos centros de reação do Fotossistema II ou comprometimento no transporte de energia de excitação dos complexos antena para os centros de reação (BOLHÀR-NORDENKAMPF *et al.*, 1989).



**Figura 1.** Variações na  $F_m$  (A) e  $F_v/F_m$  (B) de plantas de *Alternanthera tenella* tratadas com Saflufenacil e Clomazone [médias de 3 doses de Clomazone (0, 288 e 388,8 g i.a. ha<sup>-1</sup>) sem Saflufenacil]. UTFPR, 2012.

A  $F_v/F_m$  é um importante parâmetro a ser avaliado para a determinação da eficiência de herbicidas que afetam a fotossíntese. Ele indica o quanto da totalidade de energia luminosa recebida está sendo utilizado na fotossíntese. Plantas com valores de  $F_v/F_m$  inferiores a 0,8 são consideradas não saudáveis e com problemas nos transportadores de elétrons nas membranas dos cloroplastos.

Os resultados obtidos para a variável  $F_v/F_m$  indicam que o Clomazone isolado possui uma baixa ação herbicida sobre *Alternanthera tenella*, considerando as doses testadas. Essa molécula não apresentou eficiente ação herbicida sobre a espécie em questão quando aplicado juntamente com o Saflufenacil. A baixa ação herbicida da associação é mostrada na Figura 1 (A), onde 48 horas após a aplicação os valores de  $F_v/F_m$  já eram em torno de 0,19 para o Saflufenacil isolado. Isso ocorreu devido à ação do Saflufenacil na PROTOX, impedindo a síntese de clorofilas e liberando para o citoplasma o protoporfirina IX, que, na presença de luz e oxigênio, produz a forma reativa do oxigênio, com consequente peroxidação dos lipídios, dentre os quais a clorofila e os carotenóides, fundamentais no processo fotossintético (DAYAN; WATSON, 2011).

A Figura 1 (B) destaca que o decréscimo no  $F_v/F_m$  se deve principalmente ao decréscimo na  $F_m$ , condicionado por alterações estruturais nos lipídeos envolvidos no

transporte de energia da fotossíntese devido a presença de espécies reativas de oxigênio na célula.

Para todos os tratamentos as variáveis  $F_m$  e  $F_v/F_m$  não mudaram nas primeiras 10 horas após a aplicação. Devido a aplicação dos herbicidas ter sido feita no escuro, e como ambos possuem ação dependente da fotossíntese, seu efeito só foi observado no dia seguinte, em torno de 12 horas após a aplicação, quando a PAR tornou-se elevada. Assim, o real efeito dos herbicidas apenas foi observado na leitura de 16 horas após a aplicação.

## CONCLUSÕES

O uso isolado do Clomazone não apresentou efeito satisfatório sobre *Alternanthera tenella*. O uso da associação Clomazone e Saflufenacil apresentou o mesmo resultado que o Saflufenacil isolado no controle da espécie em questão. Assim, o Saflufenacil isoladamente foi o responsável por este comportamento, demonstrando que a associação Saflufenacil e Clomazone não se justifica. As menores doses de Saflufenacil apresentaram efeitos similares a todas as demais doses, logo, o uso do Saflufenacil como método de controle da espécie em questão carece de mais estudo, para que se possa encontrar a dose adequada e os pontos de máxima eficiência técnica e econômica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LONG, S.P.; BAKER, N.R.; OQUIST, G.; SCHREIBERS, U.; LECHNER, E.G. **Functional Ecology**, v. 3, 497 p., 1989.
- DAYAN, FRANCK E. and WATSON, SUSAN B. Plant cell membrane as a marker for light-dependent and light-independent herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 101 p.182–190, 2011.
- FERREIRA, FRANCISCO A.; SILVA, ANTÔNIO A.; FERREIRA, LINO R. Mecanismos de ação de herbicidas. In: V Congresso Brasileiro de algodão. Salvador-BA, Ago./Set., 2005.
- GIROTTO M. et al., Eficiência fotossintética da cana-de-açúcar após a aplicação dos herbicidas S-metolachlor e atrazine em pós-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.9, n.3, p.109-116, 2010.
- GROSSMANN, K.; HUTZLER J., CASPAR, G. KWIATKOWSKI, J. AND BROMMER, C.L. Saflufenacil (Kixor™): Biokinetic Properties and Mechanism of Selectivity of a New Protoporphyrinogen IX Oxidase Inhibiting Herbicide. **Weed Science**, v.59 p.290–298, 2011.
- IRELAND, C.R.; PERCIVAL, M.P.; BAKER, N.R. Modification of the induction of photosynthesis in wheat by glyphosate, an inhibitor of amino acid metabolism. **Journal Experimental Botanic**, v.37, n.1, p.299-308, 1986.
- KRUSE, N.D. et al. Sinergismo potencial entre herbicidas inibidores do Fotossistema II e da síntese de carotenoides. **Ciência Rural**, v.31, n.4, p.569-575, 2001.
- MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas daninhas infestantes** - cultivos de verão. Campinas – SP. 2010.
- MORI, I. C.; SCHROEDER, I. J. Reactive oxygen species activation of plant Ca<sup>2+</sup> channels. a signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. **Plant Physiology**, v.135, p.702–708, 2004.
- SILVA, F. A. S. **Sistema de Assistência Estatística (ASSISTAT 7.6 beta 2012)**. Departamento de Engenharia Agrícola (DEAG) do CTRN da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campina Grande - PB.
- VIDAL, R. A. et al. **Herbicidologia**. Porto Alegre, 1 ed., 152 p., 2001.