

**SELETIVIDADE DE HERBICIDAS AO MILHO PIPOCA E EFICIÊNCIA  
NO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS**

**LEONARDO LENIN MARQUES DE BRITO**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2017**

SELETIVIDADE DE HERBICIDAS AO MILHO PIPOCA E EFICIÊNCIA  
NO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

**LEONARDO LENIN MARQUES DE BRITO**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

**Orientador: Prof. Dr. Silvério de Paiva Freitas**

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
MARÇO – 2017

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF**

044/2017

B862 Brito, Leonardo Lenin Marques de.

Seletividade de herbicidas ao milho pipoca e eficiência no controle de plantas daninhas / Leonardo Lenin Marques de Brito. – Campos dos Goytacazes, RJ, 2017.

84 f. : il.

Bibliografia: f. 60 - 73

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2017.

Orientador: Silvério de Paiva Freitas.

1. Seletividade de Herbicida. 2. Manejo. 3. Fitotoxidez 4. Milho Pipoca – Produtividade. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD – 633.152

SELETIVIDADE DE HERBICIDAS AO MILHO PIPOCA E EFICIÊNCIA  
NO CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS

**LEONARDO LENIN MARQUES DE BRITO**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

Aprovada em 24 de março de 2017.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Vanildo Silveira (D.Sc. Biotecnologia/Proteomica) – UENF

---

Prof. Silvio Jesus de Freitas (D.Sc. Produção Vegetal) – UENF

---

Prof. Reynaldo Tancredo Amim (D.Sc. Produção Vegetal) – IFF – *Campus*  
Cambuci

---

Prof. Silvério de Paiva Freitas (D.Sc. Fitotecnia) – UENF (Orientador)

À minha família, em especial aos meus pais: Roberto de Brito e Margarida Maria Marques de Brito, e meus irmãos: Ranieri Marques de Brito e Maxwell Marques de Brito, que apesar de todas as dificuldades, sempre me apoiaram nas minhas escolhas e pelo exemplo de vida, no qual influenciou minha formação como pessoa e profissional.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por iluminar sempre meu caminho, abençoando minhas escolhas.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF – pela oportunidade de fazer parte do programa de pós-graduação em Produção Vegetal e à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor e orientador Silvério de Paiva Freitas, os meus especiais agradecimentos pelos ensinamentos, confiança, conselhos e apoio, que me permitiram idealizar esse trabalho.

Aos membros da banca examinadora, o Prof. D.Sc. Vanildo Silveira, Prof. D.Sc. Reynaldo Tancredo Amin e Prof. D. Sc. Sílvio Jesus Freitas, pelas valiosas contribuições para melhoria desse trabalho.

Aos amigos e amigas: Deise Malcher, Rosana Lelis, Marcela Alfaeite, Tamara Locatelli, Patrícia Carvalho, Yure de Souza, Antônio André, Cássio Vittorazzi, Jânio Eustáquio, Weverton Rodrigues, Wallace Bernardo, Pedro Diniz, Herval Paes, Ismael Freitas, Wanderson Costa, Arthur Leite, pela inestimável ajuda na realização e conclusão desse trabalho.

Ao laboratório de Biotecnologia-UENF, pela paciência, disposição e apoio na pesquisa com relação às proteínas.

Ao IFF – Campus Cambuci, pela contribuição no desenvolvimento desse trabalho e especialmente ao professor Reynaldo, que esteve presente em vários momentos na época do experimento.

A todos que, direta e indiretamente, contribuíram para conclusão desse trabalho.

## SUMÁRIO

	RESUMO .....	vi
	ABSTRACT .....	viii
1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	4
	2.1 Cultura do Milho Pipoca ( <i>Zea mays</i> L.) .....	4
	2.2 Plantas Daninhas .....	5
	2.3 Controle Químico e Seletividade .....	8
	2.4 Metabolismo Fotossintético.....	12
	2.5 Fluorescência da Clorofila <i>a</i> Como Indicador de Estresse em Plantas.....	13
	2.6 Proteômica .....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
	4.1 Fatores de Produção do Milho Pipoca .....	28
	4.2 Componentes Fisiológico do Milho Pipoca: Fluorescência da Clorofila.....	34
	4.3 Levantamento Fitossociológico na Cultura do Milho Pipoca.....	38
	4.4 Componentes Fisiológico do Milho Pipoca: Fluorescência da Clorofila (Casa de vegetação).....	45
	4.5 Quantificação por espectrometria de massa e efeitos do mesotrione + atrazina na expressão de proteínas envolvido na fotossíntese em plantas de milho pipoca:	50
5	RESUMO E CONCLUSÕES .....	57
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60



## RESUMO

BRITO, LEONARDO LENIN MARQUES DE; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março, 2017. Seletividade de herbicidas ao milho pipoca e eficiência no controle de plantas daninhas. Orientador: Prof. Dr. Silvério de Paiva Freitas.

O objetivo do trabalho foi avaliar a influência de seis manejos de plantas daninhas e o efeito de herbicidas pós-emergentes na cultura do milho pipoca. Foram conduzidos dois experimentos, no campo e na casa de vegetação, na região Norte Fluminense-RJ. No primeiro experimento realizado no IFF – *Campus Cambuci*, foi adotado o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições e os tratamentos foram compostos por seis tipos de manejos de plantas daninhas (capinado; sem capina; mesotrione + atrazine ( $192 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.} + 1200 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); mesotrione ( $192 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); nicosulfuron + atrazine ( $60 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.} + 1200 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); nicosulfuron ( $60 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ). As seguintes características foram avaliadas: a) altura média de plantas (AP); b) altura média de inserção da primeira espiga (AE); c) diâmetro de colmo (DC); d) número de fileira de grãos (NFG); e) número de grãos por fileira (NGF); f) massa de espiga (ME); g) comprimento de espiga (CESP); h) diâmetro de espiga (DE); i) massa de cem grãos (M100); j) capacidade de expansão (CE); l) rendimento de grãos (RG) e o levantamento fitossociológico. No segundo experimento, foi adotado o delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições e os tratamentos foram compostos por sem herbicida e com herbicida mesotrione + atrazine ( $192 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.} + 1200 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ). Ainda no segundo experimento, o tratamento que melhor respondeu ao controle de plantas daninhas do campo foi repetido na casa de vegetação com análises fisiológicas, apresentando o mal funcionamento do fotossistema II e proteômicas com

identificação de proteínas relacionadas a processos metabólicos, sendo mais abundante a sub expressa com o efeito do herbicida. Os herbicidas utilizados foram seletivos ao genótipo UENF-14. O manejo que proporcionou melhor controle de plantas daninhas foi o herbicida mesotrione + atrazina. Todos os herbicidas causaram efeitos no aparelho fotossintético, os quais sumiram aos 14 dias após aplicação. Nas parcelas estudadas, as plantas daninhas que apresentaram maiores índices de valores de importância foram o capim colônia (*Panicum maximum*) e tiririca (*Cyperus rotundus L.*).

**Palavras chaves:** seletividade, manejo, fitotoxidez, produtividade.

## ABSTRACT

BRITO, LEONARDO LENIN MARQUES DE; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março 2017. Selectivity of herbicides to popcorn maize and efficiency in weed control. Adviser: Prof. Dr. Silvério de Paiva Freitas.

The objective of this work was to evaluate the influence of six weed management and the effect of post-emergence herbicides on popcorn. Two experiments were conducted in the field and in the greenhouse, in the North Fluminense region (RJ). In the first experiment conducted at the IFF - Campus Cambuci, a randomized block design with four replications was used and the treatments were composed of six types of weed management (weeding, no weeding, mesotrione + atrazine (192 g ha<sup>-1</sup> + (60 g ha<sup>-1</sup> ia), mesotrione (192 g ha<sup>-1</sup> ia), nicosulfuron + atrazine (60 g ha<sup>-1</sup> ia + 1200 g ha<sup>-1</sup> ia), nicosulfuron. Were evaluated: a) mean plant height (AP); B) average insertion height of the first spigot (AE); C) stem diameter (DC); D) row number of grains (NFG); E) number of grains per row (NGF); F) ear mass (ME); G) spigot length (CESP); H) ear diameter (DE); (I) one hundred grain mass (M100); J) expansion capacity (CE); L) grain yield (GR) and the phytosociological survey. In the second experiment, the design was completely randomized with four replicates and the treatments were composed of no herbicide and herbicide mesotrione + atrazine (192 g ha<sup>-1</sup> i.a. + 1200 g ha<sup>-1</sup> i.a.). Still in the second experiment, the treatment that best responded to the weed control of the field was repeated in the greenhouse with physiological analyzes showing the malfunction of photosystem II and proteomics with identification of proteins related to metabolic processes, being more abundant the sub expressed. With the effect of the herbicide. The herbicides used were selective to UENF-14 genotype. The

management that provided better control of weeds was the herbicide mesotrione + atrazine. All herbicides caused effects on the photosynthetic apparatus, which disappeared at 14 days after application. In the studied plots weeds with the highest values of importance values were the colonized grass (*Panicum maximum*) and tiririca (*Cyperus rotundus L.*) grass.

**Keywords:** selectivity, management, phytotoxicity, productivity.

## 1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca é uma cultura de alto valor econômico e, atualmente, com o aprimoramento e popularização de máquinas elétricas e fornos de micro-ondas para o pipocamento, houve aumentos crescentes na produção e consumo deste alimento (Silva et al., 2013).

O plantio comercial de milho-pipoca era considerado modesto para atender ao consumo nacional; os grãos são importados, sobretudo dos Estados Unidos da América e da Argentina (Freitas Júnior et al., 2009). Entretanto, mudanças no mercado têm ocorrido e com o uso em larga escala de híbridos nacionais e norte-americanos, a importação de grãos teve grande redução (Rangel et al., 2008).

De acordo com o Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias (GCEA/IBGE, 2015), a produção nacional de milho-pipoca em 2015 foi de 163.000 toneladas, sendo esta produção concentrada principalmente na região de Mato Grosso, responsável por cerca de 92% da produção, onde as grandes empresas empacotadoras disponibilizam as sementes e garantem a compra da safra.

A comercialização dos grãos de milho-pipoca é feita por peso e uma proporção do produto final é vendida pelo volume (pipoca). Dessa forma, a capacidade de expansão (CE) da pipoca é um dos fatores mais importantes quando se faz referência à sua qualidade (Ribeiro et al., 2012).

As plantas daninhas podem causar perdas na produtividade, variando de 10 a mais de 80% em função da espécie competidora, do grau de infestação, do

período de convivência, bem como do estágio de desenvolvimento da cultura e das condições climáticas durante a convivência (Silva, 2007). Contudo, o manejo de plantas daninhas é de fundamental importância para que se tenha bons rendimentos, sendo o controle químico uma boa alternativa, devido a sua alta eficácia, rapidez de controle e menor demanda de mão-de-obra.

Na cultura do milho-pipoca, as medidas de manejos de plantas daninhas adotadas se restringem, na maioria dos casos, ao uso de herbicidas associados a outros métodos de controle (Sawazaki, 2001). O uso de herbicidas por ser mais rápido e econômico é uma maneira de o produtor alocar melhor a mão-de-obra na propriedade em outras atividades, além de aumentar a eficácia do programa de manejo de plantas daninhas. Herbicidas seletivos registrados para milho comum são usados por muitos agricultores, e muitas das vezes não são seletivos a algumas variedades de milho-pipoca. Isso ocorre devido à falta de informação sobre herbicidas seletivos para a cultura.

A adoção das mesmas práticas de manejo de plantas daninhas recomendadas para milho comum pode levar os produtores de milho-pipoca a terem prejuízos, pois essas práticas nem sempre são apropriadas à cultura, uma vez que a tolerância e a capacidade competitiva das plantas de milho-pipoca podem ser diferentes das de genótipos de milho comum (Jakelaitis et al., 2005).

Por até algum tempo atrás no país, a cultura não era tão explorada por isso, ainda são precárias as informações existentes sobre o manejo da cultura do milho-pipoca no Brasil. Pelo fato de se ter bastantes pesquisas para o milho comum, as técnicas de manejos utilizadas muitas vezes são adaptadas à cultura do milho-pipoca (Cruz et al., 2004). Assim, fica evidente a necessidade de pesquisas específicas para se definir os herbicidas que melhor se adequam ao controle de plantas daninhas na cultura do milho-pipoca.

A base para o sucesso do controle químico das plantas daninhas na produção agrícola é a seletividade dos herbicidas que pode ser definida como a medida na resposta diferencial das espécies de plantas à aplicação de uma determinada molécula (Oliveira Júnior, 2001). O metabolismo diferencial de herbicidas em plantas destaca-se como um dos mais importantes fatores de seletividade relacionados às características diretas ou indiretamente das plantas (Cole, 1994). A adição de adjuvantes, nutrientes, inseticidas ou outros herbicidas à calda, do herbicida, pode modificar a capacidade da planta em tolerá-lo ou não,

tendo por consequência a perda da seletividade ou da eficácia no controle das plantas daninhas (Gassen, 2002).

De modo geral, em virtude das similaridades morfológicas e fisiológicas entre a cultura e as plantas daninhas, a aplicação de herbicidas em plantas cultivadas pode ou não promover sintomas visuais de intoxicação, sendo este, na determinação da seletividade o primeiro parâmetro avaliado. Entretanto, a ocorrência desses sintomas, caracterizados por injúrias foliares e paralisação de crescimento; não evoluírem provocando a morte dos indivíduos afetados, são considerados de pequena relevância, se analisados de forma isolada (Terra, 2003).

Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos manejos de plantas daninhas com os herbicidas pós-emergentes atrazina, mesotrione e nicosulfuron em campo, no desenvolvimento da variedade UENF-14 de milho-pipoca e no controle das plantas daninhas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultura do Milho Pipoca (*Zea mays* L.)

O milho-pipoca, assim como o milho comum, pertence à espécie *Zea mays* L., à família Poaceae, sub-família Panicoideae, tribo Maydeae. Quando comparado ao milho comum, apresenta em geral grãos menores, maior prolificidade, menor vigor e maior susceptibilidade à doenças. Todavia, a capacidade de se expandir é a principal diferença entre os tipos pipoca e comum. Tais plantas possuem geralmente um sistema radicular fasciculado e superficial, o que lhes confere pouca tolerância à seca e maiores cuidados ao se fazer manejos como, por exemplo, a capina (Goodman e Smith, 1987). Assim como os demais tipos de milho, é uma planta herbácea, anual e monóica (Linares, 1987; Larish e Brewbaker, 1999).

Esta cultura apresenta crescimento, desenvolvimento e produção diferenciados nas diversas condições de ambiente. Porém, devido à falta de informações experimentais sobre práticas culturais para o milho-pipoca, as especificações são as usadas para o milho comum, quanto ao tipo de solo, à época de plantio, aos tratos culturais e à adubação (Freitas Júnior et al., 2009).

No Brasil, há evidências de que a temperatura e a precipitação são os fatores que têm maior influência na produtividade da cultura. O milho-pipoca não deve ser plantado em locais e em épocas em que a temperatura mínima seja inferior a 10 °C e a máxima ultrapasse 40 °C. A temperatura ideal está em torno de 30 °C e por ser uma cultura bastante exigente em água, é necessária uma precipitação total em torno de 600 mm, distribuída em períodos em que o teor de água disponível



no solo para a planta seja inferior a 40%, para que não ocorra decréscimo na produção da cultura (Sawazaki et al., 2003).

No Brasil, o plantio comercial de milho-pipoca era considerado modesto durante a década de 90, sendo necessária grande quantidade de importações, principalmente de países como Estados Unidos e Argentina (Galvão et al., 2000). Entretanto, mudanças no mercado têm ocorrido. De acordo com Rangel et al. (2008), com o uso em larga escala de híbridos nacionais e norte-americanos, a importação de grãos teve uma grande redução.

Mesmo havendo um aumento no número de cultivares disponível no país, atualmente, para atender o mercado nacional sua área de plantio comercial é insuficiente (Vittorazzi et al., 2013). De acordo com informações do Agriannual (2015), em 2012, o preço médio de milho-pipoca era de R\$ 1,70 /kg. Se comparado ao milho comum, cujo valor do quilo àquele ano era de R\$ 0,40, o milho-pipoca possui valoração superior.

A cultura do milho pipoca pode ser uma boa alternativa para produção em muitas regiões do Brasil, entretanto tornam-se indispensáveis estudos que possibilitem o controle de plantas daninhas e manejo adequado dessa cultura. O uso de variedades de milho pipoca adaptadas e/ou tolerantes a herbicidas pode ser uma alternativa para diversificação das atividades agrícolas, reduzindo os custos de produção, além do elevado valor econômico da cultura por área e a possibilidade de se agregar valor ao produto final. É notório que houve grande evolução em diversas áreas da ciência para a cultura do milho-pipoca. Para tanto, se faz necessário a exploração de profundos estudos sobre uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas no manejo de milho-pipoca.

## **2.2 Plantas Daninhas**

As plantas daninhas podem afetar negativamente as plantas de colheita e estão associadas não apenas à competição por luz, água e compostos minerais (He et al., 2011; Bullied et al., 2012; Fletcher e Reddy, 2016); mas também pelo fato de que as plantas daninhas liberam substâncias químicas nos solos, o que atrasa e/ou inibe o crescimento e desenvolvimento das plantas, contribuindo assim para a redução geral das culturas de rendimento (Narwal, 2004; Nalini et al., 2015; Sturm e Roland, 2016). A ocorrência de plantas daninhas depende de propriedades

biológicas, fatores ambientais, tecnologias aplicadas e tipos de culturas (Macák et al., 2008, Van der Weide et al., 2008). Entretanto, novas tecnologias mecânicas e métodos de manejos aplicados na agricultura facilitam a dispersão de plantas daninhas, os quais consistem em tornar o arado mais raso ou em substituí-lo por trabalhos de lavagem de disco, sem arrasto e semeadura direta (Jelonkiewicz e Borowy, 2009; Blazewicz-Wozniak e Konopinski, 2012). Essas técnicas também incluem um aumento da adubação e incorporação de culturas intercaladas fazendo com que a diversidade biológica das áreas agrícolas sejam alteradas, os processos do solo sejam perturbados e a inter-relação entre a fauna e a flora seja interrompida (Kiec e Wieczorek, 2009).

O controle de plantas daninhas é uma prática de manejo essencial que deve ser realizada para garantir o rendimento de grãos ideal para a produção de milho. Foram observadas reduções severas do rendimento, na ordem de 38 e 65%, em comparação com o controle sem ervas daninhas (Gantoli et al., 2013). A magnitude da redução da produção por plantas daninhas não é uniforme e depende de múltiplos fatores, como espécies de plantas daninhas e biomassa, densidade de plantas daninhas, tempo de emergência das plantas daninhas em relação à emergência das culturas, distribuição de plantas daninhas, tipo de solo, umidade do solo, pH e fertilidade do solo (Wicks et al., 2004, Estorninos et al., 2005, Zimdahl, 2007, Fahad et al., 2014, Tursun et al., 2015, 2016).

Para Pitelli e Pitelli (2004), o conhecimento do impacto das épocas e durações do período de convivência ou de controle das plantas daninhas nas culturas agrícolas é fundamental para o estabelecimento de programas racionais de manejo da comunidade infestante, visando à redução de seu efeito prejudicial e a sustentabilidade do agroecossistema.

É importante lembrar que os efeitos negativos causados pela presença das plantas daninhas não devem ser atribuídos exclusivamente à competição, mas sim a uma resultante total de pressões ambientais, que podem ser diretas (competição, alelopatia, interferência na colheita e outras) e indiretas (hospedar insetos, doenças e outras). Esse efeito total denomina-se interferência. O grau de interferência imposto pelas plantas daninhas à cultura do milho é determinado pela composição florística (espécies que ocorrem na área e distribuição espacial da comunidade infestante) e pelo período de convivência entre as plantas daninhas e a cultura. A competição por nutrientes essenciais é de grande importância, pois esses, na

maioria das vezes, são limitados. Mesmo o milho sendo eficiente na absorção, não consegue acumular nutrientes como as plantas daninhas o fazem em seus tecidos. Em condições de competição, o nitrogênio seria o nutriente de maior limitação entre milho e planta daninha. (Karam e Melhorança, 2007).

Além desses aspectos, as plantas daninhas podem afetar a eficiência da terra, dificultar o controle de pragas e doenças, o manejo da água na irrigação e a eficiência humana (Ashton e Mônaco, 1991). Karam e Melhorança (2007) relataram que os processos da interferência das plantas daninhas nas plantas de milho causam uma série de problemas no desenvolvimento, no processo produtivo, na qualidade dos grãos e na operacionalização da colheita.

Estudos mostram que nem todas as plantas daninhas afetam negativamente as colheitas. Pelo contrário, algumas substâncias nas plantas daninhas têm um impacto positivo nos processos de crescimento e desenvolvimento. Depende principalmente da espécie de plantas cultivadas, bem como da ocorrência e densidade de plantas daninhas em sua vizinhança e da interdependência ecológica de plantas cultivadas com plantas daninhas (Komorowska et al., 2012).

Entretanto, as plantas daninhas não devem ser vistas sempre como inimigas ou indesejáveis, pois podem ser úteis em determinadas situações como: controle da erosão, reciclagem de nutrientes (Ruedell, 1995), produção de compostos medicinais e também produção de néctar para as abelhas e outros insetos de interesse à cadeia ecológica. Outra questão favorável a ser considerada é a cobertura viva e morta que as plantas daninhas proporcionam ao solo, reduzindo o aquecimento deste, e auxiliando na retenção de umidade (Silva et al., 2000; Brighenti, 2001).

Em grandes plantações, nas quais outros métodos seriam inadequados devido a escasses de mão de obra, os herbicidas são amplamente utilizados no controle das plantas daninhas. Comparados aos outros métodos de controle, os herbicidas destacam-se pela eficiência, rapidez na operação e redução nos custos. Dentre os herbicidas aplicados em pós-emergência das plantas daninhas na cultura do milho, merecem destaque o atrazine e alguns herbicidas do grupo químico das sulfonilurías, como o nicosulfuron (Zagonel, 2002), além do mesotrione (Rodrigues e Almeida, 2005).

O Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD) pode ser definido como a associação de diferentes alternativas de manejo, as quais incluem o controle cultural, mecânico, físico, biológico e químico (Swanton e Weise, 1991).

A implementação do MIPD possui diversas vantagens observadas nestes métodos no controle de plantas daninhas em comparação do ponto de vista com um único controle sendo mostradas como: maior efetividade, redução de custos e de evitar a ocorrência de biótipos resistentes a herbicidas. Com isso, o homem pode manipular a relação infestante-cultura de forma a propiciar benefícios para que esta última se fortaleça, ao invés de apenas efetuar o controle de invasoras (Souza, 2002).

Na busca constante por uma atividade agrícola com maior segurança ambiental, os principais objetivos do MIPD podem ser resumidos na prevenção de perdas de produtividade, prevenção de aumento de infestação nas lavouras subsequentes, operação de colheita facilitada (Karam e Melhorança, 2004).

### **2.3 Controle químico e seletividade**

As plantas daninhas são causadoras de um dos grandes problemas enfrentados pelos produtores durante a implementação e condução de um cultivo agrícola, já que elas causam perdas no rendimento das culturas, dificulta o processo de colheita, afeta a qualidade dos grãos, produzem compostos alelopáticos e hospedam patógenos e pragas.

Um método rápido e eficiente para o controle de plantas daninhas é por meio de herbicidas, buscando a seletividade na cultura, economia e menor dano ambiental, sendo utilizado em pequenas, médias e principalmente, em grandes áreas de plantio (Silva et al., 2009).

Para bons resultados no rendimento da cultura, a utilização desses herbicidas necessitam da observação de alguns fatores que interferem na seletividade dos mesmos, pois quando descuidados podem gerar danos fitotóxicos ao cultivo. Dentre os fatores que devem ser observados, destacam-se os híbridos e variedades recomendadas para tratamento com o herbicida, a dose para cada híbrido ou variedade, a aplicação no estágio fenológico recomendado da cultura, restrições de misturas de tanque com inseticidas organo-fosforados, e intervalo

mínimo de sete dias entre as adubações de cobertura nitrogenada e a aplicação do herbicida (López-Ovejero et al., 2003).

A seletividade é um fator relativo e particularmente característico para uma complexa interação entre a planta, o herbicida e o meio ambiente no qual a planta se desenvolve, estando relacionada à tolerância diferencial. Por tratamento seletivo, entende-se aquele que controla plantas daninhas sem afetar a cultura que são de interesse. É considerada como uma medida da resposta diferencial de diversas espécies de plantas a um determinado herbicida. Quanto maior a diferença de tolerância entre a cultura e a planta daninha, maior a segurança de aplicação. Na produção agrícola a seletividade é a base para o sucesso do controle químico de plantas daninhas (Oliveira Jr., 2001).

Entre os fatores que determinam a seletividade, encontram-se os relacionados às características do herbicida ou ao método de aplicação como dose, formulação, localização espacial ou temporal do herbicida em relação à planta. Fatores relacionados às características da planta como seletividade associada à retenção e à absorção diferencial (idade das plantas, cultivar, tamanho da semente ou estrutura de propagação vegetativa). Seletividade associada a translocação diferencial e seletividade associada ao metabolismo diferencial (detoxificação), além dos antídotos (Oliveira Jr., 2001).

Os herbicidas são compostos produzidos para promover grandes alterações no crescimento e desenvolvimento das plantas daninhas de forma parcial nas rotas metabólicas específicas e vitais das mesmas. Em lavouras, os herbicidas podem interagir tanto com plantas daninhas quanto com plantas cultivadas e essa interação pode ser por meio de sub-dosagens, dosagens normais e dosagens acima da tolerável.

Os efeitos fitotóxicos sobre a fisiologia da planta variam em função da quantidade de herbicida absorvido e que chega às enzimas ou proteínas específicas, podendo ser o suficiente, ou não, para que a fitointoxicação se manifeste. Plantas tolerantes a herbicidas possuem rotas metabólicas específicas, que previnem possíveis danos causados por esses produtos químicos (Yuan et al., 2006). Essa proteção é realizada por determinadas enzimas e outras proteínas de defesa das plantas, principalmente de localização citoplasmática, que possuem ampla faixa de especificidade, possibilitando que muitos herbicidas sejam

metabolizados por uma ou várias enzimas e moléculas de defesa (Hatzios e Penner, 1982).

As espécies tolerantes a herbicidas em geral possuem a capacidade de desativar seus princípios ativos e/ou de realizar a remoção do componente tóxico do citoplasma, compartimentalizando-o no vacúolo e/ou excretando-o para o meio extracelular (Mitchell et al., 2001; O'Sullivan et al., 2002).

- **Características dos herbicidas utilizados:**

#### Herbicida Nicosulfuron

O nicosulfuron 2-((4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)carbamoyl)amino)sulfonyl)-N,N-dimethylpyridine-3-carboxamide) é um herbicida sistêmico e seletivo para o milho, pertencente ao grupo das sulfoniluréias, sendo recomendado para aplicação em pós-emergência inicial para controlar poáceas anuais e algumas perenes, bem como certas daninhas dicotiledôneas. O princípio ativo apresenta solubilidade em água de 360 ppm a 25 °C, KOC médio de 30 mL g<sup>-1</sup> e meia vida curta, de apenas 21 dias (Rodrigues e Almeida, 2005).

Este herbicida apresenta como mecanismo de ação a inibição da síntese dos aminoácidos alifáticos de cadeia lateral: valina, leucina e isoleucina (Trezzi & Vidal, 2001). A via biossintética desses três aminoácidos apresenta em comum o uso de uma enzima chamada ALS, que participa na fase inicial do processo metabólico, catalisando uma reação de condensação (Christoffoleti et al., 2001).

Os herbicidas inibidores da ALS impedem que esta reação de condensação aconteça, provocando, como consequência, o bloqueio da produção dos aminoácidos alifáticos de cadeia lateral. Quando o herbicida encontra-se presente dentro da célula de uma planta susceptível, ocorre uma inibição não competitiva pelo herbicida com o substrato, de tal maneira que não ocorre a formação do acetolactato, indispensável para que as demais reações prossigam resultando na formação dos aminoácidos. A paralisação na síntese dos aminoácidos leva a uma interrupção na divisão celular e paralisação do crescimento. A morte das plantas daninhas ocorre dentro de 7 a 21 dias, dependendo do estágio de desenvolvimento na época da aplicação (Trezzi & Vidal, 2001).

### Herbicida Atrazina

O herbicida atrazina (6-chloro-N<sup>2</sup>-ethyl-N<sup>4</sup>-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) vem sendo empregado na agricultura há mais de 45 anos. Pela sua efetividade, ação prolongada e amplo espectro, é recomendado para controlar as plantas daninhas dicotiledôneas e poáceas anuais nas plantações de milho, sorgo e cana-de-açúcar. Nos últimos tempos, o atrazina continua sendo um dos herbicidas mais utilizados nos países produtores de milho, como Argentina, Estados Unidos da América e Brasil (Silva, 2002).

O sítio de ação desse herbicida é na membrana do cloroplasto, onde ocorre a fase luminosa da fotossíntese, mais especificamente no transporte de elétrons. Uma planta é susceptível aos herbicidas inibidores da fotossíntese se o herbicida acoplar-se ao composto Q<sub>B</sub> (Quinona "B") componente do sistema fotossintético e, assim, impossibilitar a ocorrência do transporte do elétron até a plastoquinona. Dessa forma, não existe a produção de ATP, pois a produção de elétrons é interrompida, bem como a produção de NADPH<sub>2</sub> (Christoffoleti, 1997).

### Herbicida mesotrione

O herbicida mesotrione pertence ao grupo químico das tricetonas e atua sobre as plantas daninhas inibindo a biossíntese de carotenóides através da interferência na atividade da HPPD (4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase) nos cloroplastos, com posterior geração de estresse oxidativo, que destrói as membranas das células, levando assim as plantas à morte. O caroteno é um pigmento das plantas responsável, dentre outras funções, pela proteção da clorofila da foto-oxidação; portanto, as plantas suscetíveis têm como sintomatologia o albinismo ("branqueamento") dos tecidos fotossintéticos. O herbicida apresenta absorção pelas folhas e raízes e translocação aposimplástica (Krause, 2001).

Este herbicida foi obtido por meio do isolamento de um aleloquímico, que são secretados a partir de compostos químicos da espécie de planta *Callistemon citrinus*. A localização desses compostos em quantidades variáveis pode ser encontrada nas raízes, caules, folhas e sementes desta planta. (Syngenta, 2007).

## 2.4 Metabolismo Fotossintético

Os pigmentos fotossintéticos, clorofilas “a” e “b” e carotenóides, localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos, absorvem a energia luminosa que é utilizada no processo fotossintético (Lichtenthaler, 1981).

Caso os mecanismos de tolerância a herbicidas não sejam prontamente eficientes, a planta pode ter seu metabolismo comprometido, como pode ser verificado no caso específico dos herbicidas inibidores fotossintéticos. As moléculas de clorofila, quando absorvem a energia luminosa (fótons), alteram temporariamente as suas configurações eletrônicas, passando do estado basal (Cló a) para o estado excitado (Cló a<sup>\*</sup>). Este estado excitado é muito instável e de curta duração. Dessa maneira, estes pigmentos fotossintéticos necessitam dissipar a energia proveniente da luz, podendo fazê-lo por meio de três vias principais (Maxwell e Johnson, 2000):

Dissipação Fotoquímica (*Ph*): é a utilização da energia luminosa para os processos fotoquímicos da fotossíntese (doação do elétron proveniente da molécula de água para um aceptor denominado *NADP<sup>+</sup>*(Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato no estado oxidado).

Fluorescência (*F*): emissão de radiação na região do visível (vermelho e vermelho distante).

Dissipação Não-Fotoquímica (*D*): é a produção de calor na forma de radiação infravermelha.

O aumento na eficiência de um desses processos, resultará no decréscimo no rendimento dos outros dois, ocorrendo em competição. Condições de estresse, como a presença de herbicidas na planta, podem alterar a eficiência destes processos. Uma medida eficaz para se avaliar as condições de estresse é a medida do rendimento quântico do fotossistema II (*FS<sub>II</sub>*). Assim, alterações na fluorescência emitida pela clorofila a podem mostrar a ausência ou a presença de comprometimentos no processo fotossintético (Maxwell e Johnson, 2000).

A avaliação da eficiência fotoquímica do (*FS<sub>II</sub>*) é obtida por meio dos parâmetros da fluorescência da clorofila a. O seu rendimento revela o nível de excitação da energia no sistema de pigmentos que dirige a fotossíntese e fornece



subsídios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do FS<sub>II</sub> (Bolhar- Nordenkampf *et al.*, 1989).

Existe um consenso geral de que o FS<sub>II</sub> é susceptível a alguns tipos de estresse, como por exemplo, os causados por herbicidas (Ouzounidou *et al.*, 1997; Pandey *et al.*, 1999).

Os principais parâmetros observados nas medições da fluorescência da clorofila *a* são: fluorescência mínima ( $F_a$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), fluorescência variável ( $F_v$ ), rendimento quântico máximo do FS<sub>II</sub> ( $F_v/F_m$ ), *quenching* fotoquímico ( $q_p$ ) e *quenching* não-fotoquímico ( $q_N$ ).

A  $F_a$  representa a fluorescência com todos os centros de reação "abertos" e refere-se à emissão de fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do FS<sub>II</sub> (Krause e Weiss, 1991). A  $F_m$  indica o momento da completa redução da quinona A ( $Q_A$ ) a partir da incidência de um pulso de luz saturante. A diferença entre  $F_m$  e  $F_a$  resulta na fluorescência variável ( $F_v$ ).

De acordo com Hendry e Price (1993), variações na taxa total de clorofila e de carotenóides são bons indicadores de estresse em plantas superiores.

## **2.5 Fluorescência da clorofila *a* como indicador de estresse em plantas**

Como qualquer outro processo de troca de energia, a conversão da energia luminosa em energia química pelo processo fotossintético não é perfeita. Nem todos os elétrons que estão num nível energético elevado, ou seja, as moléculas de clorofila excitadas são passadas para os aceptores. Estes elétrons retornam ao estado antes das moléculas receberem a energia dos fótons, sem a produção de ATP e NADPH<sub>2</sub>. Ao retornar ao estado inicial, a energia é dissipada em forma de calor ou luz. Isso se deve ao fato de que, no estado excitado, a clorofila *a* é extremamente instável e, ao retornar ao estado inicial, libera parte de sua energia para o meio na forma de calor ou na forma de luz, isto é, fluorescência ( $F$ ) (Taiz e Zeiger, 2004) enquanto o restante da energia é transferida para a síntese de compostos orgânicos.

Com base neste princípio, o uso das variáveis da fluorescência da clorofila *a* tem sido bastante empregado, principalmente no estudo da fotossíntese por ser um método que, além de não destrutivo, permite análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa através do FS<sub>II</sub> e possíveis

relações com a capacidade fotossintética (Mouget e Tremblin, 2002; Netto et al., 2005). Esta técnica tem permitido um aumento no conhecimento dos processos fotoquímicos e não-fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacóides (Genty et al., 1989), além de possibilitar o estudo dos fatores relacionados à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (Krause e Weis, 1991). Segundo Mouget e Tremblin (2002), mudanças no rendimento da fluorescência resultam de variações nas taxas de dissipação da energia fotoquímica e não-fotoquímica, demonstrando, dessa forma, ausência ou presença de comprometimentos no processo fotossintético.

A quantificação da indução da fluorescência através de equipamentos modulados fornece informações sobre a capacidade do aparelho fotossintético na utilização da energia luminosa e seus efeitos na escala de minutos. Tais equipamentos baseiam-se na aplicação de pulsos de luz modulada para excitar as moléculas de clorofila dos centros de reação em uma dada região de tecido foliar previamente adaptada ao escuro. A fluorescência detectada quando pulsos de luz de baixa intensidade (luz de medição) são aplicados corresponde à fluorescência inicial ( $F_a$ ) (Silva Jr., 2008). Na concepção de Krause e Weis (1991), a  $F_a$  representa a emissão da fluorescência pelas moléculas de clorofila *a* do complexo coletor de luz do FS<sub>II</sub> quando todos os centros de reação estão "abertos", ou seja, oxidados. A fluorescência máxima ( $F_m$ ) é obtida a partir da aplicação de um pulso de luz de alta intensidade, isto é, um pulso de luz saturante (em geral acima de  $2.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$ ), de forma a "fechar", ou seja, reduzir todos os centros de reação. Logo, o  $F_m$  indica a completa redução da plastoquinona A ( $Q_A$ ) a partir da incidência do pulso de luz saturante no centro de reação do FS<sub>II</sub> (Silva et al., 2006).

A utilização do fluorímetro modulado permite que outros parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, relacionados a processos fotoquímicos da atividade fotossintética, possam ser obtidos (Genty *et al.*, 1989) como: Fluorescência Variável ( $F_v$ ) - diferença entre a  $F_m$  e a  $F_o$ , que representa o incremento da fluorescência a partir de  $F_o$  até  $F_m'$  ou o fluxo de elétrons do centro de reação do FS<sub>II</sub> até a plasto-hidroquinona ( $\text{PQH}_2$ ) (Silva et al., 2006); Rendimento Quântico Máximo do FS<sub>II</sub> - variável determinada pela relação entre  $F_v/F_m$ , que reflete a máxima capacidade fotoquímica do FS<sub>II</sub>. Quando uma planta está com seu aparelho fotossintético intacto, o rendimento quântico máximo deve variar entre 0,75 e 0,85 (Bolhar-Nordenkampf et al., 1989), enquanto que a queda deste valor

reflete a presença de dano fotoinibitório nos centros de reação do FS<sub>II</sub> (Bjorkman e Demming, 1987); *Quenching* Fotoquímico ( $q_P$ ) - esse *quenching* reflete o estado de oxidação da Q<sub>A</sub> (Schreiber et al., 1986). Logo, a reoxidação da Q<sub>A</sub> causa a "extinção" fotoquímica (Krause e Weis, 1991); *Quenching* Não-Fotoquímico ( $q_N$ ) - esse *quenching*, por sua vez, engloba todos os processos de "extinção" que não estão relacionados com a fotoquímica (Silva Jr., 2008); e Rendimento Quântico Efetivo do FS<sub>II</sub> ( $\phi$  FS<sub>II</sub>) - variável determinada pela relação entre  $\Delta F/F_m$ , onde  $\Delta F$  representa a variação entre a fluorescência máxima e a fluorescência no estado de equilíbrio -  $F_s$  - e  $F_m'$  representa a fluorescência máxima em um tecido vegetal adaptado a qualquer intensidade luminosa, que reflete a proporção de elétrons do FS<sub>II</sub> que serão utilizados na fase fotoquímica da fotossíntese para redução do NADP<sup>+</sup> a NAPH<sub>2</sub> (Silva Jr., 2008).

## 2.6 Proteômica

A análise proteômica é uma tecnologia primordial para os estudos dos mais complexos e dinâmicos sistemas biológicos com medições qualitativas e quantitativas de um grande número de proteínas permitindo fornecer um diagnóstico direto do estado celular ou de mudanças durante o crescimento, desenvolvimento e respostas aos muitos fatores ambientais, influenciando diretamente na bioquímica celular da planta (Chen e Harmon, 2006).

O complemento total de proteínas de um genoma, uma entidade dinâmica se refere ao termo proteoma sendo, portanto um conjunto completo de proteínas mostradas por um determinado organismo, célula ou tecido em um dado momento, sob condição específica (Wasinger et al., 1995; Wilkins et al., 1996a; Wilkins et al., 1996b).

Uma das principais técnicas utilizadas para separação de proteínas é a eletroforese bidimensional (2-DE). A técnica começou a ser utilizada na década de 1970 (Macgillivray e Wood, 1974; O'farrell, 1975) e passou por uma grande revolução com a utilização de gradientes de pH imobilizados (Immobilized pH Gradient), ou IPG, na década de 1980 (Bjellqvist et al., 1982), o que melhorou substancialmente a qualidade e reprodutibilidade das corridas de eletroforese, tornando a técnica bastante popular. Entretanto, a técnica possui algumas limitações, como dificuldade de automação, é bastante laboriosa, possui limitações

quanto à separação de proteínas com características muito ácidas ou muito básicas, ou com massas muito grandes ou muito pequenas e proteínas pouco abundantes (Chen e Harmon, 2006; Rogowska-Wrzesinska et al., 2013).

De acordo com Schluter et al. (2009), para as análises proteômicas, existem três abordagens que podem ser utilizadas. A estratégia clássica é a 2-DE - MS/MS, que consiste na separação das proteínas por eletroforese bidimensional (descrito acima) e análise por espectrometria de massas em tandem. A segunda estratégia inicia diretamente com a digestão das amostras complexas. A digestão rende uma grande quantidade de peptídeos, que serão então separados por cromatografia líquida multidimensional (MudPIT). Esse método é definido com uma abordagem do tipo “Bottom up”, pois se inicia a nível de separação com os peptídeos. Os peptídeos eluídos das colunas (SCX e RP) são então identificados por espectrometria de massas em tandem. Essas análises geram sequências de aminoácidos através das quais pode-se identificar as proteínas originais. A terceira estratégia é definida como “Top-Down” e inicia com a separação das proteínas por cromatografia líquida, seguida por identificação da proteína por espectrometria de massas. Essa técnica tem se limitado às análises de proteínas de baixo peso molecular (30 kDa), entretanto, a técnica permite uma grande quantidade de amostra, frações proteicas com enorme redução de complexidade de composição e alta acurácia das massas das proteínas. A técnica ainda permite análises das modificações pós-traducionais das proteínas. A estratégia de 2-DE/MS/MS é um meio-termo entre as outras duas abordagens, a qual representa uma separação do tipo “Top-Down”, com uma identificação do tipo “Bottom up”.

No sentido de uma melhor compreensão dos aspectos relacionados à aquisição da competência proteica e do processo de desenvolvimento das plantas com aplicação de herbicidas seletivos, as análises proteômicas aparecem como ferramentas valiosas nos estudos que visam entender as relações e interações existentes de plantas tolerantes a herbicidas juntamente com suas rotas bioquímicas eficientes na desintoxicação dessas moléculas no interior da célula.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos. O primeiro na Estação Experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense – *campus* avançado de Cambuci – RJ. A cidade de Cambuci situa-se a 21° 34' 31" de latitude sul e 41° 54' 40" de longitude, na região Noroeste do Rio de Janeiro. Possui altitude de 35m, clima quente e úmido, com temperatura média anual de 25°C e precipitação média anual em torno de 1170 mm.

Com base nos dados da estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, no ano de 2016 a precipitação média acumulada durante o ciclo foi de 355,8 mm, com maior concentração de chuvas pequenas e isoladas entre os meses de fevereiro e março, sendo registradas maiores precipitações no período final do mês de abril. A temperatura média no período de cultivo foi de 25,7 °C, sendo registradas temperaturas máximas com médias de 26,4 °C e mínimas com médias de 25,1 °C. A umidade relativa do ar esteve, com média em torno de 74%, relatando máximas de 78% e mínimas 71% na época do experimento. A radiação solar apresentou valores em torno de 769,67 kJ m<sup>-2</sup> (INMET, 2016).

A segunda etapa do experimento foi conduzido na casa de vegetação da Unidade de Apoio à Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF, Campos dos Goytacazes-RJ.

## Experimento 1:

O experimento foi implantado em fevereiro de 2016, no delineamento de blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos de seis manejos de plantas daninhas: capinado; sem capina; mesotrione + atrazine ( $192 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.} + 1200 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); mesotrione ( $192 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); nicosulfuron + atrazine ( $60 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.} + 1200 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ); nicosulfuron ( $60 \text{ g ha}^{-1} \text{ i.a.}$ ), e foi utilizado o genótipo de milho pipoca UENF 14. Cada unidade experimental foi constituída de quatro linhas de cinco metros de comprimento, espaçadas de 1,0 m entre linhas e 0,2 m entre plantas, com estande de  $55.000 \text{ plantas ha}^{-1}$ . Como áreas úteis, foram consideradas as duas linhas centrais, desprezando 0,5 m das extremidades de cada linha.

Para as análises fisiológicas, foi adequado um delineamento em blocos casualizados com fatorial  $6 \times 4$ , utilizando os seis manejos de plantas daninhas e quatro épocas de avaliação zero, 7, 14 e 21 dias após aplicação.

A área utilizada para instalação do experimento teve dimensão de  $30 \times 16 \text{ m}$  e no último ano agrícola de 2015 não foi usada para cultivo. Segundo classificação realizada pela Embrapa (1999), o solo da região do experimento é um Argissolo Vermelho, com características químicas apresentadas no (Quadro 1).

Quadro 1: Características químicas da amostra de solo da área experimental do IFF – Campus Avançado de Cambuci.

Amostra	Características															
	Prof.	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	Na	C	MO	SB	T	t	M	V
	cm	(H <sub>2</sub> O)	mg dm <sup>-3</sup>	(cmol. dm <sup>-3</sup> )					g/kg	(cmol. dm <sup>-3</sup> )			%			
01	0-20	5,3	4,89	130	2,1	1,2	0,1	4,12	9	13,5	23,4	3,67	7,8	3,77	2,6	47,1

IFF – Campus Bom Jesus. Laboratório de Análise de Solos e Material Vegetal (LASOMA).

As correções e adubações para o estabelecimento da cultura foram feitas com base nos resultados da análise química do solo e no requerimento nutricional da cultura do milho comum, conforme manual de adubação para o estado do Rio de Janeiro (Almeida et al., 1988). Os insumos utilizados para o experimento foram sulfato de amônia, superfosfato simples e cloreto de potássio, como fontes de N-P-K respectivamente. Trinta dias após a semeadura, foi realizada uma adubação de cobertura utilizando somente o adubo nitrogenado (sulfato de amônia).

O preparo do solo para o semeio das sementes das plantas de milho-pipoca foi realizado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens. Foi utilizado grade e arado de discos. Após o solo arado, foi realizada a calagem com o objetivo de corrigir a saturação de base do solo. A dosagem foi calculada pelo método de saturação de bases e, baseando-se nos dados da análise química, da amostra de 0 – 0,20 m. O calcário utilizado possuía PRNT de 80 %, 33,5% de CaO e 10,1% de MgO e foi distribuído manualmente sendo incorporado posteriormente via gradagem. Após o preparo do solo, foram abertos sulcos espaçados em 1 m entre si com um sulcador de aiveca adaptado, possuindo duas linhas, acoplado a um trator.

As aplicações dos herbicidas foram realizadas quando as plantas de milho-pipoca estavam no estágio de quatro folhas. Utilizou-se, para o estudo, um pulverizador costal elétrico da marca Yamaho FT16, que é constituído por um depósito com capacidade para 16 L de calda, uma bomba de diafragma acionado por um motor elétrico e sensor de pressão do tipo diferencial. A fonte de energia para o equipamento é constituída por uma bateria chumbo-ácida de 12 V, com capacidade de carga de 8 a 10 horas (Figura 2). Além disso, foi usado uma ponta de pulverização “Teejet” DG 80.02, o qual, foi calibrado para aplicar o equivalente a 237 L.ha<sup>-1</sup> de calda. Após cada aplicação nos seus respectivos tratamentos com herbicida o pulverizador passou por um sistema de lavagens repetidas com detergente e água. As plantas foram irrigadas três dias na semana e o teor de umidade foi sempre mantido próximo à capacidade de campo. Para o controle das formigas saúvas (*Atta spp.*) na área, foi utilizado o formicida granulado. No controle das lagartas foi utilizado um inseticida de contato e ingestão do grupo químico dos piretróide logo após aparecimento dos sintomas nas plantas.

As seguintes características foram avaliadas: a) altura média de plantas (AP) em cm; b) altura média de inserção da primeira espiga (AE) em cm; c) diâmetro de colmo (DC) em mm; d) número de fileira de grãos (NFG); e) número de grãos por fileira (NGF); f) massa de espiga (ME) em g; g) comprimento de espiga (CESP) em cm; h) diâmetro de espiga (DE) em mm; i) massa de cem grãos (M100) em g; j) capacidade de expansão (CE) em ml/g; l) rendimento de grãos (RG) em kg.ha<sup>-1</sup>. Além disso, foram feitas avaliações fisiológicas (fluorescência e teor verde) e levantamento fitossociológico da área.

Para a avaliação dos componentes de produção, dentro da área útil da unidade experimental, foram colhidas todas as espigas produzidas nas duas linhas centrais, com pelo menos um grão formado. Na época do florescimento das plantas, foi contado o número de plantas em cada unidade experimental, a altura de plantas e o diâmetro do colmo e, após a colheita, foi determinado o número total de espigas colhidas por área útil em cada unidade experimental. Para a determinação da altura das plantas, foram escolhidas cinco plantas aleatoriamente em cada parcela, as quais foram medidas do solo até a inserção da folha bandeira. O diâmetro de colmo foi medido pela parte mais larga do colmo, a 10 cm do solo, utilizando-se um paquímetro digital, também de cinco plantas por unidade experimental, escolhidas aleatoriamente (Chiovato et al., 2007). Com relação a altura média da espiga (AE), foi obtida pela quantificação da distância, em cm, do nível do solo à base de inserção da espiga superior, conforme descrito por Brunson (1937), Verma e Singh (1979) e Lira (1983).

Na identificação da massa média de 100 grãos, foram separadas aleatoriamente e pesadas quatro amostras de 100 grãos de cada parcela para compor um valor médio de cada tratamento. A massa de espigas foi determinada através da pesagem das espigas despalhadas, as quais foram todas elas posteriormente debulhadas para a determinação da massa de grãos.

A capacidade de expansão foi determinada em laboratório, pela utilização de forno micro-ondas, colocando-se 30 g de sementes em saco de papel "Kraft", na potência de 1000 W, por dois minutos e vinte segundos, em duas repetições para cada parcela, possibilitando a avaliação quantitativa da expansão do milho por meio da relação  $\text{ml g}^{-1}$ , ou seja, volume de pipoca em uma proveta graduada em relação à massa de 30 g de grãos submetidos ao pipocamento.

No estudo de levantamento fitossociológico, para identificação e quantificação da comunidade de espécies infestantes, foi utilizado como unidade amostral um quadrado inventário demarcado por 0,5 x 0,5 metros para coleta das amostras, com a finalidade de se determinar a composição florística da área.

As espécies presentes em cada quadro foram cortadas rente ao solo, acondicionadas em sacos de papel e levadas para o laboratório para contagem, identificação e quantificação das plantas daninhas por nome científico, nome popular e família, também foi utilizada literatura especializada semelhante à descrita por Lorenzi (2008). Após a identificação, as plantas foram levadas para



secagem em estufa à temperatura de 70 °C por 72 horas para determinação de sua matéria seca (Figura 3B).

A partir da identificação das espécies, foram calculados os parâmetros fitossociológicos: número de indivíduos por espécie, número de parcelas em que a espécie estava presente, frequência, densidade, frequência relativa, densidade relativa e o índice de valor de importância. No cálculo das variáveis, foram utilizadas as equações descritas a seguir (Mueller-Dombois e Ellenberg, 1974):

### Densidade Absoluta

$$Da = \frac{n}{a} \text{ , ..... 1}$$

em que:

Da = densidade absoluta

n = número total de indivíduos de uma espécie de planta e daninha por unidade de área; e

a = área amostrada(m<sup>2</sup>).

### Densidade Relativa

$$Dr = \frac{n/a}{N/a} .100 \text{ , ..... 2}$$

em que:

Dr = densidade relativa;

n = número total de indivíduos de uma espécie de planta daninha por unidade de área;

a = área amostrada (m<sup>2</sup>); e

N = número total de indivíduos amostrados de todas as espécies do levantamento.

**Frequência Absoluta**

$$Fa = \frac{\text{n}^\circ \text{ de amostras com ocorrência da espécie}}{\text{n}^\circ \text{ total de amostras}} \cdot 100 \dots\dots\dots 3$$

**Frequência Relativa**

$$Fr = \frac{Fa}{\sum Fa} \cdot 100 \dots\dots\dots 4$$

**Dominância Absoluta**

$$DoA = \frac{\sum g}{a} , \dots\dots\dots 5$$

em que:

$\sum g$  = somatório da matéria seca da espécie; e

$a$  = área amostrada ( $m^2$ ).

**Dominância Relativa**

$$DoR = \frac{g/a}{G/a} \cdot 100 , \dots\dots\dots 6$$

em que:

$g$  = matéria seca da espécie;

$a$  = área amostrada ( $m^2$ ); e

$G$  = matéria seca total da comunidade infestante.

**Índice de Valor de Importância**

$$IVI = DR + DoR + Fr \dots\dots\dots 7$$

## Índice de Similaridade

Na avaliação da similaridade (estimativa do grau de semelhança na composição de espécies) entre as populações botânicas, será utilizado o Índice de Similaridade (IS) de Sorensen et al., (1972).

$$IS = (2a / b + c) \times 100, \dots\dots\dots 8$$

em que:

a = número de espécies comuns às duas áreas;

b e c = número total de espécies nas duas áreas comparadas.

O IS varia de 0 a 100, sendo máximo quando todas as espécies são comuns às duas áreas e mínimo quando não existem espécies em comum.

Para análise dos dados, utilizou-se os recursos computacionais do *software* R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014), e utilizou-se o Teste de Tukey a 5% de probabilidade e análise de regressão para a comparação das médias. Foram utilizados procedimentos com uma co-variável com uma ideia de eliminar o efeito da fonte de variação para ajustar e remover o efeito que não foi planejado para o experimento.

## Experimento 2:

O experimento foi implantado em casa de vegetação, logo após o experimento de campo na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) do CCTA, no *campus* da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes-RJ. Foi utilizado a variedade UENF 14 cultivado em vasos com capacidade de 5 L de substrato e contendo três plantas por vaso. Os vasos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, sob esquema fatorial 2x4, sendo dois tratamentos (com herbicida de melhor controle das plantas daninhas realizado no campo mesotrione + atrazine (192 g ha<sup>-1</sup> i.a. + 1200 g ha<sup>-1</sup> i.a.); e sem aplicação) e quatro dias (antes da aplicação, 3, 7 e quinze dias após a aplicação), com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais.

As aplicações dos herbicidas foram realizadas quando as plantas de milho -pipoca estavam no estágio de quatro folhas, totalmente expandidas (V4), utilizando um pulverizador costal, pressurizado a CO<sub>2</sub>, com pressão constante de 3,0 kgf cm<sup>-2</sup>, e equipado com uma ponta de pulverização “Teejet” DG 80.02, o qual foi calibrado para aplicar o equivalente a 237 Lha<sup>-1</sup> de calda.

O teor de umidade do vaso foi mantido próximo à capacidade de campo com as plantas irrigadas cotidianamente. Não foi utilizado nenhum tipo de adubação complementar, já que o manejo poderia influenciar nas análises, tanto proteômica, como fisiológicas.

Foram avaliadas características fisiológicas e proteômicas nas plantas de milho. Com relação à fisiologia da planta foi avaliada a fluorescência da clorofila *a*, sendo utilizado um fluorímetro modulado (Modelo Mini-Pam – Walz, Alemanha). Para tanto, utilizou-se uma folha completamente expandida, fisiologicamente madura e vigorosa de cada planta.

Antes das análises de fluorescência, as folhas permaneceram pré-adaptadas ao escuro por um período de 30 minutos, objetivando-se a completa oxidação dos componentes do sistema de transporte de elétrons (*Q<sub>a</sub>* oxidada). Tal adaptação, na realidade, corresponde apenas a uma área circular do limbo foliar, de cerca de quatro milímetros de diâmetro, sendo obtida por meio de pinças com um sistema de janela que permite a sua abertura quando da medição, ou fechamento para adaptação ao escuro.

Foram determinadas a fluorescência inicial (*F<sub>o</sub>*), a fluorescência máxima (*F<sub>m</sub>*) e a fluorescência variável (*F<sub>v</sub>*) também foram determinadas. De posse dos valores de *F<sub>v</sub>* e *F<sub>m</sub>*, foi possível obter a relação (rendimento quântico máximo do fotossistema II) (Strasser *et al.* 2000). A indução da fluorescência ocorreu após a adaptação da parte da folha no escuro, por meio de um único pulso forte de luz de 1s<sup>-1</sup>(3500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), que foi aplicado com o auxílio de três diodos emissores de luz (650 nm).

A quantificação da absorbância da folha foi feita com a utilização de um medidor portátil de clorofila modelo SPAD-502 (SPAD-502, Minolta Corp., Ramsey, Japão), a leitura refere-se ao Índice de Clorofila (IRC), sendo sua unidade designada pela Minolta como o SPAD. Os valores foram obtidos no período de oito às dez horas da manhã a partir da mesma folha utilizada para as avaliações da

fluorescência da clorofila *a*, aos 0, 3, 7 e quinze dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), perfazendo um total de quatro avaliações.

### **Extração de Proteína**

Os extratos de proteína foram preparados em triplicado biológico (300 mg de matéria fresca cada). As proteínas foram extraídas utilizando o método de precipitação com ácido tricloroacético (TCA) / acetona desenvolvido por Damerval et al. (1986) com modificações. O tecido foliar foi congelado em azoto líquido e moído até um pó fino usando uma argamassa cerâmica e um pilão. O pó resultante foi suspenso em 1 mL de tampão de extração refrigerado contendo 10% (p/v) de TCA (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) em acetona com 20 mM de ditioneitol (DTT) (GE Healthcare, Freiburg, Alemanha); A mistura foi mantida a -20 ° C durante uma hora antes da centrifugação a 16 000 g durante 30 min a 4 °C. As pílulas resultantes foram lavadas com acetona fria mais 20 mM de DTT, três vezes durante 10 min cada. Os sedimentos foram secos ao ar, ressuspensos em tampão contendo 7 M de ureia, 2 M de tiourea, Triton X-100 a 2%, DTT a 1%, fluoreto de fenilmetilsulfonilo 1 mM (PMSF) (Sigma-Aldrich) e pepstatina 5 uM e incubados para 30 min em gelo. As amostras foram então agitadas em vórtice durante 30 min a 8 °C e centrifugadas durante 20 min. Os sobrenadantes foram recolhidos, e as concentrações de proteína foram determinadas utilizando 2-D Quant Kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA).

### **Digestão de proteínas**

Para a digestão de proteínas, foram utilizadas três repetições biológicas de 100 µg de proteínas. Antes do passo de digestão com tripsina, as amostras de proteína foram precipitadas utilizando a metodologia metanol / clorofórmio para remover qualquer detergente das amostras (Nanjo et al., 2012). Em seguida, as amostras foram ressuspensas em tampão Urea 7 M e Tiourea 2 M, e dessalinizadas em filtros centríficos Amicon Ultra-0,5 3 kDa (Merck Millipore, Alemanha). Os filtros foram cheios até à capacidade máxima com tampões e centrifugados a 15 000 g durante 20 minutos a 20 °C. As lavagens foram realizadas duas vezes com ureia 8

M e depois duas vezes com bicarbonato de amônio 50 mM (Sigma-Aldrich) pH 8,5, permanecendo aproximadamente 50 µL por amostra após a última lavagem.

A metodologia utilizada para a digestão protéica foi a descrita anteriormente (Calderan-Rodrigues et al., 2014). Para cada amostra foram adicionados 25 µL de RapiGest® a 0,2% (v/v) (Waters, Milford, CT, EUA) e as amostras foram brevemente agitadas em vórtice e incubadas num Eppendorf Thermomixer® a 80 °C durante 15 min. Em seguida, adicionou-se 2,5 µL de DTT 100 mM (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA) e os tubos foram submetidos a vórtice e incubados a 60 °C durante 30 minutos sob agitação. Em seguida, adicionou-se 2,5 µL de iodoacetamida 300 mM (GE Healthcare) e as amostras foram agitadas em vórtice e depois incubadas no escuro durante 30 min à temperatura ambiente. Depois disso, adicionou-se 5 µL de DTT 100 mM para extinguir o excesso de iodoacetamida. A digestão foi realizada por adição de 20 µL de solução de tripsina (50 ng/µL; V5111, Promega, Madison, WI, EUA) preparada em bicarbonato de amônio 50 mM e as amostras foram incubadas a 37 °C de um dia para o outro. Para a precipitação RapiGest®, adicionou-se 10 µL de ácido trifluoroacético a 5% (v/v) (TFA, Sigma-Aldrich) e incubou-se a 37 °C durante 90 minutos, seguido de um passo de centrifugação de 30 min a 16 000 g. As amostras foram transferidas para Frascos de Recuperação Total (Waters).

Logo após toda essa metodologia descrita, foi utilizado para análise das proteínas o ESI-LC-MC /MC, com corridas de três repetições biológicas. A análise utilizou o banco de dados de proteínas Zea mays da Uniprot KB ([www.uniprot.org](http://www.uniprot.org)). As análises quantitativas relativas livres de rótulos foram realizadas com base na proporção de contagens de íons de proteína entre amostras contrastantes. Após o processamento de dados e para garantir a qualidade dos resultados, apenas as proteínas presentes em 2 de 3 execuções foram utilizadas. Além disso, proteínas diferencialmente abundantes foram selecionadas com base em uma mudança de dobra de pelo menos 1,5 e ANOVA P <0,05. A anotação funcional foi realizada usando o software Blast2Go v. 3.4 (Conesa et al., 2005).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Fatores de produção do milho pipoca: experimento 1

Entre os fatores de produção avaliados, não houve diferença estatística na fonte de variação manejo para as variáveis altura de planta (ALT), altura de espiga (AE), número de fileira de grãos (NFG). Todavia, para o diâmetro de colmo (DC) foi significativo a 10% de significância pelo teste F (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo do quadro de análise de variância. Quadrados médios das características altura de plantas (ALT), altura de espiga (AE), diâmetro de colmo (DC) e número de fileira de grãos (NFG)

FV	GL	Quadrados Médios			
		ALT	AE	DC	NFG
Nº Plantas	1	0,02176ns	0,0000491ns	0ns	0,46264ns
Blocos	3	0,015054ns	0,0003386ns	2,8405ns	0,62717ns
Manejo	5	0,013374ns	0,0098497ns	7,6179 .	0,20486ns
Resíduo	14	0,01517	0,010035	3,2826	0,34214
Média	-	1,756525	0,932083	15,611	12,30833
CV%	-	7,01199	10,74742	11,606	4,752256

.: Significativo a 10% e ns: Não significativo pelo teste F.

Um colmo mais espesso confere mais resistência ao acamamento, além de este ser utilizado na formação de grãos, por ser um canal transportador de sólidos

solúveis (Paixão et al., 2008). Os coeficientes de variação experimental (CV%) foram inferiores a 10% para (ALT), (AE) e (NFG). Plantas que possuem um porte mais baixo, além de menor susceptibilidade ao acamamento, apresentam melhor adaptação à colheita mecanizada e maior resistência ao estresse hídrico (Demétrio et al., 2008). Segundo Gomes (1990), os coeficientes de variação observados nos ensaios agrícolas de campo podem ser considerados baixos quando inferiores a 10%, médios quando variam de 10% a 20%, altos quando se estendem de 20% a 30% e muito alto quando superiores a 30%.

Pelos valores apresentados, apesar de estatisticamente não ter havido diferença significativa entre os manejos estudados, nota-se um incremento das médias, destacando-se para os tratamentos com mesotrione + atrazina e somente mesotrione quando comparado com a testemunha para estas variáveis mostradas (Tabela 2).

Tabela 2. Médias ajustadas (Erro padrão) das características altura de plantas (ALT), altura de espiga (AE), diâmetro de colmo (DC), número de fileira de grãos (NFG)

Tratamentos:	ALT(cm)		AE(cm)		DC(mm)		NFG	
	Média	SE	Média	SE	Média	SE	Média	SE
Capinado	1,81	0,063	1,02	0,052	17,28	0,933	12,27	0,301
Sem capina	1,75	0,064	0,88	0,052	15,10	0,942	12,65	0,304
Mesotione +Atrazina	1,84	0,067	0,90	0,055	17,41	0,988	12,25	0,319
Mesotrione	1,74	0,064	0,96	0,052	14,91	0,942	12,25	0,304
Nicosulfuron+Atrazina	1,69	0,062	0,92	0,050	14,97	0,906	12,46	0,293
Nicosulfuron	1,69	0,063	0,91	0,051	13,99	0,925	11,98	0,299

Ausência de letras na coluna significa que todas as médias foram estatisticamente iguais, pelo teste Tukey a 5% de significância.

As plantas de milho-pipoca são mais delicadas que as de milho comum, apresentando colmos mais finos e por isso quebram facilmente e são mais suscetíveis ao tombamento (Cruz et al., 2004). Com isso, as alturas de planta assim como o diâmetro de colmo são motivos relevantes para a cultura do milho pipoca, de modo a prevenir que os tratamentos promovam alturas de plantas elevadas e colmos muito finos. Portanto, levando-se em consideração essas duas características das plantas de milho-pipoca, embora não significativas, pode-se



dizer que, nas condições em que o experimento foi conduzido, na aplicação do herbicida nicosulfuron, proporcionou-se médias com os melhores resultados, uma vez que neste tratamento foram observados a menor altura de planta. Os maiores diâmetros de colmo foram encontrados no manejo somente com o herbicida mesotrione fator este desejável, contribuindo com a redução de quebras e tombamentos de plantas, e conseqüentemente com o aumento da produtividade. (Tabela 2).

Observa-se na tabela 3 que, entre os manejos, também não houve diferença significativa para as características: número de grãos por fileira, massa de espiga, comprimento de espiga e diâmetro de espiga.

Tabela 3. Resumo do quadro de análise de variância. Quadrados médios das características números de grãos por fileira (NGF), massa de espiga (ME), comprimento de espiga (CESP), diâmetro de espiga (DE).

FV	GL	Quadrados Médios			
		NGF	ME	CESP	DE
Nº Plantas	1	10,342ns	243,776 .	1,1763ns	6,7532.
Blocos	3	11,966ns	144,249 .	2,1355ns	0,8262ns
Manejo	5	19,321ns	22,989ns	2,6335ns	0,1623ns
Resíduo	14	10,515	55,151	1,3667	1,6551
Média	-	36,26667	37,11233	14,685	27,51592
CV%	-	8,941171	20,0106	7,9612	4,675491

.: Significativo a 10% e ns: Não significativo pelo teste F.

Apesar de haver uma redução de apenas de 5% entres as médias do melhor manejo de plantas daninhas, comparado ao manejo sem capina, possivelmente o que pode ter contribuído para a queda dessa taxa foram as condições climáticas, pois a época de cultivo era um período de safrinha com irregularidades climáticas, assim houve uma má polinização e na formação das espigas fatores estes determinantes para estas variáveis (Tabela 4).

Tabela 4. Médias ajustadas (Erro padrão) das características número de grãos por fileira (NGF), massa de espiga (ME), comprimento de espiga (CESP), diâmetro de espiga (DE)

Manejos:	NGF		ME(g)		CESP(cm)		DE(mm)	
	Média	SE	Média	SE	Média	SE	Média	SE
Capinado	38,42	1,670	39,01	3,824	15,73	0,602	27,72	0,663
Sem capina	37,77	1,686	36,79	3,861	15,41	0,608	27,36	0,669
Mesotione +Atrazina	35,71	1,769	39,69	4,051	14,26	0,638	27,25	0,702
Mesotrione	31,88	1,686	34,59	3,861	13,19	0,618	27,48	0,669
Nicosulfuron+Atrazina	35,85	1,622	38,64	3,714	14,49	0,585	27,79	0,643
Nicosulfuron	37,97	1,656	33,94	3,793	15,02	0,597	27,50	0,657

Ausência de letras na coluna significa que todas as médias foram estatisticamente iguais, pelo teste Tukey a 5% de significância.

As médias de comprimento de espiga estimadas neste trabalho, em todos os manejos, foram inferiores às médias estimadas por Capentieri-Pípoloet al., (2002). Em estudos de avaliação de híbridos, estes autores estimaram valores médios para comprimento de espiga de 16,61cm, e valores mínimos e máximos variando de 15,18 cm a 19,46 cm.

Shioga e Gerage, (2010), avaliando diferentes épocas de semeadura no desempenho da cultura do milho na safrinha, em quatro localidades do Estado do Paraná, observaram que plantios mais tardios prejudicaram o rendimento de grãos em consequência do baixo acúmulo de calor, pela diminuição da temperatura ambiente. Esta limitação pode explicar os menores valores para a produção de grãos na safrinha, podendo ser corrigido pela realização de plantios mais precoces, evitando os meses de maiores variações climáticas e com menores temperaturas do ano.

As variáveis massa de 100 grãos e capacidade de expansão mostram que os manejos estudados não influenciaram de forma significativa. Já para o número de espiga e rendimento de grãos foi significativo a 1% pelo teste F (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo do quadro de análise de variância. Quadrados médios das características número de espiga (NE), massa de 100 grãos (M100), rendimento de grãos (REND) e capacidade de expansão (CE)

FV	GL	Quadrados Médios			
		NE	M100	REND	CE
Nº Plantas	1	255,983**	5,5731 .	390528**	2,979ns
Blocos	3	26,596**	1,3201ns	84239**	37,155ns
Manejo	5	8,721**	2,3532ns	40331**	13,699ns
Resíduo	14	1,613	1,2211	6699	16,488
Média	-	20,20833	7,840417	435,53	25,09722
CV%	-	6,285047	14,09432	18,793	16,17941

ns, \*, \*\*, . Não significativo, significativo a 5, 1 e 10% respectivamente pelo teste F.

A maior média do número de espiga foi obtido no tratamento de manejo capinado, com 22 espigas, não se diferenciando estatisticamente dos manejos mesotrione + atrazina e nicosulfuron, estes com médias de 20 espigas, e mesotrione, com média de 19 espigas. Porém, foi diferente do manejo nicosulfuron + atrazina e sem capina, nas quais foram obtidas menores médias dos números de espigas entre todos os tratamentos avaliados (Tabela 6).

Tabela 6. Médias ajustadas (Erro padrão) das características número de espiga (NE), massa de 100 grãos (M100), rendimento de grãos (REND) e capacidade de expansão (CE).

Tratamentos:	NE		M100(g)		REND(kg/ha <sup>-1</sup> )		CE(ml/g)	
	Média	SE	Média	SE	Média	SE	Média	SE
Capinado	22,78	0,65a	9,22	0,569	527,45	42,15ab	21,69	2,091
Sem capina	19,05	0,66b	7,59	0,574	391,39	42,55abc	24,23	2,111
Mesotione +Atrazina	20,60	0,69ab	6,79	0,603	584,23	44,65a	26,77	2,215
Mesotrione	19,69	0,66ab	7,72	0,574	312,75	42,55c	27,56	2,111
Nicosulfuron+Atrazina	18,61	0,64b	8,18	0,553	383,12	40,93bc	25,73	2,031
Nicosulfuron	20,51	0,65ab	7,55	0,564	414,24	41,81abc	24,61	2,074

Médias seguidas de mesma letra não foram estatisticamente diferentes pelo teste Tukey a 5% significância. Ausência de letras na coluna significa que todas as médias foram estatisticamente iguais.

O manejo de plantas daninhas sem capina apresentou menor média de rendimento de grãos, quando comparado à melhor média do controle químico com o herbicida (mesotrione + atrazina), observou-se que a falta do controle das plantas daninhas na cultura do milho-pipoca, pode ter ocasionado uma redução de 33% na produtividade, o que corresponde a uma perda de 193 kg/ha (Tabela 6).

Para a capacidade de expansão dos grãos de milho-pipoca, apesar de não ter apresentado diferença significativa entre os tratamentos, os valores alcançados foram muito abaixo do esperado. A menor capacidade de expansão foi de 21,68 ml g<sup>-1</sup> obtido no tratamento capinado. Nos manejos com tratamentos de herbicidas para controlar as plantas daninhas no milho-pipoca, a capacidade de expansão foi de 27,56 ml g<sup>-1</sup> para a área que recebeu aplicação do herbicida mesotrione e de 26,76 ml g<sup>-1</sup>, onde se fez o controle das plantas daninhas pela mistura dos herbicidas mesotrione + atrazina. O fato de ter sido utilizado apenas um genótipo poderia ser a melhor explicação para não haver diferença na capacidade de expansão entre os tratamentos (Tabela 6). Na escala mL mL<sup>-1</sup> (volume pipoca/volume amostra), de acordo com Galvão et al. (2000), índices de capacidade de expansão entre 21 e 26 são considerados bons e acima de 26 são excelentes. A avaliação de capacidade de expansão apresentou o potencial de expansão apenas dos grãos que foram capazes de estourar e se transformar em pipoca.

## 4.2 Componentes fisiológicos do milho-pipoca: Fluorescência da Clorofila

As Alterações significativas nos parâmetros de fluorescência avaliados foram observados para todas as variáveis somente no fator tempo (Tabela 7). Quanto ao fator manejo de plantas daninhas com aplicação de herbicidas e suas testemunhas, observa-se efeito significativo ( $p > 0,01$ ) para índice fotossintético (Pi) isoladamente e interagindo com o tempo parâmetros como eficiência fotoquímica e índice fotossintético com 10% de significância.

Tabela 7. Resumo do quadro de análise de variância. Quadrados médios das características fluorescência mínima ( $F_o$ ), eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ), complexo de liberação de  $O_2$  para o PSII ( $F_v/F_o$ ), índice fotossintético (Pi), índice de verde (valores de SPAD)

FV	GL	Quadrados Médios				
		$F_o$	$F_v/F_m$	$F_v/F_o$	Pi	Spad
Bloco	3	381574ns	0,011326*	1,8994**	3,6426**	113,56**
Tempo	3	3270391*	0,071845**	9,5638**	7,0293**	406,58**
Manejo	5	879391ns	0,005464ns	0,3509ns	2,0609**	37,27ns
Tem x Man	15	609411ns	0,005946.	0,4025ns	1,0636 .	29,68ns
Resíduo	69	1058638	0,003455	0,2704	0,5994	20,27
Média		4474,729	0,725604	2,93072	1,9103	36,565
CV%		22,9936	8,100839	17,7424	40,531	12,314

\*\* , \* e . Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade respectivamente; ns Não significativo pelo teste F.

Os valores da relação  $F_v/F_m$  encontrados nesse experimento indicam que não ocorreu dano no aparato fotoquímico associado ao PSII de maneira permanente ao longo do tempo no milho-pipoca, em quase todos sistemas de manejo avaliados. No manejo sem capina, nas avaliações realizadas nos quatro períodos, foi observado que as plantas cultivadas em competição com a plantas daninhas apresentaram redução na relação  $F_v/F_m$  ao longo do tempo que as cultivadas com os outros manejos apresentados (Figura 1). Isso pode estar atrelado ao maior efeito de competição nas plantas cultivadas que foi aumentando com o tempo e diminuindo gradativamente os recursos como a radiação solar, nutrientes do solo que são essências ao crescimento e desenvolvimento do milho-pipoca.

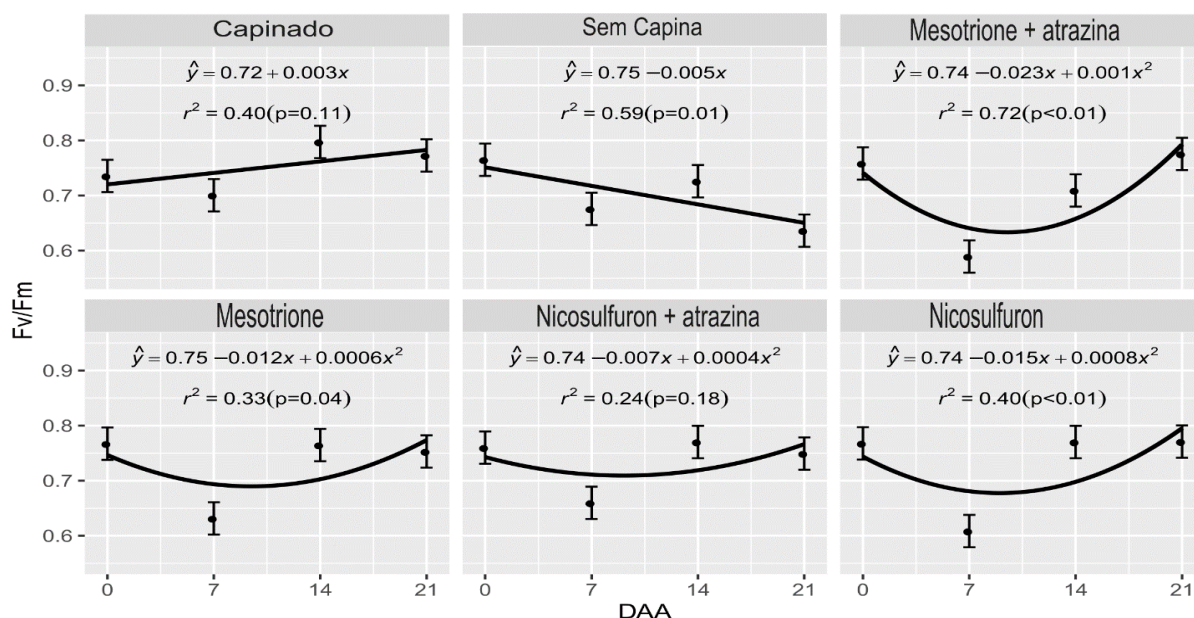


Figura 1. Desdobramento da interação dos diferentes dias após aplicação de herbicidas dentro de manejos de plantas daninhas sobre a eficiência fotoquímica (Fv/Fm).

Observou-se que as injúrias causadas na aplicação dos herbicidas à folha de milho refletem na queda do rendimento quântico máximo do fotossistema II, mostrando a menor relação Fv/Fm nas leituras realizadas aos sete dias após aplicação (DAA) dos herbicidas. Neste caso, as plantas cultivadas com aplicação de herbicidas apresentaram uma relação Fv/Fm abaixo de 0,75 que é considerado o limite mínimo para um aparelho fotossintético intacto.

No manejo com a mistura de herbicidas mesotrione + atrazina, nota-se que aos sete DAA houve ajuste da equação ao modelo quadrático que proporcionou menor relação Fv/Fm (Figura 1). Nos outros manejos com herbicidas, as plantas apresentaram essa relação dentro da faixa adequada e com recuperação de um possível dano após este período. Quando as plantas estão submetidas a qualquer tipo de estresse podem apresentar relação Fv/Fm abaixo de 0,75, indicando fotoinibição, devido à redução da atividade do fotossistema II (Araújo e Deminiciis, 2009).

Em plantas anuais, como o milho-pipoca, os herbicidas com translocação apossimplástica, como é o caso do mesotrione e atrazina, quando pulverizados no estágio juvenil da planta, são rapidamente transportados até o local de ação porque acompanham o rápido fluxo de fotoassimilados entre a fonte e o dreno. As plantas

de milho-pipoca podem ser intoxicadas, como aconteceu nos manejos com aplicação dos herbicidas, com posterior recuperação. Em consequência disto, com o passar do tempo, ocorre a neutralização das moléculas antes que esta atinja o seu sítio de ação. Ogliari et al. (2009) demonstraram que, em plantas de milho, o mesotrione promove ativação diferencial do sistema primário de transporte de enzimas para desintoxicação deste herbicida, o que pode ser atribuída a alterações na conformação lipídica após o tratamento com mesotrione.

Para atrazina, a clorose foliar observada após aspersão do herbicida deve-se ao dano à membrana das células causado pela peroxidação de lipídios. Já no caso o sintoma com mesotrione, a consequência mais característica e inconfundível desse grupo de herbicidas é o branqueamento das folhas de espécies sensíveis (Senseman, 2007).

Apesar dos sinais de injúrias, a fase fotoquímica, que na presença de luz capta todas as reações químicas nos tilacóides dos cloroplastos, não foi influenciada por aplicação dos herbicidas. A produção de moléculas ricas em energia utilizadas na fixação de CO<sub>2</sub>, como adenosina-5-trifosfato (ATP), e poder redutor, como a nicotinomida-adenina-dinucleotídeo-fosfato redutase (NADPH) são importantes reações originadas nesta fase da fotossíntese.

Na figura 2 observa-se a interação dos diferentes dias após aplicação de herbicidas e suas testemunhas, sobre o índice fotossintético (Pi) em plantas de milho-pipoca. Nota-se para os manejos com herbicida nicosulfuron isoladamente e sua mistura com atrazina não afetou os valores de (Pi), em nenhum dos períodos avaliados com ajustes não significativos ( $p=0,13$ ) e ( $p=0,04$ ) para os modelos de regressões lineares respectivamente.

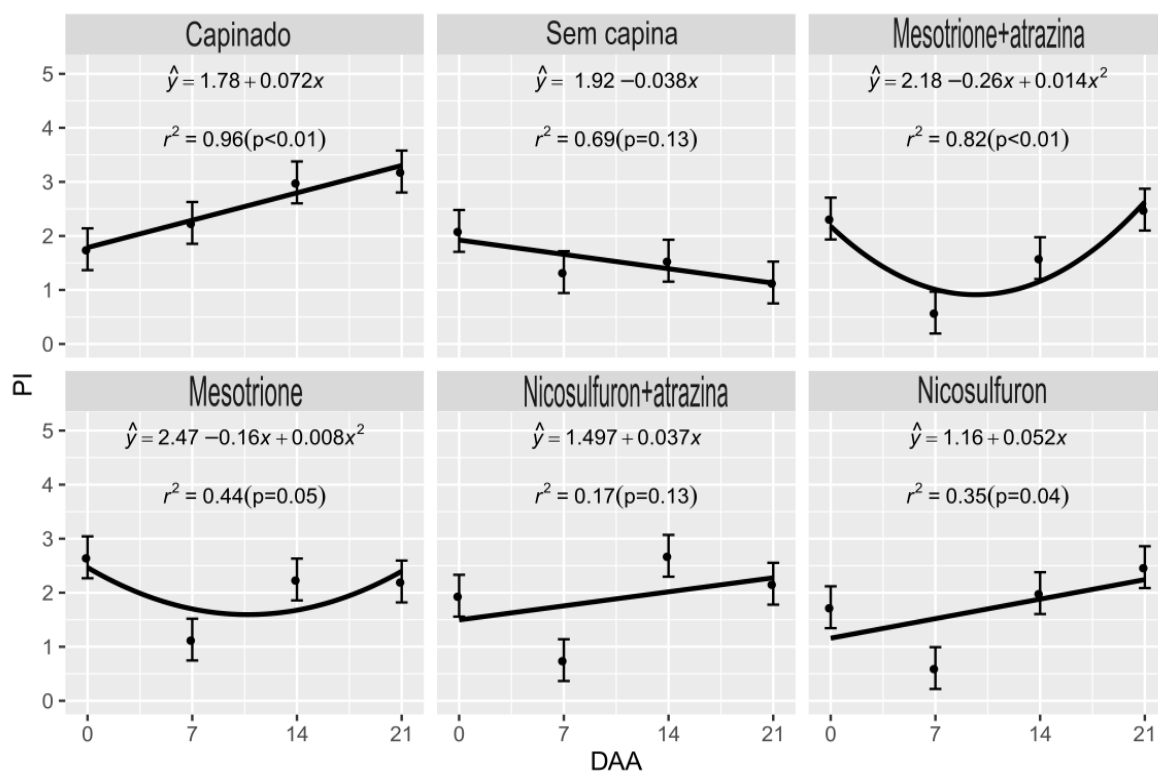


Figura 2. Desdobramento da interação dos diferentes dias após aplicação de herbicidas dentro de manejos de plantas daninhas sobre o índice fotossintético ( $\bar{P}_i$ ).

Para o manejo mesotrione + atrazina e o mesotrione aplicado isoladamente, os valores observados de  $\bar{P}_i$ , avaliados no período entre sete e quatorze dias após aplicação, foram inferiores no milho-pipoca cultivado sob os outros manejos, indicando um dano a atividade do aparato fotoquímico associado ao fotossistema II com representações no ajuste significativo ( $p < 0,01$ ) e ( $p = 0,05$ ) para as regressões de modelos quadráticos respectivamente (Figura 2). Este fato pode ser devido aos efeitos da molécula do herbicida mesotrione no interior da planta, agindo com uma descoloração e branqueamento, seguidos por clorose, que desapareceu as sequelas após os 21 dias da aplicação. O melhor metabolismo do mesotrione foi relatado em milho comum por uma desintoxicação mediada pela mono-oxigenase citocromo P450 (Hawkes et al., 2001). Ma et al, (2013) observaram que o milho é naturalmente tolerante ao mesotrione devido a uma taxa rápida hidroxilação da P450 catalisada.

Em geral, algumas folhas podem apresentar nervuras verdes se a coloração da mesma se torna amarelada, com margens externas das folhas inferiores mais afetadas. Nas folhas maduras, inferiores e completamente



expandidas é que os sintomas costumam aparecer, ou seja, folhas que estejam transpirando ativamente. Observa-se, desse modo, a inibição do crescimento das plantas, como decorrência secundária da inibição da fotossíntese (Vidal; e Fleck,, 2001).

Nas condições do presente trabalho, a maquinaria fotoquímica do milho apresentou certa tolerância aos herbicidas, mesmo nos tratamentos com associação de produtos e com uma recuperação após 21 dias da aplicação.

### 4.3 Levantamento fitossociológico na cultura do milho-pipoca

Para o manejo com capina foram identificadas sete espécies de plantas daninhas infestando a cultura. Para as espécies *Cyperus rotundus* L, (tiririca), *Panicum maximum* (capim-colonião), *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha), obteve-se os maiores valores de densidade relativa (Dr) que foram de 64,36, 17,24 e 11,49, respectivamente. Esses valores indicam que estas espécies foram as que apresentaram o maior número de indivíduos (Figura 3).

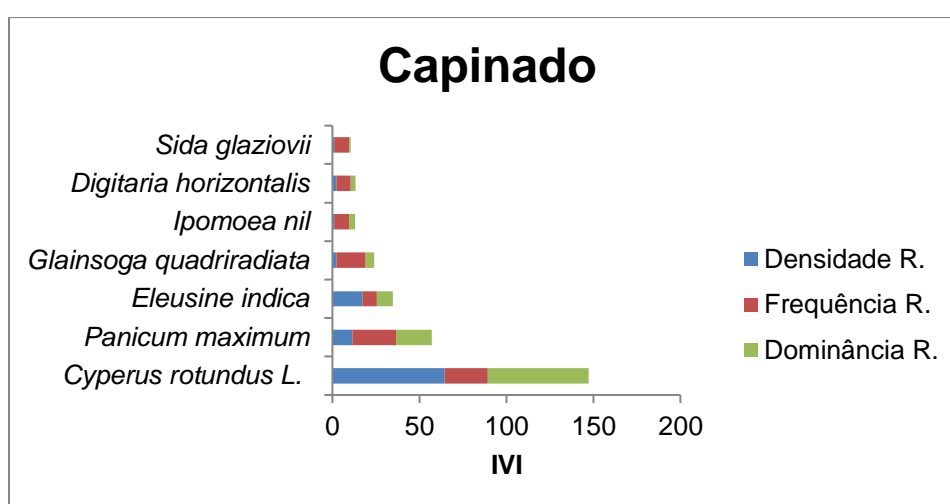


Figura 3. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo com capina de sete plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

No caso dos IVIs (Índices de Valor de Importância) dessas espécies foram superiores às demais, indicando valores de 147,26 para a tiririca; 57,17 para o

capim-colonião; e 34,64 para o capim-pé-de-galinha, Estas plantas daninhas, apresentaram maior competição com a cultura, indicando que elas exercem influência dentro da comunidade, podendo ser evidenciada pela Densidade Relativa (DeR) que foi o índice que mais contribui para os valores de IVI, devido aos elevados número de indivíduos apresentados.

Os efeitos consideráveis na diminuição da produtividade é um forte indicativo da competição pelo os fatores de produção, medindo a infestação pelas densidades de plantas e outros índices.

Considerando o manejo sem capina (figura 4), foram identificadas 14 espécies de plantas daninhas, as quais se destacaram *C. rotundus* L, (tiririca), *P. maximum* (capim-colonião), *Galinsoga quadriradiata* (fazendeiro), *Sida glaziovii* (guanxuma-branca) por apresentarem maior número de indivíduos por área, com valores respectivos de 38,65, 23,52, 8,40 e 5,05. Neste contexto, os IVIs das espécies foram superiores às demais, apresentando valores de 84,41 para *P. maximum*, de 67,10 para *C. rotundus* L, 35,41 para *G. quadriradiatae* 20,57 para *S. glaziovii*, indicando que as plantas encontradas neste tratamento possuem dentro da comunidade uma maior importância competitiva.

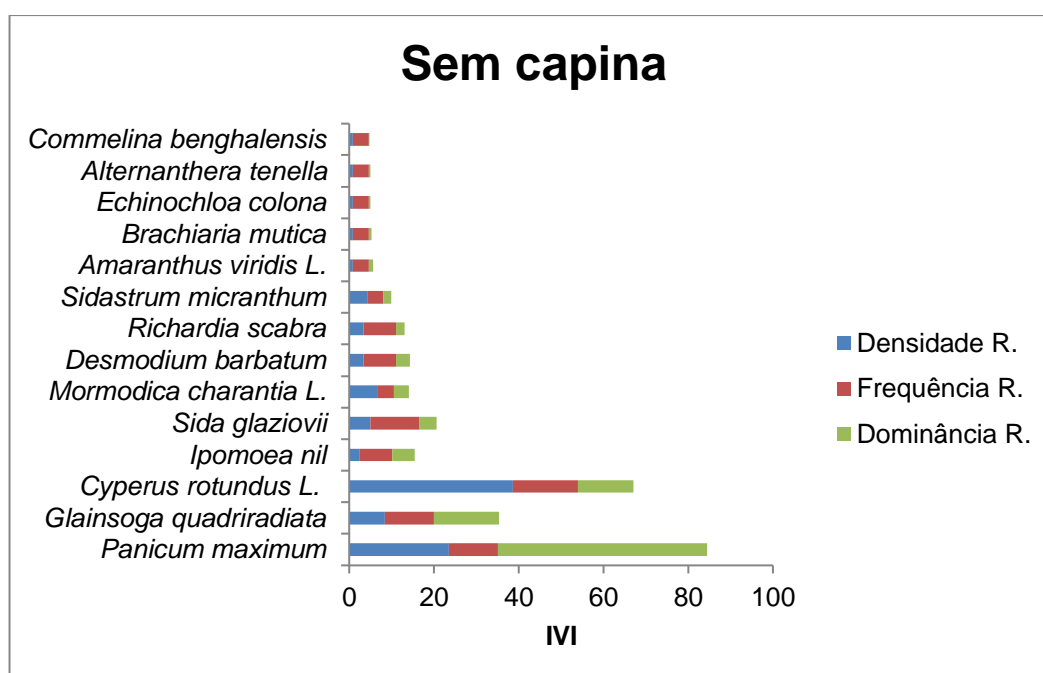


Figura 4. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo sem capina de quatorze plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

No manejo com mesotrione + atrazina, ocorreu infestação somente de duas espécies de plantas daninhas, sendo ela a *C. rotundus* L, (tiririca) e *P. maximum* (capim-colonião) que contabilizaram elevado número de indivíduos por área, com seus valores de 67,64 e 32,35 de dominância relativa, respectivamente.

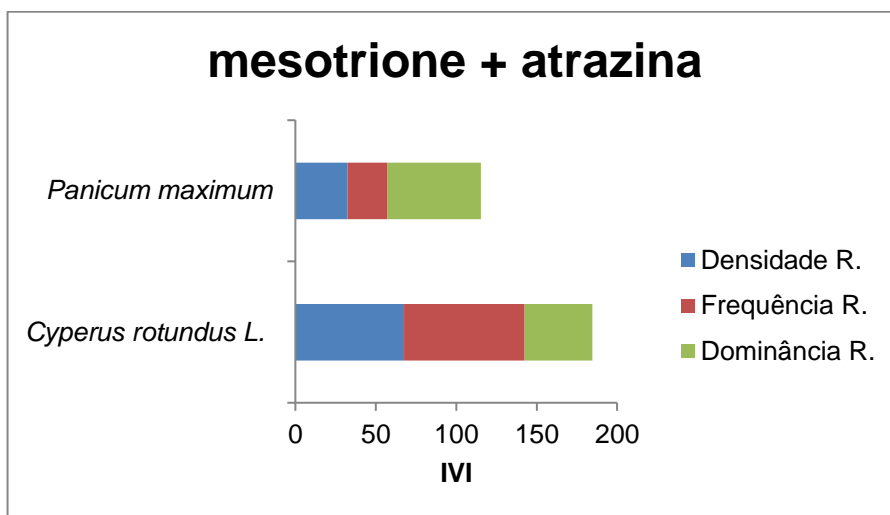


Figura 5 – Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo mesotrione + atrazina, de duas plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

No caso dos IVIs, ambas as espécies exerceram uma certa influência na comunidade de plantas daninhas com valores de 184,54 e 115,45, respectivamente. Observa-se que a aplicação desses herbicidas promoveu uma expressiva diminuição de plantas daninhas em relação ao manejo sem capina, o que pode ser explicado pela eficiência dos herbicidas com bom controle de outras espécies.

Neto et al, (2003), trabalhando com diferentes herbicidas e formulação no controle de plantas daninhas na cultura do milho, observam que no tratamento em que o mesotrione foi utilizado em associação com atrazina, se conseguiu o melhor efeito na eficiência do controle das plantas daninhas, aos sete dias após a aplicação.

Para o manejo com mesotrione, o capim colonião foi o que proporcionou maior estimativa do Índice de Valor de Importância, com um valor de 85,35, mostrando que essa planta, com características morfológicas muito parecidas com

a do milho, pode promover maiores perdas à cultura dependendo do herbicida utilizado na comunidade infestante (Figura 6).

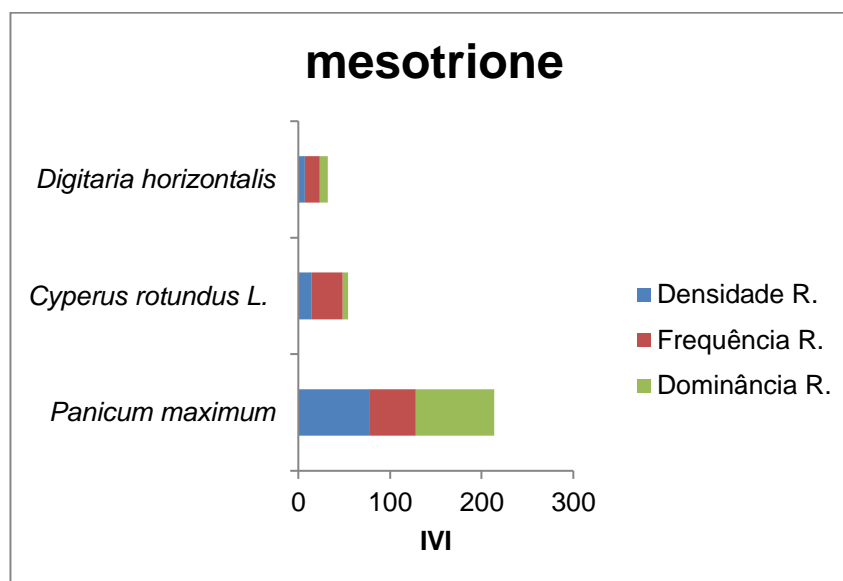


Figura 6. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo mesotrione, de três plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

Dentre os fatores analisados, a dominância relativa dessas plantas invasoras foi o fator que mais contribuiu para as maiores inferências de IVI. Estes resultados revelam que o *P. maximum* (capim-colonião) foi a que apresentou o maior número de indivíduos na área, seguido pela *C. rotundus* L. (tiririca) e *Digitaria horizontalis* (capim-colchão), espécies também identificadas na área. Nota-se, ainda, na figura 7, que em relação aos fatores Frequência Relativa (Fr) e Dominância Relativa (DoR), a DoR apresentou maior importância para o *P. maximum* a Fr para *C. rotundus* L e *Digitaria horizontalis*, mostrando que o *P. maximum* conteve maior peso de matéria seca. Além disso, *P. maximum* e a *C. rotundus* L. estiveram presentes em maior número de amostras coletadas.

Foloni (2002), trabalhando com o herbicida mesotrione na cultura do milho, observou que esta molécula proporcionou excelentes resultados no controle das plantas daninhas, chegando a controlar de 90 a 100% *Digitaria horizontalis*, *Eleusine indica*, *Brachiaria plantaginea*, *Acanthospermum hispidum*, *Portulaca oleracea* e *Galinsoga parviflora*. O mesotrione inibe a enzima 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (HPPD), que converte a tirosina em plastoquinona e  $\alpha$ -tocoferol na

biossíntese de carotenóides (Beaudegnies et al., 2009). As espécies susceptíveis apresentam branqueamento foliar, seguido por necrose tecidual de danos causados por radicais livres às membranas celulares (Lee et al., 1999, McCurdy et al., 2009).

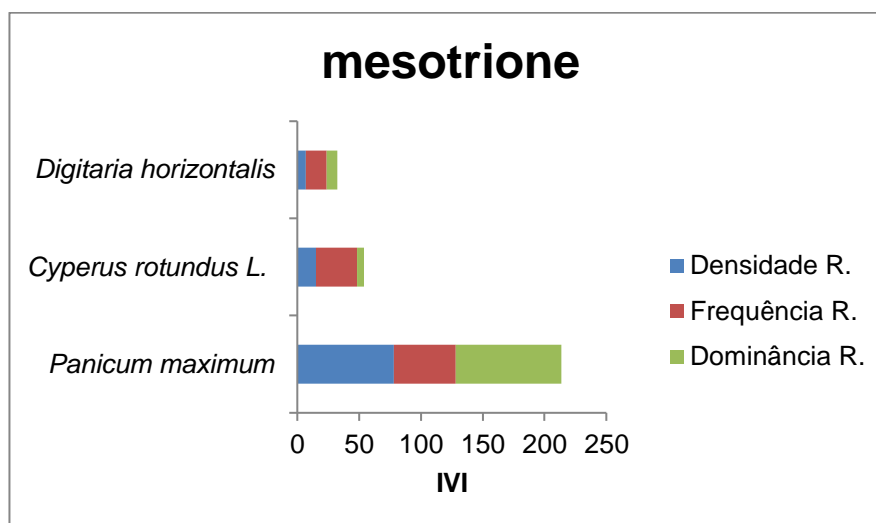


Figura 7. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo mesotrione de três plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

Dentre as espécies avaliadas a *C. rotundus* Le a espécie *P. maximum* revelaram os maiores valores de IVI, sendo 168,22 e 87,23, respectivamente, se destacando como as espécies de maior importância para o nicosulfuron + atrazine (Figura 8). Contudo, para a tiririca, a DeR foi o fator que mais contribuiu para o valor de IVI, seguido por Dor e Fr. Isso significa que a tiririca apresentou maior número de indivíduos entre as espécies presentes na área, maior frequência entre as amostras coletadas na área e maior peso de matéria seca entre as espécies.

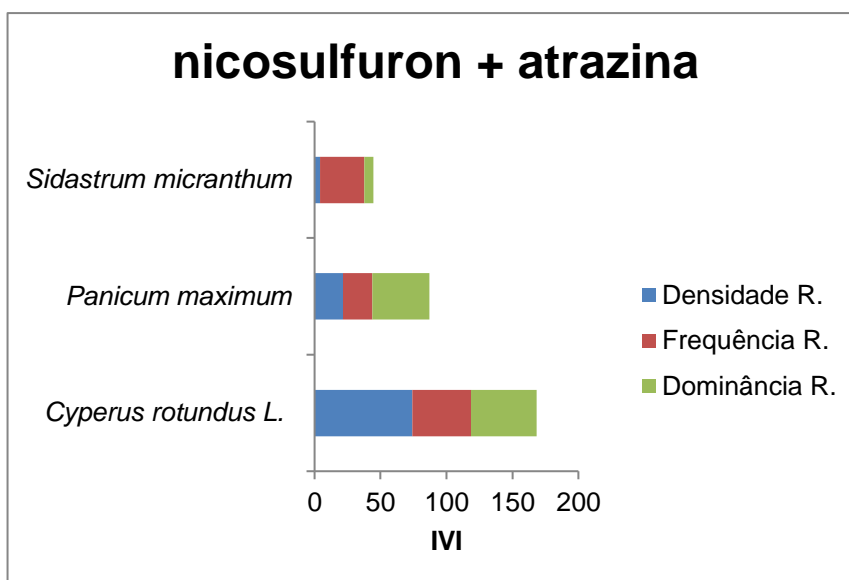


Figura 8. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo nicosulfuron + atrazina, de três plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

Para Spader e Vidal (2001), a adoção de nicosulfuron, em dose reduzida, e associada à herbicidas mais seletivos às plantas de milho, como atrazine, poderia ser uma alternativa para se obter controle satisfatório das plantas daninhas sem causar danos à cultura.

Pode-se notar na figura 9 que a espécie *Sidastrum micranthum* (malva-preta) foi a que revelou menor IVI (44,54%), sendo a de menor importância. Estes dados mostram que a mistura nicosulfuron + atrazine, apesar de ter controlado bem a maioria das espécies presentes na área, não controlou as espécies *C. rotundus* e *P. maximum*, não sendo tão eficiente no controle dessas espécies, confirmando assim as informações de Rodrigues e Almeida (2005).

No manejo com nicosulfuron foram observados que o controle realizado para *P. maximum* foi suficiente para reduzir a infestação dessa espécie, em comparação ao manejo sem capina. A *Cyperus rotundus L.* (tiririca) foi a espécie com maior IVI encontrada na área experimental, seguida por a *Digitaria horizontalis* (capim-colchão), com valores de 92,85 e 46,80% respectivamente.

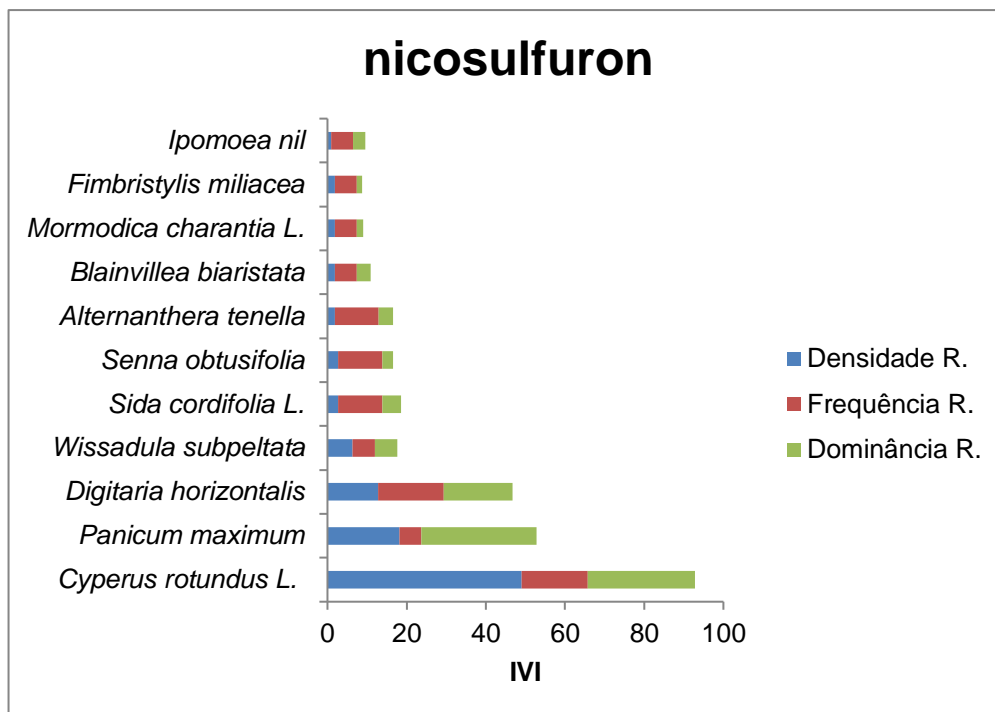


Figura 9. Histogramas representativos das estimativas de algoritmos que expressam o Índice de Valor de Importância (IVI) para o manejo nicosulfuron, de onze plantas daninhas de ocorrência nas parcelas experimentais avaliadas no genótipo UENF-14 de milho-pipoca.

Nota-se que as menores taxas do número de plantas daninhas podem ser verificadas nos tratamentos com as misturas dos herbicidas mesotrione + atrazina e nicosulfuron + atrazina (Figura 5 e 8), confirmando que a associação dos herbicidas é uma alternativa viável, concordando com Spader e Vidal (2001). Embora esta última associação seja consagrada no setor agrícola, há pouca disponibilidade de resultados científicos. A maioria dos trabalhos visa principalmente demonstrar a seletividade da associação à cultura do milho (Silva et al., 2005; Jakelaitis et al., 2005a; Rizzardi et al., 2008).

As plantas daninhas identificadas nesta pesquisa, pertencendo a maior parte à família Poaceae, que expressaram características fenológicas semelhantes às do milho-pipoca apresentaram magnitude mais elevada de IVIs.

Vale ressaltar a importância de tecnologias de aplicação como as dosagens precisas, a utilização de equipamentos regulados e calibrados, bem como o uso correto de herbicidas, o modo e mecanismo de ação dos produtos, a atividade residual, o registro para a cultura, o comportamento dos herbicidas no solo e

principalmente a época adequada de aplicação para se obter bons resultados de controle das plantas daninhas.

Com estes conhecimentos, pode-se aumentar a rentabilidade dos produtores por unidade de cultivo, garantindo elevada produtividade. Entretanto, somente com o uso adequado dos herbicidas, com menores perdas dos produtos e por decorrência de mínimas contaminações do meio ambiente, além de assegurar uma vida mais saudável para os consumidores.

#### 4.4 Componentes fisiológicos do milho-pipoca: Fluorescência da Clorofila (Experimento 2 - Casa de vegetação)

Houve interação significativa ( $p < 0,01$ ) entre data de aplicação e manejo de plantas daninhas para as variáveis fluorescência mínima ( $F_o$ ), eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ), complexo de liberação de  $O_2$  para o PSII ( $F_v/F_o$ ) e índice fotossintético ( $P_i$ ). Já o índice de verde (valores de SPAD), respondeu isoladamente de forma significativa sob o tempo após aplicação do herbicida, não apresentando efeitos de interação entre tempo e manejo (Tabela 8).

Tabela 8. Resumo do quadro de análise de variância, Quadrados Médios das características fluorescência mínima ( $F_o$ ), eficiência fotoquímica ( $F_v/F_m$ ), complexo de liberação de  $O_2$  para o PSII ( $F_v/F_o$ ), índice fotossintético ( $P_i$ ), índice de verde (valores de SPAD).

FV	GL	Quadrados Médios				
		$F_o$	$F_v/F_m$	$F_v/F_o$	$P_i$	Spad
Tempo	3	10501588**	0,153348**	3,8617**	4,347**	93,921*
Manejo	1	11595724**	0,284292**	19,1747**	36,238**	76,832 ,
Tem x Man	3	73779054**	0,179005**	6,8283**	7,089**	41,528ns
Resíduo	72	2025647	0,008618	0,3995	0,642	23,497
Média		6007,738	0,7221875	3,11883	1,9851	37,665
CV%		23,69032	12,85424	20,2651	40,358	12,8697

\*\* , \* e. Significativo a 1, 5 e 10% de probabilidade respectivamente. ns Não significativo pelo teste F.

A fluorescência mínima  $F_o$  apresentou diferença entre o milho pipoca cultivado sem aplicação do herbicida ao comparar ao milho-pipoca cultivado com



aplicação dos herbicidas misturados. Nota-se que a equação de regressão ajustou-se significativamente ( $p < 0,01$ ) ao modelo linear sob efeito dos diferentes dias, após aplicação ao longo do período experimental no milho-pipoca tratado com herbicida, mostrando que houve um incremento dos valores de  $F_o$  provocado pelas alterações estruturais nos pigmentos fotossintéticos do fotossistema II do qual este componente faz parte.

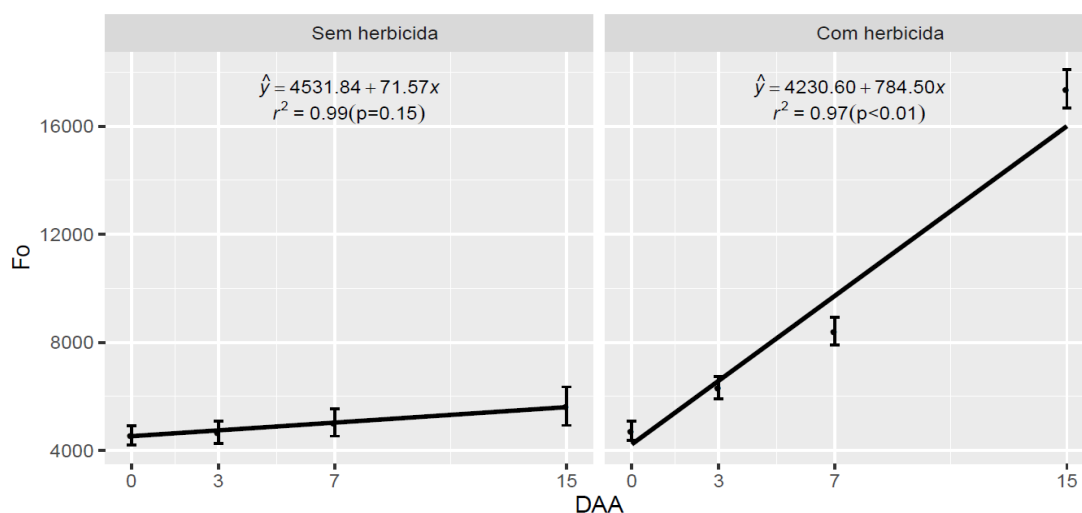


Figura 10. Fluorescência mínima ( $F_o$ ) em folhas de milho-pipoca sem e com os herbicidas mesotrione + atrazina sob efeito de diferentes dias após aplicação.

No controle, as plantas não apresentaram diferença significativa, mostrando que o aparelho fotossintético permaneceu sem danos ao centro de reações.

Aumentos de  $F_o$  podem ocorrer, mas quando há dano no centro de reação do fotossistema II, ou por uma redução na transferência de energia de excitação do sistema coletor de luz para o centro de reação (Mathis e Pallotin, 1981; Baker e Rosenqvist, 2004).

Todas as mensurações dos dados foram coletadas no mesmo horário da manhã, evitando-se possíveis alterações, pois estas variáveis estão mais relacionadas às mudanças de temperatura ao longo do dia.

Houve diferença no valor de  $(F_v/F_m)$  no tratamento mesotrione + atrazina a partir dos primeiros dias, sendo este significativo ( $p < 0,01$ ) ajustado ao modelo linear de regressão. Esta diferença entre o sem e o com herbicida se prolongou com maior modificação até aos quinze dias após aplicação dos herbicidas, não havendo recuperação da eficiência fotoquímica das folhas tratadas após os três dias de aplicação. Assim, aos quinze dias após aplicação, os valores de  $(F_v/F_m)$

ficaram muito abaixo da faixa adequada, que pode variar segundo Bolhàr-Nordenkamp et al, (1989), de 0,75 a 0,85 em plantas não submetidas a estresse, diferentemente do gráfico controle, não havendo significância ( $p=0,66$ ) de efeito entre os dias e se mantendo os valores na faixa apropriada.

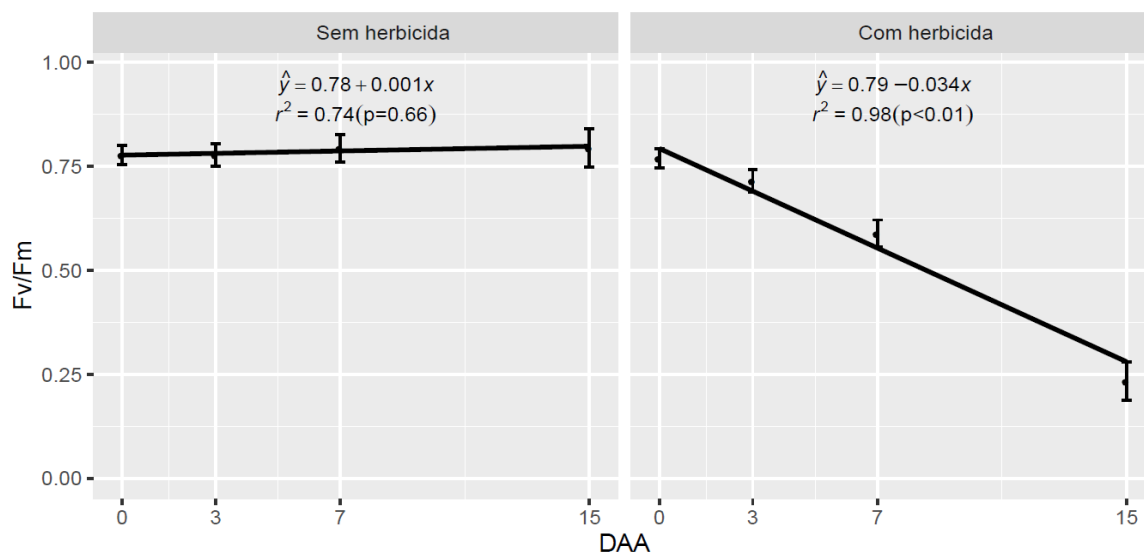


Figura 11. Eficiência fotoquímica (Fv/Fm) em folhas de milho-pipoca sem e com os herbicidas mesotrione + atrazina sob efeito de diferentes dias após aplicação.

As medições de emissão de fluorescência da clorofila demonstraram a fotoinibição crônica nas plantas de milho-pipoca, assim como demonstrado pela diminuição de (Fv/Fm), diante da resposta observada ao estresse. Contudo, sugere-se que a redução dos valores de (Fv/Fm) possa ter ocorrido devido a um ajuste fotoquímico, relacionado principalmente à diminuição do teor de clorofilas em nível foliar, observada por meio dos valores do índice indireto do teor de clorofilas no tratamento com estresse, levando, conseqüentemente, a uma redução na capacidade de captação de luz pelas plantas.

Para os diferentes dias após aplicação das misturas de herbicida, nota-se efeito significativo em todos os tempos para o complexo de liberação de  $O_2$  para o fotossistema II. Observando-se o efeito significativo ( $p<0,01$ ), com ajuste a equação de regressão ao modelo linear, apresentando um decréscimo acentuado na variável logo após primeiro tempo de aplicação do herbicida. Diferentemente do controle que não foi significativo ( $p=0,17$ ), ajustando-se a equação de regressão ao modelo linear apresentado nenhum efeito na variável com relação ao fotossistema II (Figura 12). Com isso, para os efeitos fisiológicos existe um certo limite de relação entre a

cultura e a molécula do herbicida, que pode ser ultrapassado, causando distúrbios, chegando a retardar o desenvolvimento ou até mesmo matar a cultura.

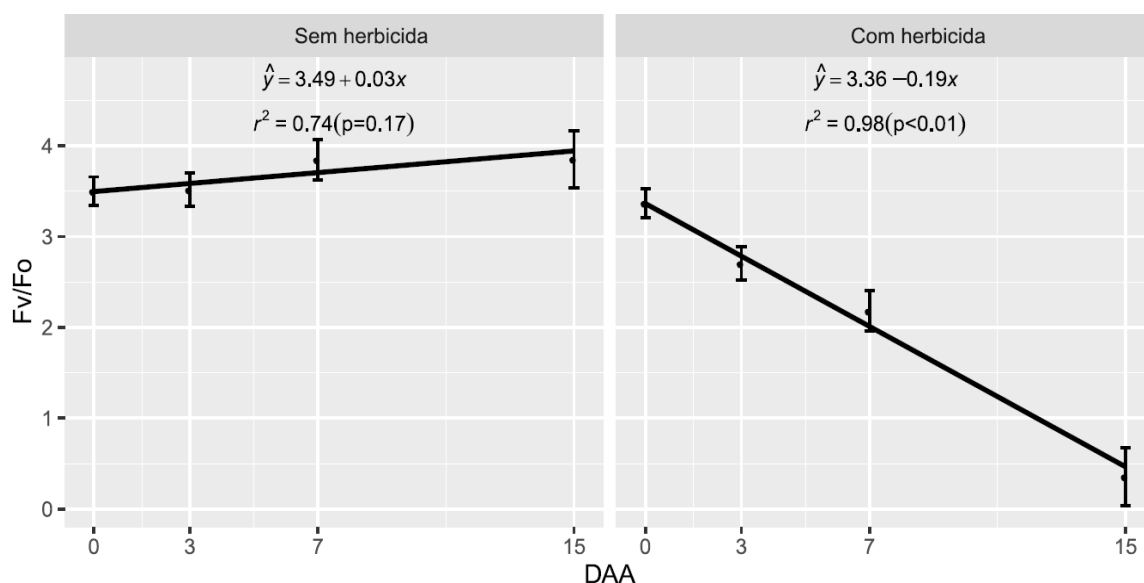


Figura 12. Complexo de liberação de O<sub>2</sub> para o PSII (Fv/Fo) em folhas de milho-pipoca sem e com os herbicidas mesotrione + atrazina sob efeito de diferentes dias após aplicação.

Nas plantas susceptíveis tratadas com mesotrione + atrazina, a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> declina em poucas horas após o tratamento com herbicida. Já no caso de plantas tolerantes, a taxa de fixação não cai a níveis tão baixos com retorno ao normal em poucos dias e nas sensíveis não ocorre recuperação. Nesse caso, essa taxa chega próximo de zero em 1 a 2 dias após aplicação.

Nos tratamentos com e sem herbicidas, os valores de Pi comportam-se de forma diferente. Somente no tratamento com herbicida, durante as medições dias após aplicação, houve efeito significativo ( $p < 0,01$ ), ajustando-se ao modelo linear. Assim, nos períodos sete, quatorze e vinte e um dias após aplicação, o tratamento com mesotrione + atrazina reduziu seus valores abaixo do esperado em relação ao controle, caracterizando ao longo do tempo que os valores de Pi proporcionaram uma deterioração do aparato fotossintético da planta sem demonstrar possíveis reações de recuperação das folhas de milho-pipoca.

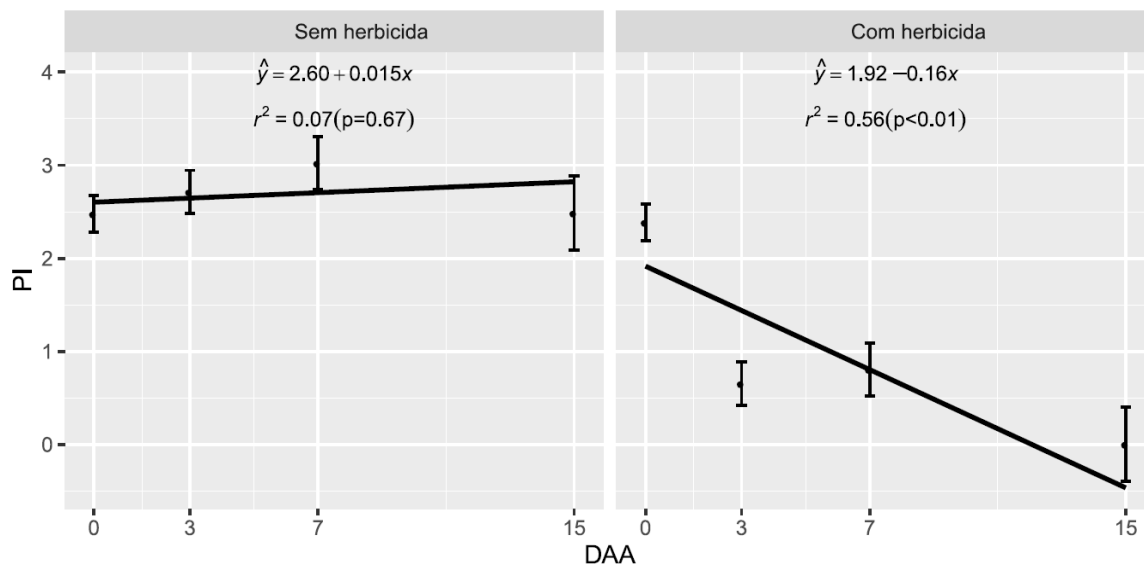


Figura 13. Índice fotossintético (Pi) em folhas de milho-pipoca sem e com os herbicidas mesotrione + atrazina sob efeito de diferentes dias após aplicação.

Estes resultados, além de ser uma característica a respostas do herbicida, podem ainda estar relacionados ao efeito do ambiente de cultivo, possuindo uma baixa umidade relativa e uma certa interceptação da luz solar, sabendo-se que as plantas de milho-pipoca com metabolismo fotossintético  $C_4$  apresentam elevadas taxas de crescimento em altas intensidades de luz, prejudicando assim, ainda mais a maquinaria fotossintética, não havendo uma melhoria sobre o estresse apresentado.

#### 4.5 Quantificação por espectrometria de massa e efeitos do mesotrione + atrazina na expressão de proteínas envolvidos na fotossíntese em plantas de milho pipoca:

A análise do proteoma de tecidos de interesse é um método direto de investigação de possíveis alterações imprevisíveis, devido à incorporação dos herbicidas no tecido foliar das plantas de milho-pipoca.

A adição de uma concentração conhecida de padrão interno nas amostras permite que seja feita a quantificação das proteínas em cada tratamento de diferentes dias após aplicação do herbicida. A concentração total de peptídeos na amostra pode ser aferida em cada tempo, comparando estas com o seu controle individualmente.

Essa quantificação dos peptídeos presentes nas amostras permite realizar a comparação entre as com controle sem herbicida e as tratadas com herbicida, a fim de se verificar como se dá a expressão das proteínas em cada uma delas nos seus respectivos tempos de avaliação. Esta análise de expressão possibilita identificar as proteínas que são diferencialmente expressas e as que são preferencialmente expressas em todas as amostras, confrontando as plantas sem e com herbicidas.

A concentração de proteínas caracteriza que nos tratamentos com três, sete e quinze dias após aplicação, houve uma quantidade maior de 22,96%, 17,6% e 21,51% respectivamente quando nesses mesmos tempos, comparado ao tratamento sem herbicida, possuindo neste último menor valor de proteínas, quando se trata de plantas que não são submetidas ao estresse. A maior concentração de proteínas encontrada foi no período de três dias após aplicação, apresentado mais de 5000.00 (ug/g), demonstrando que nesse tempo foi onde caracterizou maior efeito das proteínas na planta. Logo, ainda nas plantas tratadas com herbicida, essa concentração (ug/g) foi diminuindo com o passar dos dias, quando comparado com sete e quinze dias após aplicação.

A divisão de classes dentro da categoria função biológica (BLAST2GO) resultou no número de proteínas identificadas e em cada uma delas para amostra de herbicida/controle, sendo demonstrado na figura 14.

Analisando-se a figura 14, é possível notar algumas classes com diferenças significativas na quantidade de proteínas identificadas para amostra, como algumas dessas classes são importantes para o crescimento e desenvolvimento da planta. Essas diferenças podem indicar a presença de proteínas-chaves para a ocorrência e incremento de tal processo biológico sinalizando, assim, pontos a serem melhor explorados.

Um desses pontos de interesse são competentes da clorofila e carotenóides, já que os herbicidas agem sob efeito da luz solar com os processos biológicos, precursor metabólico e energia, fotossíntese e respostas ao estresse da molécula química com as folhas, apresentando maiores quantidades de proteínas identificadas no estudo com milho-pipoca.

Das proteínas encontradas no tratamento de herbicida/controle com quinze dias após aplicação, foram identificadas a quantidade de 133 proteínas entre sub e super expressas nas plantas de milho-pipoca, sendo elas subdivididas em 14 classes

nos seus respectivos grupos biológicos. Entre as 14 classes, nove foram estudadas separadamente com as maiores seqüências de proteínas, duas se destacam com maiores quantidades de proteínas encontradas no tratamento apresentado. Estas são relacionadas aos processos metabólicos de pequenas moléculas (18%) e aos processos metabólicos do composto nitrogenado celular (15%) (Figura 14). O nível de expressão das proteínas relacionado à classe com maior número de acesso foram as sub reguladas, apresentando 52% e 48% para as super reguladas na amostra apresentada.

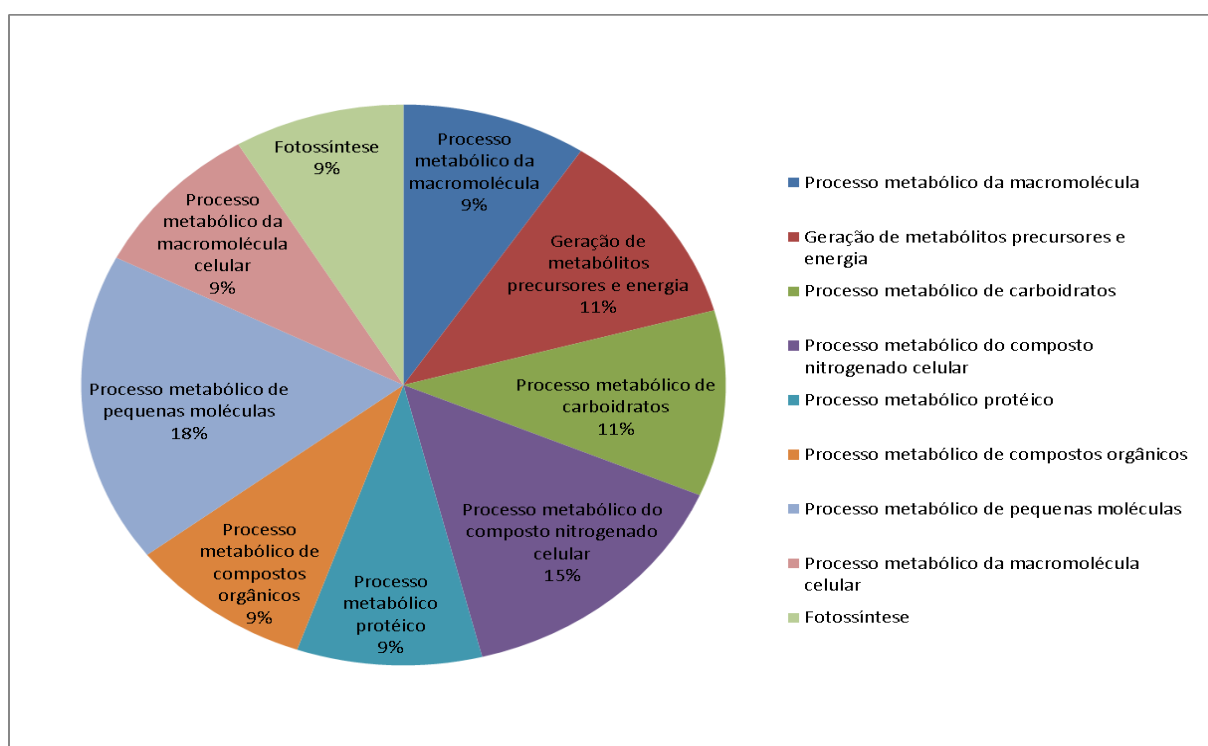


Figura 14. Classificação funcional das proteínas identificadas após 15 dias da aplicação do herbicida mesotrione + atrazina em relação ao controle nas plantas de milho-pipoca.

O Blast2go, por apresentar uma classificação abrangente gerada pelo programa, permitiu das proteínas uma visão muito generalizada de sua função, uma vez que se pesquisa uma correlação das mesmas com o processo de desenvolvimento da planta. Contudo, além dos bancos de dados, foi com a ajuda da literatura especializada que lidasse com o desenvolvimento vegetal, para

viabilizar melhor classificação específica, demonstrada na tabela 9 e que permitisse uma discussão mais aprofundada da importância dessas proteínas na aplicação de herbicidas pós-emergentes na cultura do milho-pipoca.

No tratamento com herbicida em relação ao controle aos quinze dias após aplicação, foi possível identificar 133 proteínas foliares com papéis relevantes na fisiologia vegetal, que serão abordadas de acordo com seu processo biológico. Foram identificados maiores números de proteínas nos grupos com funções relacionadas a processos fotossintéticos, metabólico de carboidratos e transdução de sinal, metabólitos precursores de energia, processo de modificação de proteínas celulares, etc. Entre todas as proteínas expressas identificadas no tratamento com o herbicida mesotrione + atrazina 68 (51,12%) foram consideradas como super regulada, enquanto que 65 (48,87%) das proteínas foram sub reguladas.

Os níveis de maior parte das proteínas relacionadas à fotossíntese detectadas no tratamento foram diminuídas com ação do herbicida indicando que a via de absorção de luz sofreu uma grave destruição, mas algumas delas foram aumentadas como a fosfoenolpiruvato carboxilase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase cloroplástica, clorofila a-b ligada CP24 cloroplástica, aconitato do tipo citoplasmático, cloroplastos ribossomal 50S. A diminuição do nível dessas proteínas pode levar a uma fotodegradação causada pela redução da absorção de luz com as proteínas potenciais da oxigenação cloroplástica, subunidade IV do centro de reação do fotossistema I e protoclorofila reductase. Os resultados obtidos indicaram redução na atividade fotossintética e isso está relacionado ao mecanismo da atrazina de ação sobre a proteína D1 de PSII (Chalifour et al., 2009, Didur et al., 2012), A inibição da fotossíntese induzida pela toxicidade da atrazina afeta todo o estado fisiológico e o processo de crescimento celular (Fai et al., 2007; Esperanza et al., 2015),

Neste estudo, a maioria das transcrições de proteínas foram significativamente sub reguladas (Tabela 9). Fato este que as proteínas ligadas a clorofila a / b funcionam na coleta e transferência de energia luminosa para os centros de reações do fotossistema I e II. Além disso, estas proteínas estão envolvidas na dissipação de luz e energia. Portanto, a coleta de luz por proteínas são componentes importantes da maquinaria fotossintética que otimizam a função fotoquímica, minimizando a foto-oxidação de danos em respostas à quantidade e a qualidade de luz (Stauber et al., 2003). A diminuição de nível do acesso B4FC27

em células de milho-pipoca, como mostrado na tabela 9, o mais sub regulado entre as proteínas no atual estudo pode estar relacionado ao mecanismo de ação do herbicida atrazina, que inibe o fotosistema II, diminuição da clorofila e sua fluorescência, além da ação do mesotrione, que por sua vez, tem efeito inibitório de carotenóides e o mesmo está sendo afetado no processo biológico da própria proteína.



Tabela 9: Proteínas identificadas no tratamento herbicida, em relação ao controle com características fotossintéticas

Acesso	Contagem de peptídeos	Score	Descrição	Processo Biológico	Sub Reg.	Super Reg.
A0A1D6GU53	26	328,2	Potenciador da oxigenação cloroplástica	Geração de metabólitos precursores e energia; fotossíntese;	1,756	
P04711	61	596,1	Fosfoenolpiruvato carboxilase	Processo metabólico de carboidratos; fotossíntese; Processo biossintético;		1,759
K7TPS7	4	35,06	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase cloroplástica	Processo catabólico; Processo metabólico do cofator; fotossíntese;		1,594
B4FL55	10	104,5	Clorofilas a-b ligadas ao cloroplasto,	Modificação de proteínas celulares; fotossíntese; biossintético; transporte;	1,68	
B6TH55	3	30,27	Subunidade IV do centro de reação do fotossistema I	Fotossíntese;	2,768	
B4FC27	10	84,16	Protoclorofila redutase	Metabólico de carboidratos; Metabólico do cofator; fotossíntese;	4,235	
Q41048	7	62,473	Potenciador de oxigênio 3-cloroplástico	Fotossíntese;	2,079	
P11601	4	48,161	Subunidade VII do fotossistema I (cloroplasto)	Geração de metabólitos precursores e energia; fotossíntese;	2,175	
B6T2W9	11	90,51	Cloroplastos lumenais tilacóides de 19 kDa	Fotossíntese;	1,71	
B6T037	7	68,49	Clorofila a-b ligada CP24 cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;	2,064	
B4FUA1	10	113,1	Clorofila a-b ligante cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;	2,044	
B6T892	4	38,015	Clorofila a-b ligante cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;	2,628	

Cont. Tabela 9

Acesso	Contagem de peptídeos	Score	Descrição	Processo Biológico	Sub Reg.	Super Reg.
K7TWD9	7	64,16	Clorofila a-b ligante cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;	1,595	
B4FXB0	5	40,47	Clorofila a-b ligada CP24 cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;		2,717
A0A1D6PJL0	18	124,6	Aconitato do tipo citoplasmático	Processo catabólico; transporte; Resposta ao estresse;		1,52
B4FBY4	5	35	Cloroplastos contendo domínios do tipo rhodanese	Organização de membrana; Processo catabólico; proteína	1,512	
B6TEI9	4	36,22	Subunidade IV do centro de reação do photosistema I	Fotossíntese;	2,648	
K7VDQ6	9	53,93	chloroplast stem-loop binding of 41 kDa chloroplastic	Metabólico do cofator e de lipídeos; Diferenciação celular; fotossíntese		1,511
B6TR16	4	39,89	Fotossistema I subunidade centro de reação cloroplástica	Processo metabólico de carboidratos;	1,726	
B6SUC4	14	169,2	Clorofila a-b ligante cloroplástica	Processo de modificação de proteínas celulares; fotossíntese;	1,949	
B6SUH9	5	30,75	Cloroplastos que contêm domínio psbP	Fotossíntese;	2,168	
A0A1D6HS38	17	171,6	Potenciador da oxigenação cloroplástica	Fotossíntese;	2,891	
C0P6L9	2	12,47	Cloroplastos Ribossomal 50S	Modificação de proteínas celulares; Biogénese de ribossomas;		1,717
B6STG2	3	24,28	Fotossistema I subunidade centro de reação cloroplástica	Reprodução; Resposta ao estresse; tradução; fotossíntese, Geração de metabólitos precursores e energia; fotossíntese; transporte;	2,19	

Analisando-se os sintomas de fotoxidez das plantas de milho-pipoca na casa de vegetação, observou-se que aos quinze dias após aplicação dos herbicidas mesotrione + atrazina, houve uma intoxicação. A seletividade do mesotrione deve-se à taxas diferenciais de metabolismo e dependente de espécies (O'Sullivan et al., 2002, Wichert RA et al., 1999). A eficácia do mesotrione varia com a umidade e a temperatura (Johnson e Young et al., 2002). No entanto, os efeitos da irradiância sobre a eficácia do mesotrione são poucos conhecidos. O mesotrione pode limitar a capacidade da planta tratada com herbicida em suportar altas condições de irradiação devido à inibição da biossíntese de carotenóides.

A fotossíntese é um alvo importante da mistura de herbicida mesotrione + atrazina, que apresenta fortes efeitos inibitórios sobre biossíntese de carotenóides, inibição do fotossistema II, reações do fotossistema I e resultados sobre o NAPH, sendo esta molécula como uma das mais importantes vias metabólicas em organismos fotossintéticos. A transformação da energia solar e em energia química para o crescimento das plantas, chamado de fotossíntese, pode ser interrompido em circunstância desfavorável, como uso de herbicidas, entre outros, o que pode sim, influenciar as plantas as desenvolverem diversas fotoproteções ou mecanismos para lidar com essas tensões, evitando movimentos como sistemas reativos de eliminação de espécies reativas de oxigênio, transferência de elétrons, via de fotorespiratória, etc. Certamente, a possível produção de espécies reativas de oxigênio como principal dano, relatada anteriormente, pode estar relacionada ao mecanismo de ação da atrazina, pois este herbicida bloqueia a transferência de elétrons fotossintéticos para a plastoquinona com possível manifestação de clorose nas plantas tratadas.

## 5 RESUMO E CONCLUSÕES

Foram conduzidos dois experimentos, sendo um no município de Cambuci – RJ, na estação experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Fluminense e o outro na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP) do CCTA, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes-RJ. O objetivo do trabalho foi avaliar seis tipos de manejo de plantas daninhas na cultura do milho-pipoca e seus efeitos no comportamento desta cultura.

No primeiro experimento, foi adotado o delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram compostos por seis manejos de plantas daninhas: com capina; sem capina; mesotrione + atrazine ( $192 \text{ g ha}^{-1}$  i,a, +  $1200 \text{ g ha}^{-1}$  i,a.); mesotrione ( $192 \text{ g ha}^{-1}$  i,a.); nicosulfuron + atrazine ( $60 \text{ g ha}^{-1}$  i,a, +  $1200 \text{ g ha}^{-1}$  i,a.); nicosulfuron ( $60 \text{ g ha}^{-1}$  i,a.). Avaliaram-se as condições fisiológicas das plantas de milho-pipoca aos 0, 7, 14, 21 dias após aplicação dos herbicidas, a produtividade, bem como a altura de plantas (ALT), altura de espiga (AE), número de fileira de grãos (NFG), número de grãos por fileira (NGF), massa de espiga (ME), comprimento de espiga (CESP), diâmetro de espiga (DE), número de espiga (NE), massa de 100 grãos (M100), rendimento de grãos (REND) e capacidade de expansão (CE). Efetuou-se também estudo fitossociológico nas áreas de cada manejo de plantas daninhas.

No segundo experimento, em casa de vegetação, onde aplicou-se o melhor manejo do campo (mesotrione + atrazine, 192 g ha<sup>-1</sup> i.a. + 1200 g ha<sup>-1</sup> i.a.) e o outro tratamento na ausência de herbicida, constituiu-se da avaliação das plantas de milho-pipoca em relação à análises fisiológicas e proteicas, verificando o comportamento da cultura quando em contato com as moléculas dos herbicidas. Neste experimento foi empregado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Avaliaram-se as condições fisiológicas de milho-pipoca aos 0, 3, 7 e 15 dias após aplicação dos herbicidas, com posterior análise proteômica.

Com os resultados obtidos nos dois experimentos, permite-se as seguintes conclusões:

- O número de espigas (NE) e o rendimento de grãos (REND) foram maiores no tratamento mesotrione + atrazine em relação à produtividade do milho-pipoca com médias de 20,208 unidades e 435,533 kg ha<sup>-1</sup> respectivamente.
- Todos os herbicidas causaram danos no aparelho fotossintético das plantas de milho-pipoca, nos quais houve uma recuperação, a partir de 14 dias após aplicação, indicando que os herbicidas foram seletivos.
- O manejo capinado e o manejo com mesotrione + atrazine foram os que proporcionaram maiores controles de plantas daninhas.
- A espécie de planta daninha que apresentou o maior índice de valor de importância nos tratamentos estudados foi o capim-colonião (*Panicum maximum*).
- As principais espécies de plantas daninhas identificadas foram as *C. rotundus* e *P. maximum*.
- As misturas dos herbicidas mesotrione + atrazine e nicosulfuron + atrazine não controlaram as espécies *Sidastrum micranthum*, *C. rotundus* e *P. maximum*.
- A mistura mesotrione + atrazine reduziu a eficiência fotoquímica das plantas de milho-pipoca ficando abaixo de 0,75, o que indica um mau funcionamento do fotossistema II e que ocorreu dano no aparato fotossintético da cultura.
- A diminuição dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* indicou que o complexo-antena foi danificado na aplicação dos herbicidas

(mesotrione + atrazina), diminuindo o fluxo de energia na cadeia transportadora de elétrons e a fase fotoquímica da fotossíntese.

- Nas análises proteômicas, foi possível identificar diversas proteínas relacionadas à fotossíntese, vários processos metabólicos e de transporte expressas em condições de efeito do herbicida com maior quantidade das proteínas sub expressas na relação herbicida/controle.
- Por características dos herbicidas seletivos e com seu dano localizado no aparato fotossintético, o milho pipoca pode metabolizar suas moléculas tornando-as inativas, mas, para isso muitos metabólicos primários, juntamente com proteínas sinalizadoras e suas vias são também alterados na presença do efeito abiótico e isso pode variar de acordo com a tolerância da planta e a intensidade do estresse imposto.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adati, C.; Oliveira, V.A., Karam, D. (2006) Análise matemática e Biológica dos modelos de estimativa de perdas de rendimento na cultura devido à interferência de plantas daninhas. *Planta daninha*, 24(1): 1-12.
- Agrianual. (2015) *Anuário da Agricultura Brasileira*. FNP consultoria & comércio, M&S Mendes & Scotini. Editora FNP, 521p.
- Almeida, D.L., Santos, G.A., De Polli, H. et al,(1988). *Manual de adubação para o Estado do Rio de Janeiro*. nº2 Editora Universidade Rural. Itaguaí, RJ. 178p.
- Araújo, S.A. do C., Deminiciis, B.B. (2009) Fotoinibição e fotossíntese. *Revista Brasileira de Biociências*. Porto Alegre. 7(4): 463-472.
- Ashoton, F.M., Mônaco, T.J. (1991). *Weed science*. New York: John Wiley. 466p.
- Baker, N.R. (1991) A possible role for Photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 81:563-570.
- Baker, N.R., Rosenqvist, E.(2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal Experimental Botany*, Oxford, 55:1607-1621.
- Beaudegnies, R., Edmunds A.J.F, Fraser, T., Hall, R.G., Hawkes, T.R., Mitchell, G., Schaetzer, J., Wendeborn, S., Wibley, J, (2009) Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors— a review of the triketone

- chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17:4134–4152.
- Bjellqvist, B., Ek, K., Righetti, P.G., Gianazza, E., Görg, A., Westermeier, R., Postel, W. (1982) Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 6(4): 317-339.
- Bjorkman, O., Demming, B. (1987) Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170:61-66.
- Blazewicz-Wozniak, M., Konopinski, M. (2012). The influence of intercrop plants and the date of their ploughing-in on weed infestation of root chicory (*Cichorium intybus* L.) var. *sativum* (Bisch.) Janch. *Acta Agrobotanica* 62(1):137-146.
- Bolhar-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R., Öquist, G., Schreider, U., Lechner E.G. (1989) Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. *Functional Ecology*, 3:497-514.
- Brighenti, A.M. (2001) Biologia de plantas daninhas. In: Oliveira Júnior, R.S., Constantin, J. *Plantas Daninhas e seu Controle*. Ed. Guaíba: Agropecuária. Cap. 3, p.15-57.
- Brunson, A.M. (1937) Popcorn breeding. *Yearbook Agricultural*, 1: 395-404
- Bullied W.J., Bullock P.R., Van Acker R.C. (2012). Modelling soil water retention for weed seed germination sensitivity to water potential. *Applied & Environmental Soil Science* pp 1-13.
- Calderan-Rodrigues, M.J., Jamet, E., Bonassi, M.B., Guidetti-Gonzalez, S., Begossi, A.C., Setem, L.V., Franceschini L.M., Fonseca, J.G., Labate, C.A. (2014) Cell wall proteomics of sugarcane cell suspension cultures. *Proteomics*, 14(6): 738–749.
- Carpentieri-Pípolo, V., Takahashi, H.W., Endo, R.M., Petek, M.R., Seifert, A.L. (2002) Correlações entre caracteres quantitativos em milho pipoca. *Horticultura Brasileira*, 20(4): 551-554.
- Chalifour, A., Spear, P.A., Boily, M.H., DeBlois, C., Giroux, I., Dassylva, N., Juneau, P., 2009. Assessment of toxic effects of pesticide extracts on different green algal species by using chlorophyll a fluorescence. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 91: 1315–1329.



- Chen, S., Harmon, A.C. (2006) Advances in plant proteomics. *Proteomics*, 6(20): 5504-5516.
- Chiovato, M.G., Galvão, J.C.C.; Fontanétti, A., Ferreira, LR., Miranda, G.V., Rodrigues, O.L., Borba, A.N. (2007). Diferentes densidades de plantas daninhas e métodos de controle nos componentes de produção do milho orgânico. *Planta daninha*, 25(2): 277-283.
- Christen, D., Schönmann, S., Jermini, M., Strasser, R.J., Défago, G. (2007) Characterization and early detection of grapevine (*Vitis vinifera*) stress 112 responses to esca disease by *in situ* chlorophyll fluorescence and comparison with drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 60: 504–514.
- Christoffoleti, P.J.; Mendonça, C.G. (2001) Controle de plantas daninhas na cultura do milho: enfoque atual. In: Fancelli, A.L., Dourado-Neto, D. (Coord.) Milho: tecnologia e produtividade. ESALQ/LPV, p.60-95.
- Christoffoleti, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 1., Dourados: EMBRAPA, 1997. p. 75-94.
- Cole, D.J. (1994) Detoxification and activation of agrochemicals in plants. *Pesticide Science*. 42: 209-222.
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J.M., Terol, J., Talón, M., Robles, M. (2005). Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18): 3674-3676.
- Cruz, J. C., Pereira Filho, I. A., Corrêa, L. A. (2004) *Manejo Cultural do Milho-pipoca*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular Técnica nº 42 – EMBRAPA. Sete Lagoas, MG.
- Damerval, C., Vienne, de D., Zivy, M., Thiellement, H. (1986) Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*, 7: 52–54.
- Demétrio, C. S., Fornasieri Filho, D., Cazetta, J.O., Cazetta, D. A. (2008) Performance of maize hybrids submitted to different row spacing and population densities. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 43(12): 1691-1697.
- Didur, O., Perreault, F., Oukarroum, A., Dewez, D., Popovic, R. (2012) Alteration of photosystem II activity by atrazine on *Chlamydomonas reinhardtii*

- synchronized and asynchronized cell cycle cultures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 94: 906–917.
- EMBRAPA Milho e Sorgo (2006) *Sistema de Produção*. Versão eletrônica – 2a edição: <[http://www.sistemaproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho\\_2ed/plantasdaninhas.htm](http://www.sistemaproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/plantasdaninhas.htm)> acesso 2015.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1999) *Centro Nacional de Pesquisa de Solo. Sistema Brasileiro de classificação de solos*. Brasília – DF, 412p.
- Esperanza, M., Seoane, M., Rioboo, C., Herrero, C., Cid, Á., (2015) Chlamydomonas reinhardtii cells adjust their metabolism to maintain viability in response to atrazine stress. *Aquatic Toxicology*, 165: 64–72.
- Estorninos, J.L.E., Gealy, D.R., Gbur, E.E., Talbert, R.E., McClelland, M.R., (2005). Rice and red rice interference. II. Rice response to population densities of three red rice (*Oryza sativa*) ecotypes. *Weed Sci.* 53. 683e689.
- Fahad, S., Hussain, S., Saud, S., Hassan, S., Muhammad, H., Shan, D., Chen, C., Wu, C., Xiong, D., Khan, S.B., Jan, A., Cui, K., Huang, J., Zwerger, P., (2014). Consequences of narrow crop row spacing and delayed *Echinochloa colona* and *Trianthema portulacastrum* emergence for weed growth and crop yield loss in maize. *Weed Res.* 54. 475e483.
- Fai, P.B. Grant, A., Reid, B. (2007) Chlorophyll a fluorescence as a biomarker for rapid toxicity assessment, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(7): 1520–1531.
- Fletcher, R.S., Reddy, K.N. (2016). Random forest and leaf multispectral reflectance data to differentiate three soybean varieties from two pigweeds. *Computers and Electronics in Agriculture* 128:199-206.
- Foloni, L. L. (2002) Callisto® (Mesotrione) – um novo herbicida pós-emergente para a cultura do milho (*Zea mays* L.). In: *CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23. Anais...* Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, p. 308.
- Freitas Junior, S.P., Amaral Junior, A.T., Rangel, R.M., Viana, A.P. (2009). Genetic gains in popcorn by full-sib recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Londrina, 9(1): 1-7.

- Galvão, J.C.C., Sawazaki, E., Miranda, G.V. (2000) Comportamento de híbridos de milho pipoca em Coimbra, Minas Gerais. *Revista Ceres*, Viçosa, 47 (270): 201–218.
- Gantoli, G., Ayala, V.R., Gerhards, R., (2013), Determination of the critical period for weed control in corn. *Weed Technol.* 27, 63 e 71.
- Gassen, D.N. (2002) O risco da mistura de herbicida com inseticida em milho. *In: Gassen, D.N. (ed.) Informativos técnicos Cooplantio*. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, p. 125-128.
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R. (1989) The relationship between quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 990(1): 87-92.
- Gomes, F.P. (1990) *Curso de estatística experimental*. 13 ed, Piracicaba: São Paulo, USP/ESALQ, 468p.
- Goodnam, M.M., Smith, J.S.C. (1987) Botânica *In: Paterniani, E., Viegas, G.P. (eds.) Melhoria e produção de milho*. Campinas, Fundação Cargil, 1:41-78.
- Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias - GCEA/IBGE (2015) Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.
- Haehnel, W. Photosynthetic electron-transport in higher-plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.35, p.659-693, 1984.
- Hatzio, K.K., Penner, D. (1982) *Metabolism of herbicides in higher plants*. Minneapolis: Burgess, 142p.
- Hawkes TR, Holt DC, Andrews CJ, Thomas PG, Langford MP, Hollingworth S, Mitchell G (2001) Mesotrione mechanism of herbicidal activity and selectivity in corn. Volume 2. Pages 563–568 in BCPC Proceedings—Weeds, British Crop Protection Council Brighton, UK: British Crop Protection Council
- He, Y., Liu Z, Zhang J, Wang H, Shi J, Xu J (2011). Can assessing for potential contribution of soil organic and inorganic components for butachlor sorption be improved? *Journal of Environmental Quality* 40(6):1705-1713.
- Hendry, G.A.F., Price, A.H. (1993) Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. *In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (eds.) Methods in comparative plant ecology*. London: Chapman e Hall, p.148 -152.

- IBGE, *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/default.php>. Acesso em 2014.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. (2016) disponível em: <http://www.inmet.gov.br/sonaBra/dBRegSonaBra.php?codEst=A607&dtaini=07/02/2009&dtafim=07/02/2009&SuBmit=Pesquisar>. Acessado em: 30/08/2016.
- Jakelaitis, A., Silva, A.A., Ferreira, L.R., Silva, A.F., Pereira, J.L., Viana, R.G.(2005a) Efeitos de herbicidas no consórcio de milho com *Brachiariabrizantha*. *Planta Daninha*, 23(1): p.69-78.
- Jakelaitis, A.; Silva, A.F.; Silva, A.A.; Ferreira, L.R.E.; Vivian, R. (2005) Controle de plantas daninhas na cultura do milho pipoca com Herbicidas aplicados em pós emergência. *Planta Daninha*, 23(3): 509-516.
- Jelonkiewicz, M., Borowy, A. (2009). Growth and yield of cucumber under no-tillage cultivation using rye as a cover crop. *Acta Agrobotanica*62(1):147-153.
- Jiang, C. D., Gao, H.Y., Zou, Q., Jiang, G.M., Li, L.H. (2006) Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environmental and Experimental Botany*,55: 87-96.
- Johnson, B.C., Young B.G.(2002)Influence of temperature and relative humidity on the activity of mesotrione. *Weed Science*, 50: 157–161.
- Karam, D., Melhorança, A.L. (2007). Plantas Daninhas. *In*: Cruz, J.C., Versiani, R.P., Ferreira, M.T.R. (Ed.). *Cultivo do milho*. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo. Sistema de produção. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicações/milho/plantasdaninhas/html>>, Acesso em 28 nov. 2015.
- Karam, D.; Melhorança, A. L. Embrapa Milho e Sorgo: *Sistema de Produção. Apresenta informações técnicas à respeito do manejo de plantas daninhas no sistema de cultivo de milho (Zea mays L.)*. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/plantasdaninhas/htm>> Acesso em: 14 jul. 2004.
- Kiec, J., Wieczorek, D. (2009). Badania nad przydatnością wyciągów i wywarów roślinnych do zwalczania komosy białej [The research on the usefulness of plant extracts and decoctions to fight the white goosefoot]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roslin* 49(1):371-377.

- Komorowska, A., Wrzesinska, E., Bochynski, P. (2012). Allelopathic potential of water extracts from weeds towards plover of the winter wheat and the rye. *Folia Pomeraniae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria Piscaria et Zootechnica* 296(23):43-52.
- Krause, G.H., Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:313- 349.
- Larish, L.L.B., Brewbaker, J.L. (1999) Diallel analyses of temperate and tropical popcorns. *Maydica*, Bergamo, 44: 279-284.
- Lavras: UFLA, 2002.66 p. Apostila.
- Lee, D.L., Knudsen, C.G., Michaely, W.J., Chin, H.L., Nguyen, N.H., Carter, C.G., Cromartie, T.H., Lake, B.H., Shribbs, J.M., Fraser, T. (1999) The structure–activity relationships of the triketone class of HPPD herbicides. *Pest Management Science*, 54:377–384.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Doll, M., Fietz, H.-J., Bach, L., Kozel, U., Meier, D., Rahmsdorf, U. (1981) Photosynthetic Activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research*. 2: 115-141.
- Linares, E. (1987) *Seleção recorrente recíproca em famílias de meio-irmãos em milho-pipoca (Zea mays L.)*. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas), Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, 78p.
- Lira, M.A. (1983) *Seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos para produção e capacidade de expansão e correlações entre alguns caracteres em milho pipoca (Zea mays L.)* Tese (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 63p.
- López-Ovejero, R.F., Fancelli, A.L., Dourado-Neto, D., García Y García, A.E., Christoffoleti, P.J. (2003) Seletividade de herbicidas para a cultura de milho (Zea mays) aplicados em diferentes estádios fenológicos da cultura. *Planta Daninha*, 21(3): 413-419.
- Lorenzi, H. (2008) *Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 4 ed. 640p.
- Ma, R., Kandun, S.S., Tranel, P.J., Riggins, C.W., McGinness, D.L., Hager, A.G., Hawkes, T., McIndoe, E., Riechers, D.E. (2013) Distinct detoxification

- mechanisms confer resistance to mesotrione and atrazine in a population of waterhemp. *Plant Physiology*, 163(1):363–377
- Macak, M., Zak, S., Djalovic, I., Szombathova, N, (2008). The influence of an ecological and low input systems on weed density, weed diversity and weed competition on spring barley. *Journal of Plant Diseases and Protection* 21:425-430.
- Macgillivray, A.J., Wood, D.R.(1974) The Heterogeneity of Mouse-Chromatin Nonhistone Proteins as Evidenced by Two-Dimensional Polyacrylamide-Gel Electrophoresis and Ion-Exchange Chromatography. *European Journal of Biochemistry*, 41(1): 181-190.
- Mathis, P., Pallotin, G.(1981) Primary process of photosynthesis. In: HATCH, M.D., BOARDMAN, N. K. (Ed.). *The biochemistry of plants*. New York: Academic Press. p.97-161.
- Maxwell, K., Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51 (345): 659-668.
- McCurdy, J.D., McElroy, J.S., Kopsell, D.A., Sams, C.E. (2009) Mesotrione control and pigment concentration of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) under varying environmental conditions. *Plant Management Science*, 65:640–644
- Mitchell, G., Bartlett, D.W., Fraser, T.E.M., Hawkes, T.R., Holt, D.C., Townson, J.K., Wichert, R.A. (2001) Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science*, 57: 120-128.
- Mouget, J., Tremblin, G. (2002) Suitability of the fluorescence monitoring system (FM, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. *Aquatic Botany*, 74:219-231.
- Müeller-Dombois, D., Ellenberg, H.A. (1974) *Aims and methods of vegetation ecology*. New York - USA: John Wiley, 547p.
- Nalini, K., Murhukrishnan, P., Chinnusamy, C., Vennila, C. (2015). Weeds of cotton – A Review. *Agricultural Research Communication Centre* 36(2):140-146.
- Nanjo, Y., Skultety, L., Uvać kova, L., Klubicova, K., Hajduch, M., Komatsu, S.(2012) Mass spectrometry-based analysis of proteomic changes in the root tips of flooded soybean seedlings. *Journal of Proteome Research*. 11(1): 372–385.
- Narwal, S.S. (2004) Allelopathy in crop production, Scientific Publishers, Jodhapur, India pp. 326-332.

- Neto, J.B.D., Raimundo, A., Andrade J, C., Silva, L. M., Gomes, L, C., Nogueira Júnior, N. (2003) Avaliação da Seletividade dos Herbicidas: Bentazon; Atrazine; Alachlor + Atrazine e Atrazine + Metolachlor Utilizados em Pós-Emergência, sobre a Cultura do Milho (*Zea mays*) Cargil 32. *Revista científica eletrônica de agronomia*. 5p.
- Netto, A.T., Campostrini, E., Oliveira, G.J., Bressan-Smith, R. (2005) Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, 104:199-209.
- O'sullivan, J., Zandastra, J., Sikkema, P.(2002) Sweet corn (*Zea mays*) cultivar sensitivity to mesotrione. *Weed Technology*, 16(2): 421-425.
- O'farrell, P.H.(1975)High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 250(10): 4007-4021.
- Ogliari, J, Freitas S.P., Ramos, A.C., Bressan-Smith, R.E., Façanha, A.R.(2009) Proton transport primary systems used as mechanisms of mesotrione detoxification in corn plants. *Planta Daninha*, 27(4): 799–807.
- Oliveira Júnior, R.S. (2001). Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. *In: Oliveira Júnior, R.S., Contantin, J. (Coords.). Plantas daninhas e seu manejo*. Guaíba. Agropecuária, p. 219-314.
- Ouzounidou, G., Moustakas, M., Strasser, Rj. (1997) Sites of action of copper in the photosynthetic apparatus of maize leaves: Kinetic analysis of chlorophyll fluorescence, oxygen evolution, absorption changes and thermal dissipation as monitored by photoacoustic signals. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24:81-90.
- Paixão, S.L., Cavalcante, M., Ferreira, P.V., Da Silva Madalena, J.A.; Pereira, R.G. (2008) Divergência genética e avaliação de populações de milho em diferentes ambientes no estado de Alagoas. *Revista Caatinga*, 21(4): 191-195.
- Pandey, S., Asthana, R.K., Kayastha, A.M., Singh, N., Singh, S.P. (1999) Metal uptake and thiol production in *Spirodela polyrhiza* (L.) SP[20]. *Journal of Plant Physiology*. 154: 634-640.
- Pathre, U., Mohanty, P. Eds. *Taylor & Francis*, London, Chapter.25:445-483.
- Pitelle, R.A., Pitelle, R.L. de C.M. (2004) Biologia das plantas daninhas. *In: VARGAS, L., ROMAN, E.S. (Ed.). Manual de manejo e controle de plantas daninhas*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, cap.2, p.29-55.

- R CORE TEAM (2014), R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rangel, R.M., A.T., Scapim, C.A., Freitas Júnior, S.P., Pereira, M.G. (2008) Genetic parameters in parents and hybrids of circulant diallel in popcorn. *Genetics and Molecular Research*. 7(4): 1020-1030.
- Ribeiro, R.M., Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Candido, L.S., Silva, T.R., Pena, G.F. (2012) Genetic progress in the UNB-2U population of popcorn under recurrent selection in Rio de Janeiro. *Genetics and Molecular Research*, 11(2): 1417-1423.
- Rizzardi, M.A., Zanatta, F.S., Lamb, T.D., Johann, L.B. (2008) Controle de plantas daninhas em milho em função de épocas de aplicação de nitrogênio. *Planta Daninha*, 26(1): 113-121.
- Rodrigues, B.N., Almeida, F.S. (2005) *Guia de herbicidas*. 5.ed. Londrina: Edição dos autores. 648p.
- Rogowska-Wrzesinska, A., Le Bihan, M.C., Thaysen-Andersen, M., Roepstorff, P. (2013) 2D gels still have a niche in proteomics. *Journal of Proteomics*, 88: 4-13.
- Rossignol, M., Peltier, J. B., Mock, H. P., Matros, A., Maldonado, A., Jorrín, J. V. (2006) Plant proteome analysis: A 2004– 2006 update, *Proteomics*, 6(20): 5529–5548.
- Ruedell, J. A. (1995) *Plantio Direto na Região de Cruz Alta*. Cruz Alta, RS: Fundação Centro de Experimentação e Pesquisa Fecotriga – FUNDACEP, 133p.
- Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho pipoca no Brasil. *O Agrônomo*, (2): 11-13.
- Sawazaki, E., Fantin, G.M., Dudienas, C., Castro, G.de. (2003) Resistência de genótipos de milho-pipoca a doenças. *Revista de Agricultura*, 78(1): 149-164.
- Schluter, H., Apweiler, R., Holzhutter, H-G., Jungblut, P.R. (2009) Finding one's way in proteomics: a protein species nomenclature. *Chemistry Central Journal*, 3(11): 11.
- Schreiber, U., Schliwa, U., Bilger, W. (1986) Continuous recording of photochemical and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Research*, 10 (1): 51-62.



- Senseman, S.A. *Herbicida Handbook*. (2007) 9 ed. Lawrence: WSSA, 458p.
- Shioga, P.S., Gerage, A.C. (2010) Influência da época de plantio no desempenho do milho safrinha no estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 9(3): 236-253.
- Silva Júnior, J. do B.F., (2008). *Interação milho-Herbaspirillum seropedicae: Seleção de estirpes, resposta fisiológica e promoção do crescimento em genótipos submetidos à seca*. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Brasil, 93p.
- Silva, A.A. et al. Aplicações seqüenciais e épocas de aplicação de herbicidas em mistura com chlorpirifos no milho e em plantas daninhas. *Planta Daninha*, v.23, n.3, p.523- 527(2005).
- Silva, A.A., Silva, J.F., Ferreira, F.A., Ferreira, L.F., Silva, J.F. (2000) Curso de Especialização por Tutoria à Distância. Módulo 3.1. – *Controle de Plantas Daninhas*. ABEAS. Brasília – DF.
- Silva, A.A.; Silva, J.F., (2007). *Tópicos em manejos de plantas daninhas*. Editora UFV. 1ª ed.
- Silva, F.F., Viana, J.M.S., Faria, V.R., Resende, M.D.V. (2013) Bayesian inference of mixed models in quantitative genetics of crop species. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(7): 1749-1761.
- Silva, F.M.L., Abreu, M.L. de., Brachtvogel, E.L., Curcelli, F., Gimenes, M. J., Lara, A.C.C. (2009) Moléculas de herbicidas seletivos à cultura da mandioca. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, 3(2): 61-72.
- Silva, M.M.P., Vasquez, H.M., Bressan-Smith, R., Silva, J.F.C., Erbesdobler, E.D., Andrade Junior, P.S.C. (2006) Eficiência fotoquímica de gramíneas forrageiras tropicais submetidas a deficiência hídrica, *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35 (1): 67-74.
- Sorensen, T. A. Method of stablishing groups of equal amplitude in plant society based on similarity of species content. In: ODUM, E. P. **Ecologia**. 3.ed. México: Interamericana, 1972. p. 341-405.
- Souza, A.P. de., Ferreira, F.A., Silva, A.A. da., Cardoso, A.A., Ruiz, H.A. (2000) Uso da equação logística no estudo de dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. *Planta Daninha*, 18(1): 17-28.
- Souza, I. F. de. **Plantas daninhas: Manejo integrado e ação de herbicidas**.

- Stauber, E.J., Fink, A., Markert, C., Kruse, O., Johanningmeier, U., Hippler, M. (2003) Proteomics of *Chlamydomonas reinhardtii* light-harvesting proteins. *Eukaryotic Cell*, 2, 978–994.
- Stirbet A., Govindjee. (2011) On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104:236–257.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterise and screen Photosynthetic Samples. *In: Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*, Yunus, M.
- Strasser, R.J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. *In: Papageorgiou, G., Govindjee (Eds.), Advances in Photosynthesis and Respiration*. Vol. 19: Chlorophyll fluorescence: a Signature of photosynthesis. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands, p. 321–362.
- Sturm, D.J., Roland, G. (2016). Comparison of different cover crop mulches and extracts on inhibition of crop and weed growth. *Julius-Kuhn- Archiv* 452:424-430.
- Swanton, C. J.; Weise, S. F. (1991) Integrated Weed Management. *Weed Technology*, Champaign, 5(3): 657-663.
- Syngenta (2007) <http://www.syngenta.com.br> acesso em 15 de dezembro de 2016.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2004) *Fisiologia vegetal*, Tradução de Eliane Romanato Santarem et al. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 719p.
- Terra, M. A. (2003) *Seletividade de diclosulam, trifloxysulfuron-sodium e ametryne a variedades de cana-de-açúcar*. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) -Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p.60.
- Tursun, N., Datta, A., Budak, S., Kantarci, Z., Knezevic, S.Z., (2016). Row spacing impacts the critical period for weed control in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Phytoparasitica* 44, 139 e 149.
- Tursun, N., Datta, A., Tuncel, E., Kantarci, Z., Knezevic, S.Z., (2015). Nitrogen application influenced the critical period for weed control in cotton. *Crop Prot.* 74, 85e91.

- Van der Weide, R.Y., Bleeker, P.O., Achten, V.T.J.M., Lotz, L.A.P., Fogelberg, F., Melander, B. (2008). Innovation in mechanical weed control in crop rows. *Weed Research* 48:215-224.
- Verma, R.K., Singh, T.P. (1979) Inter relations among certain quantitative traits in popcorn.Mysore, *Journal Agricultural Science*, 13: 15-18.
- Vidal, R.A., Fleck, N.G.(2001) Inibidores de crescimento da parte aérea.*In*: Vidal,R.A.; Merotto Júnior, A. (Ed.).Herbicidologia Porto Alegre: Gaúcha,p. 123-130.
- Vittorazi, C., AmaralJúnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Candido, L.S., Silva, T.R.C.(2013) Seleção de pré-cultivares de milho-pipoca baseado em índices não-paramétricos.*Revista Ciência Agronômica*, 44(2): 356-362.
- Wasinger, V.C., Cordwell, S.J., Cerpapoljak, A., Yan, J.X., Gooley, A.A., Wilkins, M.R., Duncan, M.W., Harris, R., Williams, K.L., Humpherysmith, I. (1995) Progress with gene-product mapping of the mollicutes - *Mycoplasma genitalium*.*Electrophoresis*, 16(7): 1090-1094.
- Wichert, R.A., Townson, J.K., Bartlett, D.W., Foxon, G.A. (1999)Technical review of mesotrione, a newmaize herbicide.*Proc Brighton Crop Prot Conf*, BCPC, Alton, Hants, UK, p. 105–110.
- Wicks, G.A., Nordquist, P.T., Baenziger, P.S., Klein, R.N., Hammons, R.H., Watkins, J.E., (2004). Winter wheat cultivar characteristics affect annual weed suppression.*Weed Technol.* 18, 988e998.
- Wilkins, M.R., Pasquali, C., Appel, R.D., Ou, K., Golaz, O., Sanchez, J.C., Yan, J.X., Gooley, A.A., Hughes, G., Humpherysmith, I., Williams, K.L., Hochstrasser, D.F.(1996a) From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis.*Bio-Technology*, 14(1): 61- 65.
- Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Gooley, A.A., Appel, R.D., Humpherysmith, I., Hochstrasser, D.F., Williams, K.L.(1996b) Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it.*Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13: 19-50.
- Yuan, J.S., Tranel, P.J., Stewart Júnior, C.N.(2006) Non-target-site herbicide resistance: a family business.*Trends Plant Science*, 12(1): 6-13.
- Zagonel, J. (2002) *Eficácia do Equip Plus no controle de plantas daninhas na cultura do milho em plantio direto*,Boletim Informativo, SBPCPD, n.2, p.27-32.

Zimdahl, R.L., (2007). Fundamentals of Weed Science, third ed. Academic Press, Burlington, MA, USA, pp. 151 e 156.