

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

**Deriva de glifosato em arroz irrigado e recuperação de plantas  
mediante adubação nitrogenada**

Raúl Andrés Córdova Martínez

Pelotas, 2018

**Raúl Andrés Córdova Martínez**

**Deriva de glifosato em arroz irrigado e recuperação de plantas mediante  
adubação nitrogenada**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial a obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área de conhecimento: Herbologia).

Orientador: Edinalvo Rabaioli Camargo, Ph.D

Co-orientadores: Luis Antonio de Avila, Ph.D

Dirceu Agostinetto, Dr

Andre Andres, Ph.D

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C796d Cordova, Raul Andres

Deriva de glifosato em arroz irrigado e recuperação de plantas mediante adubação nitrogenada / Raul Andres Cordova ; Edinaldo Rabaioli Camargo, orientador. — Pelotas, 2018.

69 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Glifosato. 2. Deriva. 3. Remediação. I. Camargo, Edinaldo Rabaioli, orient. II. Título.

CDD : 633.18

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

**Banca examinadora:**

---

**Sidnei Deuner, Dr.**

---

**Rone Batista de Oliveira, Dr.**

---

**Luis Antonio de Avila, Ph.D.**

---

**Edinalvo Rabaioli Camargo, Ph. D.  
(Orientador)**

Ào meu pai Mario Raúl Córdova Alvarado

À minha mãe Mirian Lissett Martínez

**OFEREÇO E DEDICO**

“Así que no depende del que quiere, ni del que corre,  
sino de Dios que tiene misericordia”

**Romanos 9:16**

## **Agradecimentos**

Aos meus pais Raul e Mirian pelo apoio em cada etapa da minha vida. As minhas vós Emilia Alvarado e Aura Lopez, pelo cuidado e carinho. Ao meu bisavô quem foi o maior exemplo de trabalho na agricultura (in memoriam).

Ao professor Edinaldo Rabaioli Camargo, pela infinita paciência, apoio e conselho nessa longa fase.

Ao comitê de orientação Luis Avila e Dirceu Agosttineto, agradeço por cada um dos ensinamentos dentro e fora das salas de aula

À Universidade Federal de pelotas, por ter aberto as portas da oportunidade a um nível maior de ensino, Granjas Quatro Irmãos e Taim Aero Agrícola pela disponibilidade de recursos e equipamento.

À CAPES, por disponibilizar a bolsa de mestrado e apoio financeiro para aquisição dos materiais utilizados no trabalho.

Aos amigos dessa nova etapa, que em mais de uma vez, se esqueceram do bem-estar individual dando prioridade a me ajudar. Dando-me força, exemplo e conselho. Andres Monjes, Andrisa Balbinot, Anderson Feijó, Bruna Ceolin, Caroline Nemitz, Cedrick Benetti, Dalvane Rockenbach, Darwin Pomaguali, Diego Chiapinotto, Felipe Brunetto, Fernanda Caratti, Gustavo Junkes, Jonas Henckes, Jonathan Hübner, João Paulo Refatti, João Paulo Sousa Gomes, Juan Felipe Rivera, Lariza Benedetti, Lucas Rezende, Lucas Vieira, Maicon Schmitz, Marcus Fipke, Luiza Piccini, Mariana Serroni, Marcos Tomazetti, Marlon Bastiani, Mauro Mesko, Mauro Rosa, Maurício Files, Mateus Noguera, Renan Sousa Silva, Silvana Neves, Vinicios Gehrke e Willian Lubian.

## Resumo

CÓRDOVA, Raúl Andrés Martínez. **Deriva de glifosato em arroz irrigado e recuperação de plantas mediante adubação nitrogenada.** 2018. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Em função da rotação de culturas em áreas de arroz irrigado e a inclusão de cultivares de soja resistentes a glifosato, lavouras de arroz previamente estabelecidas são ameaçadas pela deriva de glifosato durante aplicações para dessecção de plantas de cobertura, ponto de agulha em áreas de arroz e manejo em pós-emergência da soja transgênica. O presente estudo foi conduzido para medir a deriva de glifosato em aplicações aéreas, as perdas em produtividade que a deriva de glifosato provoca em função das condições climáticas de semeadura em interação com o estágio fenológico do arroz e, a remediação de lavouras afetadas por deriva mediante adubação nitrogenada na forma de ureia. Assim, os objetivos deste trabalho foram: (i) determinar a deriva coletada em aplicações aéreas (manuscrito 1); (ii) avaliar a resposta das plantas de arroz à deriva simulada de glifosato em duas épocas de semeadura e três estádios de desenvolvimento (manuscrito 2); (iii) a remediação de lavouras de arroz afetadas por deriva de glifosato mediante adubação nitrogenada (manuscrito 3). Foram realizados experimentos a campo, para a determinação das taxas de deriva em aplicação aérea, avaliando diferentes distâncias a partir da área de aplicação com uso de plantas de arroz sentinelas. Mediante comparação de fitotoxicidade e escala de severidade, as taxas de deriva determinadas foram: 14% (150 m), 13% (200 m) e 5% (400 m) da dose aplicada ( $1920 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ ). No segundo experimento foram realizadas semeaduras em dois momentos (época de semeadura precoce, setembro e época de semeadura tardia, novembro). As aplicações de deriva simulada foram realizadas nos estádios de 4 (V4) e 8 (V8) folhas e de diferenciação de panícula (R0). O efeito da época de semeadura influenciou na recuperação das plantas quando estas foram tratadas no estágio vegetativo. Para o estágio V4 observou-se inclusive recuperação total durante o primeiro ano, não tendo diferenças na produtividade entre as doses testadas e a testemunha sem aplicação para a época de semeadura precoce. Já para estádios reprodutivos, a susceptibilidade das plantas foi muito maior, incrementando as perdas. Doses de 5 a 10% foram suficientes para reduzir a produção pela metade. Para a remediação de lavouras de arroz afetadas por 10% de deriva, recomenda-se a aplicação de  $60 \text{ kg de N ha}^{-1}$  na forma de ureia.

**Palavras-chave:** Glifosato. Deriva. Remediação.

## Abstract

CÓRDOVA, Raúl Andrés Martínez. **Glyphosate drift in flooded rice and remediation by nitrogen fertilization**. 2018. 69p. Dissertation (Master of Science) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Federal University of Pelotas, Pelotas.

Due to crops rotation in rice-land areas and the inclusion of glyphosate-resistant soybean, rice crops are constantly threatened by a drift of glyphosate during aerial applications for burndown treatments in rice and soybean and post emergent management in soybean. Therefore, the present study was conducted to evaluate 1) the potential of glyphosate drift in aerial applications, 2) the yield losses that the glyphosate drift may cause in function of weather conditions interacting with growth stage, and 3) the remediation of rice-crops affected by drift through nitrogen fertilization in the form of urea. Thus, the objectives of this work were: (i) to determine the drift rates in aerial applications (chapter 1); (ii) to evaluate the response of rice plants to simulated glyphosate drift at two sowing times and three growth stages (chapter 2); (iii) remediation of rice crops affected by glyphosate drift through nitrogen fertilization (Chapter 3). Field experiments were carried out to determine the drift rates. An aerial application was made, the experimental design was completely randomized, evaluating different distances from the application area with use of sentinel rice plants. By comparison of phytotoxicity and severity scale, the drift rates determined were: 14, 13 and 5% of the dose (1920 g i.a. ha<sup>-1</sup>), corresponding to the distances of 150, 200 and 400 respectively. In the second experiment of sowing times, sowing was replicated at early and late conditions respectively. Simulated drift applications were performed at 4 and 8 leaf stages and panicle differentiation. Sowing time influenced recovery of treated plots at vegetative stage. For the V4 stage, total recovery was observed during the first year at early sowing time, showing no difference in yield among glyphosate rates and the control treatment. On the other hand, plots treated at reproductive stage presented a higher susceptibility. Rates of 5 to 10% were enough to halve the yield. In the remediation experiment, the recommended nitrogen dose corresponds to 60 kg ha<sup>-1</sup> in the form of urea.

**Key words:** Glyphosate. Drift. Remediation.

## Lista de Figuras

Figura 1	Avaliação visual de fitotoxicidade aos 8 (•), 14 (○) e 22 (▪) dias após aplicação (DAA), em resposta ao tratamento de deriva aérea com glifosato.....	24
Figura 2	Taxa fotossintética e eficiência de carboxilação aos 11 DAA em plantas de arroz submetidas a aplicação aérea de glifosato.....	25
Figura 3	Fitotoxicidade em plantas de arroz submetidas a sub-doses de glifosato aos 22 DAA em casa de vegetação. Capão do Leão, RS, safra 2017-2018.....	26
Figura 4	Testemunha sem aplicação, sentinela em 150 m e dose simulada de 20% (A); Testemunha sem aplicação, sentinela em 200 m e dose simulada de 15% (B); Testemunha sem aplicação, sentinela em 400 e dose simulada de 10% (C).....	27
Figura 5	Produtividade estimada (kg ha <sup>-1</sup> ) para plantas de arroz sentinelas submetidas a aplicação aérea de glifosato, Capão do Leão, RS. 2018.....	28
Figura 6	Visible injury (%) at 14 days after treatment (14 DAT) from simulated drift of glyphosate (5-20% of full rate= 1440 g e.a ha <sup>-1</sup> ).....	36
Figura 7	Total number of stems per meter at 30 days after four-leaf stage (V4 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%).....	39
Figura 8	Total number of stems (A) and percentage of inviable stems (B). per meter at 30 days after eight-leaf stage (V8 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%).....	40

Figura 9	Number of panicles per meter at 30 days after panicle differentiation (PD 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%)...	41
Figura 10	Stems with structural damage from glyphosate treatment at mature vegetative stage V8 (A), ordinary and stunted panicle from non-treated and glyphosate treatment at reproductive stage PD (B). Capão do leão, RS, 2017.....	43
Figura 11	Number of filled spikelets per panicle from simulated drift of glyphosate (0-20%).....	44
Figura 12	Yield ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) from simulated drift of glyphosate (0-20%). Capão do leão, RS, 2016-2018.....	46
Figura 13	Relationship between yield ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) and visual injury (%) at 14 DAT.	49
Figura 14	Número de panículas $\text{m}^2$ aos 30 dias após diferenciação da panícula. Capão do Leão, RS, safra 2016-2017.....	58
Figura 15	Número de grãos cheios por panícula. Capão do Leão, RS, safra 2016-2017.....	59
Figura 16	Produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). Estádio vegetativo de 4 folhas (A) e 8 folhas (B). Dose de deriva 0%, (•); Dose de deriva 10%, (○). Capão do Leão, RS, safra 2016-2017.....	60
Figura 17	Produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) de arroz irrigado. Dose de deriva 0%, (•); Dose de deriva 10%, (○). Capão do Leão, RS, safra 2017-2018. Símbolo = média dos tratamentos.....	61

## Lista de Tabelas

Tabela 1	P values for assessments of visible injury and yield.....	35
Tabela 2	Air average temperature (°C) to the municipality of Capão do Leão during the 21 days after treatment (DAT).....	38
Tabela 3	P values for assessments of Stems per meter for V4 and V8 treatments, Percentage of inviable stems at V8 treatment, Panicles per meter and Filled spikelet's per panicle.....	38
Tabela 4	Estimated parameter values from the curve fittings on the data shown in figure 10 using equation 2.....	45
Tabela 5	Estimated parameter values from the curve fittings on the date shown in figure 13 using equation 3.....	47
Tabela 6	Nível visual de injúria aos 6, 13, 20 e 27 dias após aplicação (DAA), em resposta ao tratamento de deriva simulada com glifosato nos estádios de 4 e 8 folhas, durante as safras 2016-2017 e 2017-2018. Capão do Leão, RS.....	56
Tabela 7	Valores dos parâmetros correspondentes as curvas ajustadas nos dados de produtividade da primeira safra (2016-2017) mostrados na figura 16 usando a equação 1.....	60
Tabela 8	Valores dos parâmetros correspondentes as curvas ajustadas nos dados de produtividade da segunda safra (2017 - 2018) mostrados na figura 15 usando a equação 1.....	61

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. Manuscrito I – Distância de deriva de glifosato em aplicação aérea e efeito na cultura do arroz irrigado. ....	20
3. Manuscript II – Glyphosate drift on rice, affected by crop stage and sowing time.....	31
4. Manuscrito III – Recuperação de arroz afetado por deriva simulada de glifosato mediante adubação nitrogenada.....	52
5. Conclusões gerais .....	64
6. Referências.....	65
VITA .....	70

## 1. INTRODUÇÃO

O Estado brasileiro do Rio Grande do Sul (RS) caracteriza-se pela produção de cereais de importância mundial. Da extensão territorial do estado 20,5% correspondem a áreas de terras baixas, sendo que 84% destas encontram-se sobre solos hidromórficos (Reis, 1998). Da área total das terras baixas o Instituto Rio Grandense do arroz (IRGA) reportou 1.084.884 hectares semeados de arroz, com produção total de 7,3 milhões de toneladas e produtividade média de 6.928 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2015-2016 (IRGA, 2017).

Com o passar do tempo, o avanço na tecnologia de produção agrícola e o desenvolvimento do setor orizícola, ocasionaram a diminuição do período de pousio (Reis, 1998). De forma adjacente à intensificação da agricultura orizícola observou-se um aumento no uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas e o aparecimento de biótipos resistentes nas lavouras de arroz, os quais têm levado a adoção de práticas de rotação de culturas com soja.

O sistema de rotação de culturas arroz-soja no estado de RS tem demonstrado alta aceitabilidade pelos agricultores devido aos benefícios técnicos e econômicos que estas culturas oferecem. Dentre os aspectos positivos da rotação de culturas destaca-se o uso de herbicidas com diferentes modos de ação, reduzindo a pressão de seleção incentivada pelo uso restrito do mesmo herbicida. Ademais, a deposição de restos culturais de diferentes cultivos sobre o solo resulta no aumento do teor de matéria orgânica deste. Para a soja, quando usada como cultura subsequente, aproveitam-se os sistemas de irrigação estabelecidos previamente para a cultura do arroz, beneficiando assim aos agricultores na redução dos custos.

Com respeito ao total da área utilizada com soja, referente ao sistema de rotação de culturas em terras baixas, o IRGA (2017) reportou 244.908 hectares durante a safra 2016-2017, área 22 vezes maior que no ano 2009 com 11.150 ha (IRGA, 2016) demonstrando que o produtor orizícola gaúcho vem buscando alternativas ao monocultivo do arroz em terras baixas.

Para o estabelecimento das culturas, tanto da soja como ao arroz, é necessário adotar práticas de manejo que favoreçam o crescimento e desenvolvimento das plantas. A dessecação das culturas de cobertura (pastagem usada na pecuária) e/ou da vegetação existente na área, com o uso de herbicidas de ação total como glifosato (uso preferencial pelos produtores) e outros herbicidas como glufosinato ou paraquat, beneficiará a emergência e desenvolvimento inicial da nova cultura, dando condições mais favoráveis.

Na cultura do arroz irrigado, é preciso o controle das plantas daninhas até a entrada da água na lavoura, que constituirá em uma barreira física, ajudando na redução da emergência das plantas daninhas. Para isso, o uso de herbicidas pré-emergentes garante o controle destas desde a emergência do arroz até o estágio de desenvolvimento V3, estágio em que é recomendado a inundação das áreas. O uso de herbicidas pré-emergentes confere um aumento dos custos de produção, porém é prática fundamental para manejar plantas daninhas na cultura do arroz irrigado. Os pré-emergentes tem sido usualmente aplicados junto com glifosato, em ponto de agulha. A prática de manejo é realizada no momento que antecede a emissão da plúmula (primeira folha) pelas plântulas de arroz emergentes (SOSBAI, 2014). Com isso, certifica-se a supressão total das plantas daninhas que estão presentes no momento da emergência do arroz.

Para a soja, por ser uma cultura de sequeiro, é necessário evitar a competição das plantas até o fechamento das entrelinhas da cultura. Isso pode ser alcançado através do uso de herbicidas com atividade residual, ou através da aplicação de um herbicida de ação total em pós emergência da cultura da soja, caso seja tolerante ao herbicida. Desde a liberação comercial da soja geneticamente modificada e resistente ao glifosato, este herbicida vem sendo praticamente a única ferramenta de manejo de plantas daninhas no sistema de produção da soja. Tendo em vista a facilidade do uso, espectro de controle e custo.

Para a aplicação de glifosato em dessecação das áreas, como prática inicial de preparo, e, ao longo da safra da soja no controle das plantas daninhas na cultura da soja, é comum o uso de equipamento aéreo, devido à grande extensão das áreas cultivadas. Já que tanto o arroz quanto a soja são culturas de verão, as épocas de semeadura e manejo são sempre coincidentes. A aplicação de glifosato como dessecante de plantas daninhas ao longo dos meses agrícolas de setembro a dezembro, tanto no começo das culturas do arroz e soja para dessecação em pré-

semeadura, como ao longo da cultura da soja em pós-emergência, tem gerado problemas de deriva para áreas adjacentes de arroz irrigado. Aplicações de herbicidas sob condições meteorológicas desfavoráveis e/ou seleção equivocada da técnica de aplicação, podem resultar na possibilidade de deriva de glifosato, que por sua vez afeta as áreas orizícolas da região.

Deriva em termos agrícolas, é definido como o transporte de pesticidas através do ar durante ou logo após a aplicação para áreas não alvo (EPA, 2018). A deriva de pesticidas é classificada comumente em duas categorias, sendo a deriva primária ocorrente durante a aplicação da calda. Estima-se que aquelas gotas aspergidas com diâmetro volumétrico menor a 100  $\mu\text{m}$  podem ser removidas da área de aplicação pela ação do vento e atingir organismos não alvo (Cunha et al., 2003). Segundo Ozkan (2000), em aplicações de barra, as gotas iguais ou menores de 50  $\mu\text{m}$  evaporam completamente antes de alcançar o alvo, permitindo que o produto disperse. Já a deriva secundária, também chamada de volatilização, ocorre logo após a aplicação, sendo observada principalmente nos agrotóxicos que apresentam alta pressão de vapor. A volatilização dos pesticidas aumenta de forma conjunta com o aumento da temperatura, podendo afetar culturas presentes em áreas adjacentes. Uma vez que o glifosato apresenta baixa pressão de vapor e o seu movimento no solo é limitado (Borggaard e Gimsing, 2008), o principal fenômeno de transporte relacionado a ele é deriva primária.

Uma das principais causas da deriva primária é à seleção incorreta das pontas de aplicação, que auxiliado pela velocidade do vento provoca deriva das gotas aspergidas de tamanho menor a 100  $\mu\text{m}$ . Segundo Martini et al., (2014), as pontas de pulverização tipo leque sem indução de ar, apresentam maior risco de deriva quando comparado com os bicos com indução na aplicação de produtos formulados em soluções e/ou suspensões concentradas. As avaliações mostram que as pontas com indução aspergem gotículas com diâmetro médio volumétrico maior, diminuindo assim o risco de deriva quando ao uso desse equipamento.

Para a redução da deriva primária tem-se usado adjuvantes cujo objetivo é aumentar o tamanho da gotícula mediante um acréscimo na tensão superficial da calda de aplicação. Não obstante, as informações de pesquisa hoje disponíveis, demonstram que o diâmetro médio volumétrico aumenta entorno de 20 a 40  $\mu\text{m}$  com relação à concentração e o tipo de adjuvante adicionado à calda (Holloway et al.,

2000 e Prokop e Kejkliceck, 2002), e a deriva diminui torno a 6% em relação as aplicações sem uso de adjuvantes (Oliveira, 2013).

Durante a aplicação de agrotóxicos, a velocidade do pulverizador e a altura de aspersão são fatores que incidem na deriva. A maior velocidade do pulverizador (Van de Zande et al., 2004) e altura de aspersão (Oliveira et al., 2014), as gotículas são mais sensíveis as condições meteorológicas presentes, aumentando a taxa de deriva conforme ao aumento desses fatores. Ademais, a quantidade do volume de calda a aplicar repercute na eleição das pontas de pulverização em base a vazão desejada, sendo que entre menor o volume de calda a aplicar deverá também ser reduzida a vazão do bico. Com isto, ter-se-ia uma redução do tamanho das gotas pulverizadas, o que aumenta a sensibilidade ao transporte pelo vento.

A aplicação aérea de agrotóxicos é mais propensa à deriva quando comparada com a aplicação terrestre. Na aplicação aérea é maior a velocidade de deslocamento, a altura de aspersão, e menor o volume da calda. Utilizando volume de calda de 15 litros por hectare, velocidade do pulverizador de  $176 \text{ km h}^{-1}$  e altura de pulverização de 2,5 m Martini et al. (2014) reportaram 57,2 e 2,0% de percentagem de deriva nos coletores distribuídos a 25 e 100 metros de distância da área de aplicação, já na aplicação terrestre Garcia-Santos et al. (2015) reportaram apenas 1,2% de porcentagem de deriva nos coletores estabelecidos a 10 metros de distância da área de aplicação.

Além de alcançar maior distância de deriva, à aplicação aérea conta maior concentração do ingrediente ativo quando comparada com a aplicação terrestre. A diferença de um trator com capacidade de aplicação em torno a  $150 \text{ L ha}^{-1}$ , em aplicações aéreas, o volume da calda encontra-se em torno de  $15\text{-}30 \text{ L ha}^{-1}$ . Considerando que é aplicada a mesma dose de produto comercial por hectare, a diminuição no volume total da calda pode concentrar de 5-10 vezes o ingrediente ativo nas aplicações aéreas. Pelo que uma baixa porcentagem de deriva, poderia afetar severamente a produtividade de culturas sensíveis sobretudo quando se trata de herbicidas de amplo espectro e alta translocação como o glifosato.

Após atravessar a cutícula e a parede celular, o transporte de glifosato no citoplasma é assistido por transportadores de fósforo presentes na membrana celular (Hetherington et al., 1998). Simulando ser uma molécula fosfatada própria do metabolismo celular, o glifosato é difundido pelo citosol e o estroma do cloroplasto. Uma vez no estroma, glifosato interfere a síntese de 5-enolpiruvoil-chiquimato-3-

fosfato (EPSP), molécula que pertence ao sexto intermediário da rota do ácido chiquímico (Maeda e Dudareva, 2012).

A inibição da enzima EPSPs compromete por completo o metabolismo do cloroplasto. Servaites et al., (1987), postulam que o acúmulo do ácido chiquímico após a inibição da EPSPs, constitui um dreno do fluxo de carbono do ciclo de Calvin provocando a diminuição da atividade enzimática da RUBISCO e detendo à assimilação de carbono. A pesquisa do autor comprova que a interrupção do processo assimilativo de carbono, é devida, ao impedimento da capacidade de regeneração de ribulose (RUBP) e, da diminuição na concentração das trioses e hexoses fosfato. Sendo assim, o modo de ação de glifosato não envolve apenas ao metabolismo secundário na produção de compostos aromáticos, compromete também, os processos de assimilação e glicólises do metabolismo primário.

A análise histoquímica em plantas tratadas, demonstra aumento na concentração de  $H_2O_2$  e peroxidação lipídica (Ahsan et al., 2008). Em função de limpar o estroma dos lipídios danificados, a glutatona é utilizado na conjugação, transporte e sequestro no vacúolo. Além, forma parte do sistema antioxidante glutatona-ascorbato na supressão das EROS (Noctor e Foyer, 1998). Ainda, análises proteômicas em folhas tratadas revelaram diminuição das enzimas participantes do ciclo de Calvin seguido pelo aumento das enzimas do sistema antioxidante e aumento da síntese de glutatona (Ahsan et al., 2008). Com isso, o estresse oxidativo causado pelo glifosato constitui um gasto energético na forma de NADPH consumido pelo sistema antioxidante, e de nitrogênio na forma de glutatona.

Posto que o metabolismo das plantas muda conforme a variação climática, se presume que a mesma também possa agravar ou atenuar o estresse oxidativo causado pelo herbicida. Da mesma forma, o metabolismo muda significativamente conforme ao estado fenológico da planta, mudando também a resposta ao glifosato. Com isto, faz-se necessária a avaliação da deriva de glifosato em diferentes épocas de semeadura de arroz e estádios fenológicos. A fim de determinar, se o decréscimo da produtividade em lavouras afetadas por deriva, é dependente das condições meteorológicas e o estágio de desenvolvimento da planta.

A fim de restituir à planta o gasto do nitrogênio na forma de glutatona e a perda de biomassa provocados pelo efeito do herbicida, será precisa a avaliação da

adubação nitrogenada de recuperação nas plantas atingidas por deriva de glifosato. Também será preciso avaliar o potencial de deriva do herbicida com o intuito de definir a distância mínima requerida entre locais de aplicação aérea de glifosato e cultivos vizinhos de arroz.

Diante disso, esta dissertação está dividida em capítulos sendo que o primeiro trata de um estudo descritivo de plantas submetidas a deriva de glifosato em condições de campo, a fim de determinar o potencial de deriva ao longo de 400 metros de distância da área de aplicação aérea. O segundo capítulo aborda o estudo comparativo da deriva de glifosato ao longo da época de verão, mediante o estabelecimento de duas épocas de semeadura, uma precoce e outra tardia. A fim de observar se existe contraste na resposta das plantas entre ambas as épocas de semeadura, em dois estádios de desenvolvimento vegetativos e um reprodutivo. E o terceiro capítulo será a recuperação de plantas tratadas com glifosato, mediante adubação nitrogenada na forma de ureia, a fim de manter a produtividade daquelas lavouras que têm sido afetadas por deriva.

## **2. Manuscrito I – Distância de deriva de glifosato em aplicação aérea e efeito na cultura do arroz irrigado.**

Córdova, R.A., Tomazetti, M.B., Refatti, J.P., Agostineto, D., Avila, L.A., Camargo, E.R.,\*

Primeiro autor: estudante de pós-graduação, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; segundo autor: estudante de pós-graduação, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; terceiro autor: Pós-Doutorado, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; quarto autor: professor, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; quinto autor: professor, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; sexto autor: professor, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), RS, Brasil; Correspondência do autor e-mail: raulco77@hotmail.com

O presente estudo foi conduzido para avaliar o potencial de deriva de glifosato durante aplicação aérea, mediante o uso de plantas de arroz sentinelas. Para isto, foi realizado um experimento a campo no delineamento completamente casualizado com quatro repetições, avaliando diferentes distâncias (0 a 400 metros) a partir da área de aplicação. A aplicação aérea foi realizada na Granja Quatro Irmãos localizada no município de Rio Grande, RS, com dose de aplicação de glifosato de 1920 g e.a. ha<sup>-1</sup> (RoundUp Transorb®, sal de isopropilamina de glifosato 480 g e.a. L<sup>-1</sup>). As taxas de deriva estimadas mediante o nível de injúria das plantas sentinelas foi de 14% (150 m), 13% (200 m) e 5% (400 m). Foi observado morte total das plantas para distâncias entre 0 a 50 metros, enquanto a distâncias entre 75 – 150 metros a morte foi parcial, tendo redução na produtividade. Já nas distâncias entre 200 a 400 metros, não houve redução na produtividade quando comparada com a testemunha, inclusive quando os níveis de injúria atingiram de 52 a 82%, postulando-se que o manejo tradicional da cultura (adubação de cobertura com cloreto de potássio e ureia nos estádios V6 e R0) ajudaram na recuperação das plantas.

## Introdução

Na agricultura as aplicações aéreas são com frequência a maneira mais eficiente de tratar áreas de culturas extensivas. Aplicações aéreas ademais, apresentam vantagem no tratamento em regiões com chuvas frequentes e solo úmido (Reddy et al., 2010). Na cultura do arroz irrigado, como cultura extensiva, durante o manejo em pré-semeadura, faz-se necessária a aplicação de herbicidas de ação total para dessecação da cobertura vegetal presente nas áreas, dentre os quais o uso preferencial é para o herbicida glifosato. De igual forma, em áreas de rotação com soja, o manejo em pré-semeadura inicia com a remoção total da vegetação existente.

No Estado do Rio Grande do Sul (RS), principal produtor de arroz do Brasil, as áreas de rotação arroz-soja têm aumentado na última década. No ano 2009 o total cultivado foi de 11.150 hectares, e de 244.908 ha durante a safra 2016-2017 (IRGA,2017). A quase totalidade dessas áreas é cultivada com cultivares de soja resistentes ao glifosato, devido a possibilidade de eliminação das plantas daninhas em pós-emergência da cultura a baixo custo (Duke e Powles, 2008)

Como resultado do manejo em pré-semeadura do arroz e do manejo em pré e pós-emergência da cultura da soja, áreas próximas com arroz já estabelecido são ameaçadas por potenciais eventos de deriva com glifosato. As condições ambientais presentes durante o horário de aplicação são as principais responsáveis pelos eventos de deriva. A deposição das gotas na área alvo é afetada pela velocidade do vento (Sousa et al., 2017), temperatura do ar (Arvidsom et al., 2011) e inclusive a neblina (Crabe et al., 1994). Com respeito a fatores técnicos durante aplicações aéreas, a alta velocidade de aplicação (Van de Zande et al., 2004) e altura elevada de voo (Oliveira et al., 2014) apresentam-se como os fatores com maior relevância no incremento da taxa de deriva.

Considerando que o glifosato é um herbicida não seletivo, seu impacto no ecossistema pode perturbar por completo as cadeias tróficas. Isso, como resultado da supressão dos organismos autótrofos. A deriva de pesticidas é um assunto de preocupação por causa dos impactos na saúde pública, contaminação das culturas e pecuária (Benner et al., 2016). Para contornar esse problema, estudos com uso de adjuvantes objetivam reduzir a taxa de deriva durante as aplicações, mediante o aumento do diâmetro da gota aspergida (Henry et al., 2015). Outros estudos feitos

em tuneis de vento, estimam o potencial de deriva em função do tipo de bico e do tamanho da gota em condições ideais (Ferguson et al., 2015).

Em relação às aplicações aéreas, pesquisas relatam que com uso de coletores, encontrou-se presente 5% de deriva a 30 metros na direção do vento e ao redor de 0,5% da dose a 150 metros de distância (Bird et al., 1996). Pesquisas de deriva aérea com glifosato e volume de calda de 93,5 L ha<sup>-1</sup>, estimam taxas de deriva 0,18 e 0,12 L de calda ha<sup>-1</sup> a 160 e 320 metros da área de aplicação, respectivamente (Kirk, 2000). No entanto, é escassa a literatura acerca do potencial de deriva de glifosato em campo, que relate quanto a deriva de glifosato pode afetar na cultura do arroz. Com isso, o presente trabalho objetivou quantificar a distância que a deriva de glifosato pode recorrer durante aplicações aéreas, determinando a taxa de deriva em função da distância percorrida. Ademais, foi avaliada a produtividade de grãos de arroz quando submetida à deriva aérea de glifosato.

### **Materiais e Métodos**

O experimento foi conduzido a campo, em área da Granjas 4 irmãos, pertencente ao grupo Joaquim Oliveira S/A, localizada no município de Rio Grande, RS, durante o ano agrícola 2017/18. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. A área para interceptação da deriva foi demarcada em faixas, onde se criou uma linha de amostragem de 10 x 400 m, perpendicular ao voo e alinhado com a direção do vento. A aplicação aérea foi realizada no dia 01/11/2017 com aeronave Ipanema com 10 atomizadores Turboaereo, dotado de restritor de vazão D10, regulagem do ângulo das pás na posição 3 e pressão de 205 kPa, aplicando gotas finas. A altura de voo foi de 3 a 4 m, com faixa de trabalho de 18 m. A aeronave aplicou 8 faixas durante a condução do experimento. A velocidade de aplicação foi de 185 km h<sup>-1</sup> (115 mph). As distâncias avaliadas foram: -50 (testemunha), 0, 12,5, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 e 400 m. As condições meteorológicas durante a aplicação foram: temperatura média de 21,2°C, umidade do ar de 56% e velocidade do vento média de 8 km h<sup>-1</sup>. A dose de glifosato aplicada correspondeu a 1920 g e.a.ha<sup>-1</sup> Roundup Transorb®.

O potencial de deriva foi determinado em função do nível de injúria alcançado por plantas de arroz sentinelas. Para isso, foram usados vasos de 4 litros contendo plantas de arroz do cultivar IRGA 424 RI, no estágio V3-4. As plantas foram coletadas 11 dias antes da aplicação, na área de produção de arroz

pertencente a Granjas Quatro Irmãos, semeadas a densidade de 90 kg ha<sup>-1</sup> e adubadas durante a semeadura com 334 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O de formulação 05-20-20. A área de coleta foi mantida livre de plantas daninhas com uso de imazapyr + imazapic (63+21 g e.a. ha<sup>-1</sup>) aplicados na semeadura do arroz.

Os vasos com plantas de arroz sentinelas foram distribuídos no campo no dia da aplicação, conforme as distâncias descritas anteriormente, contendo quatro vasos (repetições) por cada distância avaliada. Para a determinação da taxa de deriva segundo o nível de injúria, foi realizada uma escala de severidade usando plantas de arroz aplicando doses de glifosato de concentração conhecida, a escala de severidade foi realizada com o emprego da equação 1.

$$Y = Y_0 + \beta X_i \quad [1]$$

Onde Y corresponde ao nível injúria mediante análises visual (0% = sem injúria, 100% = morte de planta), Y<sub>0</sub> é o valor inicial de fitotoxicidade quando X<sub>i</sub> = 0 (dose de deriva simulada de glifosato (%)) e, β é o valor de decline que corresponde a X<sub>i</sub>.

No mesmo dia da aplicação aérea, outros vasos com plantas de arroz sem tratamento de deriva em campo, foram levados a casa de vegetação e tratados com doses de deriva simulada de glifosato. Sendo aplicadas as doses: 0,03, 0,06, 0,12, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 7,5, 10, 15 e 20% da dose de bula aplicada em campo (1920 g e.a.ha<sup>-1</sup> RoundUP Transorb®). Avaliações visuais de injúria foram feitas semanalmente. Aos 22 dias após aplicação dos tratamentos, foram comparadas as plantas submetidas à deriva aérea com as plantas submetidas à deriva simulada, a fim de relacionar os níveis de fitotoxicidade e determinar de forma visual a taxa de glifosato presente para cada uma das distâncias avaliadas.

Foi realizada também uma avaliação da atividade fotossintética das plantas aos 11 dias após a aplicação de deriva em campo, com uso do equipamento analítico gasoso de infravermelho (IRGA) modelo LI-6400XT, equipado com fonte de luz artificial e injeção automática de CO<sub>2</sub>. Durante as leituras a densidade de fótons foi ajustada a 1.500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, injeção de CO<sub>2</sub> na câmara de 400 μmol mol<sup>-1</sup>, temperatura da folha de 20°C e fluxo de ar de 500 μmol s<sup>-1</sup>. Subsequentemente foi determinada a taxa fotossintética (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e a eficiência de carboxilação (CE). Plantas de distância menores a 75 metros foram desconsideradas do análises com IRGA, pois o nível de dano não permitiu o uso do equipamento.

O manejo das plantas em casa de vegetação seguiu os tratos culturais da granja. Com aplicação de 100 kg ha<sup>-1</sup> de cloreto de potássio 0-0-60 no estádio V4-5 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de ureia 46-0-0 distribuídos de forma equitativa em duas aplicações nos estádios V6 e R0. Tratamentos para a proteção da cultura incluíram os fungicidas azoxystrobin (50 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e tricyclazole (150 g e.a. ha<sup>-1</sup>), e os inseticidas incluídos thiamethoxam (28 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e lambda-cyhalothrin (21 g e.a. ha<sup>-1</sup>) para proteger o desenvolvimento de doenças e a ocorrência de insetos. A aplicação foi feita durante o início do florescimento (R4). Foram colhidas as panículas por vaso e estimada a produtividade em kg ha<sup>-1</sup>.

Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com uso do pacote estatístico R (R Core team, 2013). A normalidade dos dados foi verificada usando o teste de Shapiro-Wilk. As médias para diferenças significativas foram comparadas usando teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Um modelo logístico sigmoide de três parâmetros (equação 2) foi ajustado para determinar o nível de fitotoxicidade em plantas sentinelas em função da distância da área de aplicação.

$$Y = \frac{\alpha}{1 + \left(\frac{x_i}{x_{50}}\right)^\beta} \quad [2]$$

Onde Y corresponde ao nível injúria mediante análises visual (0% = sem injúria, 100% = morte de planta),  $\alpha$  é o maior valor reportado pela curva representado o valor máximo de fitotoxicidade nas plantas sentinelas,  $X_{50}$  é a distância a partir da área da aplicação aonde a deriva de glifosato causaria 50% de fitotoxicidade nas plantas sentinelas e  $\beta$  corresponde ao valor de decline ao redor de  $X_{50}$ .

## Resultados e discussão

De acordo com as análises de variância (ANOVA) para o nível de fitotoxicidade em função da distância a partir da área de aplicação, encontrou-se significância entre as distâncias avaliadas. A Figura 1 contém os valores de fitotoxicidade em função da distância.

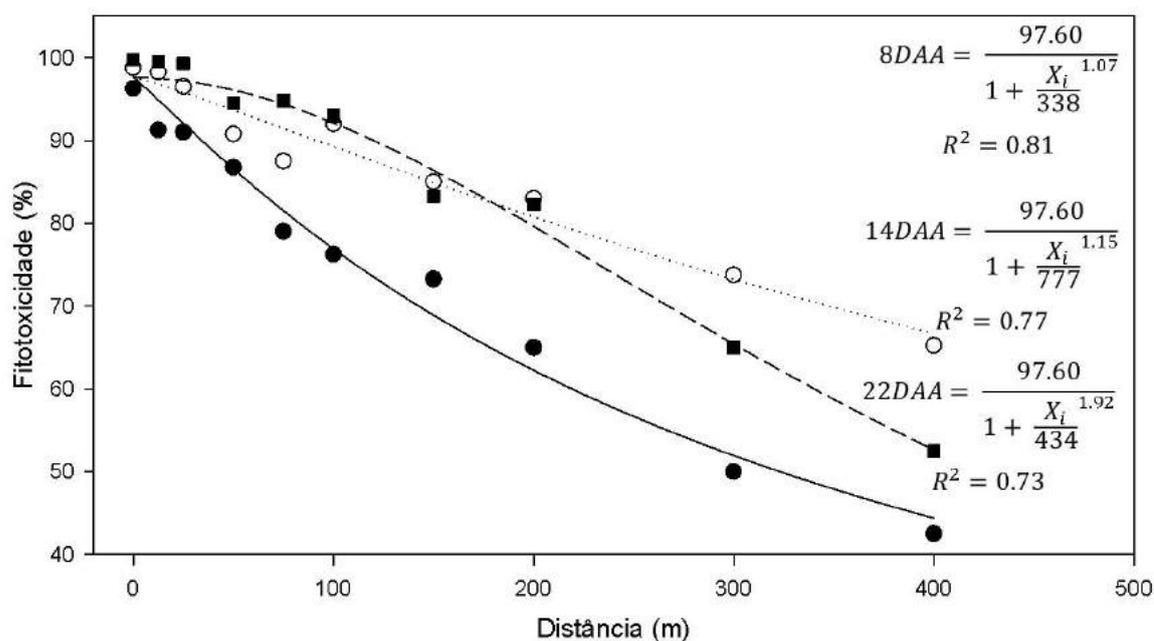


Figura 1 – Avaliação visual de fitotoxicidade aos 8 (•), 14 (○) e 22 (▪) dias após aplicação (DAA), em resposta ao tratamento de deriva aérea com glifosato.

Segundo as curvas e equações geradas na Figura 1, se observa um aumento no nível de fitotoxicidade ao comparar a avaliação feita aos 8 DAA com relação a avaliação feita aos 14 DAA. O valor de  $X_{50}$  (distância requerida para causar 50% de fitotoxicidade) aumentou de 338 m (8DAA) até 777 m (14DAA). Nesse sentido, todas as plantas estabelecidas a uma distância maior a 777 m (I.C. 95%, 473 – 1081 m) teriam um nível de fitotoxicidade menor a 50%, entretanto na primeira avaliação (8DAA) plantas estabelecidas a distâncias maiores a 338 m (I.C. 95%, 286 – 390 m) teriam um nível de fitotoxicidade menor a 50%, já para a avaliação feita aos 22DAA o nível de fitotoxicidade decresceu (plantas começaram a se recuperar), reportando um valor de  $X_{50}$  de 434 m. O valor máximo de fitotoxicidade  $\alpha$  (97.6%) nas plantas sentinelas, corresponde as plantas nas

distancias próximas da área de aplicação (0 – 25 m), onde foi observado morte total das plantas para distancias menores que 75m.

De acordo ao analises de variância (ANOVA) para a taxa fotossintética e a eficiência de carboxilação, encontrou-se significância entre as distâncias avaliadas. A Figura 2 contém os valores da taxa fotossintética e a eficiência de carboxilação em função da distância.

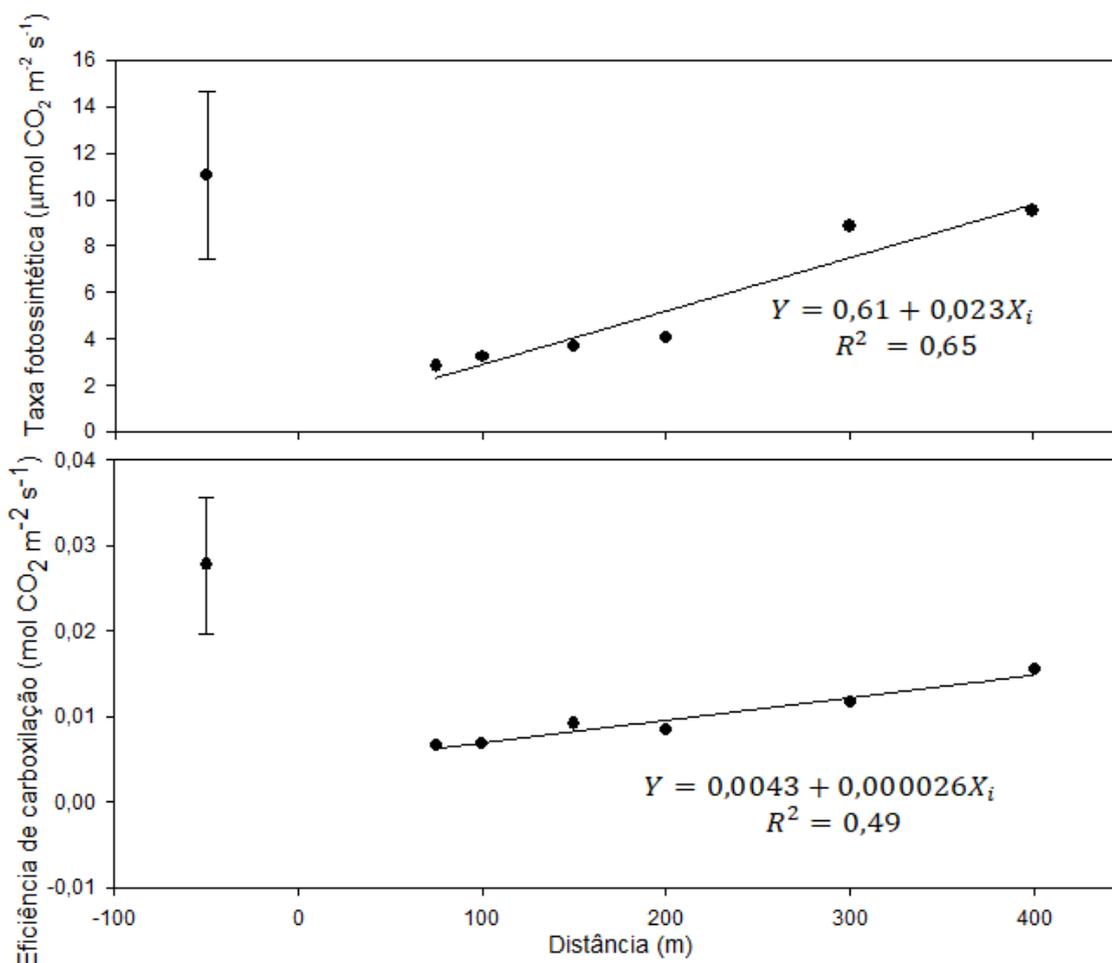


Figura 2 – Taxa fotossintética e eficiência de carboxilação aos 11 DAA em plantas de arroz submetidas a aplicação aérea de glifosato. Testemunha sem aplicação, corresponde ao valor da distância de -50 m, linhas de erro correspondem a intervalo de confiança ao 95%.

Pesquisas feitas por outros autores demonstram que o herbicida glifosato atua afetando a condutância estomática e reduzindo os níveis de amido na planta, o que sugere que glifosato afeta a assimilação de carbono (Geiger et al., 1986). O fechamento estomático (condutância) afeta as trocas gasosas e, por consequência a eficiência de carboxilação. Da mesma forma, a taxa fotossintética foi reduzida,

apresentando diferença significativa para distâncias menores a 200 m. O efeito do glifosato foi maior nas plantas distribuídas mais próximas da faixa de aplicação. Em comparação com a testemunha (-50 m), a eficiência de carboxilação nas plantas foi reduzida em mais de 50% para todas as distancias avaliadas. Pesquisas com doses simuladas de deriva de glifosato em girassol, reportam também mudanças fisiológicas na taxa fotossintética (Vital et al., 2017).

Para a determinação da taxa de deriva, usou-se a escala de fitotoxicidade da Figura 3, que reporta o nível de fitotoxicidade em função da dose de deriva aplicada em plantas de arroz cultivadas em casa de vegetação.

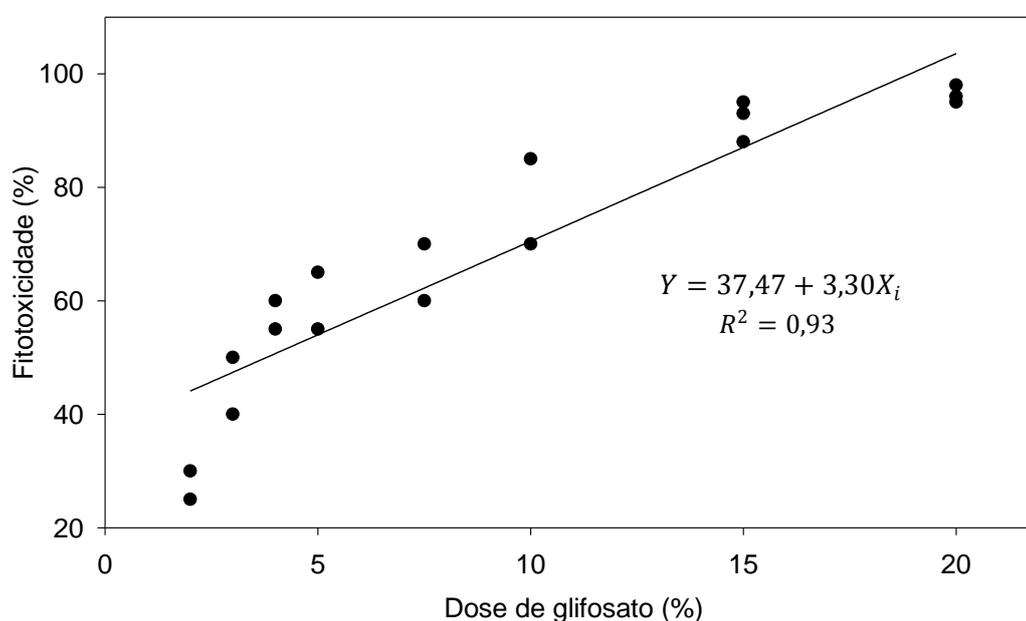


Figura 3 – Fitotoxicidade em plantas de arroz submetidas a sub-doses de glifosato aos 22 DAA em casa de vegetação. Capão do Leão, RS, safra 2017-2018.

Com o uso da escala de fitotoxicidade obtida em plantas conduzidas em casa de vegetação pode-se estimar a taxa de deriva resultante no campo após a aplicação aérea de glifosato. Para as distâncias de 150, 200 e 400 m estimou-se que a taxa de deriva foi de 13,9, 13,6 e 4,5% da dose de bula de glifosato por hectare, respectivamente. Na Figura 4 são comparadas as plantas provenientes da aplicação aérea em campo (plantas de arroz sentinela) com as plantas submetidas a aplicação de doses de deriva simulada em casa de vegetação.



Figura 4 - Testemunha sem aplicação, sentinela em 150 m e dose simulada de 20% (A); Testemunha sem aplicação, sentinela em 200 m e dose simulada de 15% (B); Testemunha sem aplicação, sentinela em 400 e dose simulada de 10% (C).

De acordo ao ANOVA para a produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), encontrou-se significância entre as distâncias avaliadas. As medias dos tratamentos são apresentadas na figura 3.

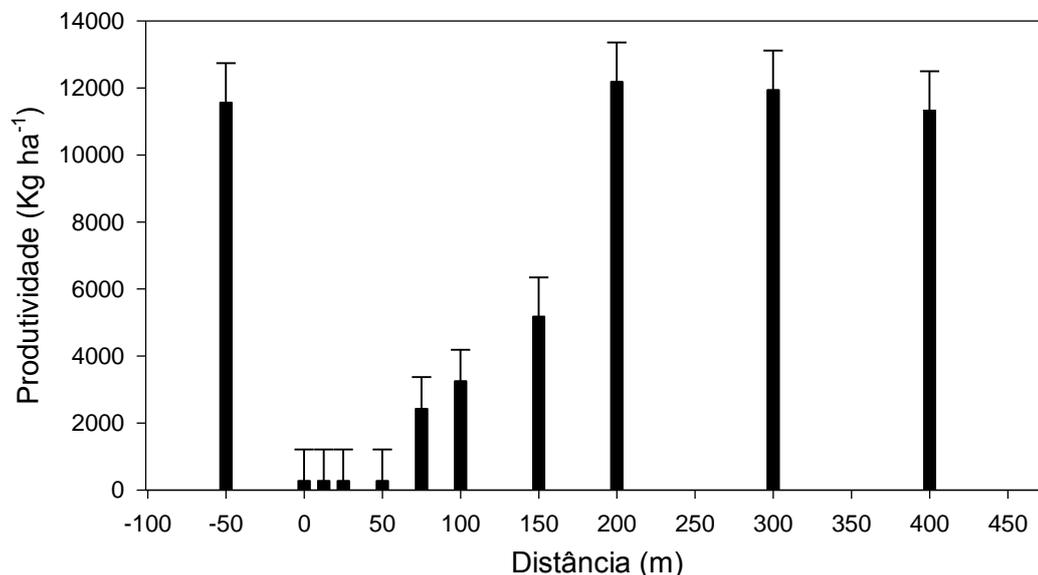


Figura 5 – Produtividade estimada ( $\text{kg ha}^{-1}$ ) para plantas de arroz sentinelas submetidas a aplicação aérea de glifosato, Capão do Leão, RS. 2018. Altura da coluna (■) = média dos tratamentos, barras de erro = diferença mínima significativa (DMS) de acordo ao teste T ( $P \leq 0,05$ ).

Para distâncias de 200 a 400 metros (Figura 5) não existiu diferença na produtividade quando comparadas com a testemunha sem aplicação de aérea glifosato (-50 m). As plantas de arroz demonstraram alta capacidade de recuperação, mesmo quando atingiram níveis de fitotoxicidade entre 70 e 80% aos 14 DAA (Figura 1) e dose de deriva entre 5 a 15% (Figura 3). Já em distâncias menores a 150 metros, houve morte de plantas, provocando redução na produtividade. Se sugere que continuar com o manejo com adubações de cobertura ajuda as plantas a se recuperar. Camargo e colaboradores (2011) observaram recuperação de plantas de arroz com altos níveis de injúria pela aplicação de herbicidas em pós-emergência, sugerindo que o manejo da cultura e adição de nutrientes por fertilizantes, assim como a entrada de água, contribuem para recuperação das plantas.

### **Conclusão**

As taxas de deriva estimadas mediante o nível de injúria das plantas sentinelas foi de 13,9%, 13,6% e 4,5% da dose de bula (1920 g e.a.ha<sup>-1</sup>), correspondente as distâncias de 150, 200 e 400 m respectivamente. Existiu morte de plantas e redução de produtividade para as plantas situadas entre 0 a 150 metros de distância. Já nas distâncias entre 200 a 400 metros, não existiu redução na produtividade quando comparada com a testemunha, inclusive quando os níveis de injúria atingiram de 52 a 82% nas avaliações de fitotoxicidade.

### 3. Manuscript II – Glyphosate drift on rice affected by crop stage and sowing time

Cordova, R.A., Tomazetti, M.B., Nogueira, M.M., Agostineto, D., Avila, L.A.,  
Camargo, E.R.,\*

First author: graduate student, Department of Fitossanidade, University Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brazil; second author graduate student, Department of Fitossanidade, University Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brazil; third author: graduate student, Department of Fitossanidade, University Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brazil; fourth author: professor, Department of Fitossanidade, University Federal of Pelotas (UFPel), RS, Brazil; fifth author: professor, Department of Fitossanidade, University Federal of Pelotas (UFPel), RS, Brazil; sixth author: professor, Department of Fitossanidade, University Federal of Pelotas (UFPel), RS, Brazil; Corresponding author's email: raulco77@hotmail.com

This research was conducted to evaluate if injury of glyphosate from drift events would affect the rice recovery depending on sowing time and if potential injury at different phenological stages would result in yield losses. In order to achieve that, studies were conducted to evaluate rice responses to simulate rates of glyphosate at three growth stages and two sowing times. During the first crop season (2016-2017), For the four-leaf stage (V4) in the early sowing time (EST), rice recovered over time, despite the high injury level observed at the initial evaluation, no affecting grain yield. In contrast, for V4 in LST at proportion of 12,70% of full rate was enough to reduce yield by half ( $X_{50}$ ). Plots treated at V8 stage displayed a significant tolerance, having no contrasting differences between both sowing times. It was needed 17,1 and 21,32% to halve the yield in EST and LST respectively. Reproductive stage (PD), presented the less tolerance, and 10,4 and 5,6% were the values reported for the  $X_{50}$  parameter for EST and LST respectively. During the second crop season (2017-2018), for the V4 stage, both sowing times displayed recover capability. It was needed 29.7% (EST) and 26.6% (LST) to halve yield. Plots treated at V8 stage displayed a productivity contrast between sowing times, EST shown a better performance 24,7% ( $X_{50}$ ) than the LST 16.4% ( $X_{50}$ ). With respect to PD state, results reiterate that the reproductive stage is more susceptible in comparison with vegetative stage. it was needed 3.7% (EST) and 1.3% (LST) to halve yield. It is suggested that a difference in temperature and solar irradiance played a role in plants response, benefiting recovery from vegetative stages (V4 & V8) and yield at EST of both sowing times.

## Introduction

Brazilian state of Rio Grande do Sul is well-known for the production of worldwide important cereals. Because of the seasonal conditions, winter is the perfect time for wheat production. As the winter ends and the weather warms, the southern flat landscape become quite suitable for flooded rice production. In early spring, cold fronts coming from the antartic occasionally threaten rice plants. Despite the risk of low temperature to affect rice establishment and growth, in some regions of the State, growers choose to seed early, because rice plants will reach reproductive stage when there is maximum sunlight radiation, maximizing crop yield (SOSBAI, 2014). Rice fields covered an area along the state of 1.084.884 ha, with production of 7,3 million tons. Around 70% of the rice land is under hydromorphic soils (Reis,1998). Since 2009, soybean as a crop rotation has increasing acceptance among rice growers and rice-soybean rotation area has grown from 11.150 ha at 2009 to 297.453 ha at 2018 (IRGA, 2018).

With respect to technical approaches, management of soybean enables the use of herbicides not labeled for rice. Application of metolachlor, for example, allows growers to bring down the selection pressure from problematic grasses such as red rice and barnyardgrass. Besides, soybean-cropping system, may take advantage of rice irrigation systems and enriches the soil carbon content in no-till (Mazzilli et al., 2015). However, the predominant reason for its use is that glyphosate-resistant soybean brings advantages over post-emergence treatment cleaning the field from weeds at low cost (Duke and Powles, 2008).

For crops to perform well it is necessary to reduce resource competition between crop seedlings and weeds. Therefore, the best way to manage undesirable plants is with use of non-selective herbicides where the main herbicide use at pre-plant burndown and spike stage (crop coleoptile has reached the soil surface) is glyphosate. As a result of a low vapor pressure, glyphosate molecule has no risk of volatilization when exposed at atmosphere (Senseman, 2007). Consequently, there is no transport of glyphosate in a gas form after field treatment that could injured crops in adjacent areas. Thus, the unique off-target risk is while spraying the fields. Glyphosate application in PRE from both rice and soybean crops in addition to the frequent applications in POST for glyphosate-resistant soybean, increase the chances of drift to injury rice from adjacent areas over a range of growth stages.

Considering that rice and soybean are produced in large areas, aerial application is the quickest way to meet herbicide demand application in several regions of the State. However, use of aerial sprayers intensifies the potential issues with pesticide drift. When meteorological conditions are opposite to droplets deposition, an amount of pesticide could reach non-target areas. Within weather factors that influences drift are, not only wind speed (Alves et al., 2017) or air temperature (Arvidson et al., 2011), but even a fog in the course of an inversion event might affect droplets deposition (Crabe et al., 1994). Concerning the technical aspects that contribute with drift is possible to list: high driving speed (Van de Zande et al., 2004) and flight height above field (Oliveira et al., 2014) as the most commons factors to increase the off-target movement of pesticides. Clearly weather conditions affect deposition of a sprayed pesticide in the target, but it also influence herbicide performance in plants. Translocation of herbicides is enhanced by an increment in air temperature and light intensity (Coupland, 1983). Experiments with forage grass species, reported that glyphosate effect is higher in warm and humid conditions (Adkins et al., 1998).

Another important aspect is that farms usually fragment the sowing time either due whether conditions or due availability of farm equipment. Consequently, sowing time is spread over a period of time in extensive areas. As it has been specified before, in contrast with a late sowing time, rice from areas that are sown in early spring have to endure a colder weather when emerges. Taking into account that temperature plays a role in plants herbicide response, it makes necessary to contemplate sown time as a factor. Otherwise, yield losses caused by glyphosate in a drift situation might be miscalculated in function of the weather they are exposed.

The rice-plants symptoms exposed to glyphosate include, in vegetative stage, immediate cessation of growth, tightly rolled new leaf, a general yellowing of new leaf and reddening of plant base. Whereas in reproductive stage symptoms includes, malformed panicle and flag leaf, malformed seed in a form of parrot beak, failure at panicle emergence (Webster et al., 2018) and, in worst scenarios, plant death.

In a case of drift, perhaps the amount of herbicide that reaches rice adjacent areas is not enough to kill plants, but certainly, it is to negatively affect them. However, plant herbicide tolerance is frequently dependent on weather and growth stage (Dennis et al., 2016). Hence, the objective of this study is to evaluate the effect

of glyphosate treatment at three growth stages in interaction with environmental conditions, in order to determinate the potential yield lost caused by drift events.

### Materials and Methods

Field studies were conducted at the Centro Agropecuário da Palma, UFPel, from 2016 through 2018. The soil was disked to reduce vegetative biomass during winter and spring. Prior to seedling the area was leveled to allow flooded irrigation. The rice cultivar IRGA 424 RI (imidazolinone resistant) was drill seeded ( $90 \text{ kg ha}^{-1}$ ) in September 29<sup>th</sup> (early sowing time - EST) and November 7<sup>th</sup> (late sowing time - LST) in 2016, and September 13<sup>th</sup> (EST) and November 11<sup>th</sup> (LST) in 2017. Plots consisted of 9 rows spaced at 0,17 m and 5 m long.

The experimental design consisted in factorial (3 factors) with treatments arranged in randomized complete block and four replications. Factor A consisted of two sowing times: early and late aiming to have plants exposed to distinct weather conditions, colder and warmer temperature, for example, at EST and at LST, respectively. Factor B consisted of application at different rice growing stages: four-leaf stage (V4), eight-leaf stage (V8) and panicle differentiation (PD). Factor C consisted of five glyphosate rates of 0, 5, 10, 15 and 20% of a recommended label rate of  $1440 \text{ g a.e ha}^{-1}$  (Roundup Transorb<sup>®</sup>,  $480 \text{ g a.e L}^{-1}$ ). Each application was made with a backpack  $\text{CO}_2$ -pressurized sprayer calibrated to deliver a constant carrier volume of  $150 \text{ L ha}^{-1}$ , at 207 kPa and equipped with 4 Teejet<sup>®</sup> XR 110.015 nozzles spaced at 0.5 m. Application speed was  $3,6 \text{ km hr}^{-1}$ .

The study area was maintained weed free with the use of Kifix<sup>®</sup> (imazapyr  $525 \text{ g a.e kg}^{-1}$  + imazapic  $175 \text{ g a.e kg}^{-1}$ ) at  $240 \text{ g ha}^{-1}$  applied at two times ( $120 \text{ g ha}^{-1}$  one week after seeding and  $120 \text{ g ha}^{-1}$  one day before initial flooding, respectively). Rice was fertilized at sowing with an application of  $335 \text{ kg ha}^{-1}$  of 05-20-20 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O) and  $360 \text{ kg ha}^{-1}$  of urea (162 kg of nitrogen), distributed equally in three applications: one day before flooding, sixth-leaf state (V6) and at panicle initiation (R0). Crop protection treatments at flowering (R4) included fungicides azoxystrobin ( $50 \text{ g a.i ha}^{-1}$ ) and tricyclazole ( $150 \text{ g a.i ha}^{-1}$ ) and insecticides thiamethoxam ( $28 \text{ g a.i ha}^{-1}$ ) and lambda-cyhalothrin ( $21 \text{ g a.i ha}^{-1}$ ) to protect reproductive stage from grain diseases and insects.

Rice injury was evaluated 14 days after treatment (14 DAT) based on chlorosis of foliage and tissues death, where 0 = no injury and 100 = plant death. It was decided to do an early visual injury assessment as possible to correlate with plot

yield and provide an equation that could be used to predict yield from visual injury in a drift event. After occurrence of drift decision must be made by farmers, if they will keep the rice, reseed it, increase fertilization or others. Therefore, the sooner hard data can be used to support a decision-making, the best this can benefit a farmer.

Stems at four-leaf state (V4), stems at eight-leaf state (V8) and panicles counts were determined using one meter of row. In the V8 glyphosate treatment, were found new stems in response to glyphosate treatment, some of them with tissues damage. In this particular case, was made a subset of stems with irreversible tissues damage, called "inviable stems". Number of filled spikelet's per panicle, was determined by harvesting 10 panicles per plot. The area was drained before harvesting. Final grain yield was estimated by harvesting an area of 3,40 m<sup>2</sup> (4,00 m by x 0,85 m). Grain moisture was adjusted to 13% moisture and converted to kg ha<sup>-1</sup>. Yield and rice visible injury were estimated at the two crop seasons; the rest of the assessments were estimated only for the first crop season.

All data were subjected to analysis of variance (ANOVA) using R statistical software (R Core team, 2014), homogeneity and normality of variance were verified using Shapiro-Wilk's test. Means for significant effects were separated using Tukey's test ( $P \leq 0,05$ ). Interaction among the three factors was observed for all variables. A three-parameter sigmoidal-logistic model (equation 2) was fit to determinate yield vs glyphosate rate in function of the sowing time and growth stage.

$$Y = \frac{\alpha}{1 + \left(\frac{x_i}{x_{50}}\right)^\beta} \quad [2]$$

Where  $Y$  is the yield expressed in kg ha<sup>-1</sup>,  $\alpha$  is the upper limit representing the maximum yield,  $x_{50}$  is the glyphosate rate at which maximum yield is reduced by 50%  $\beta$  is the slope around  $x_{50}$ .

For yield by visual injury was made linear regression, with a modified two parameter polynomial (equation 3).

$$Y = Y_0 + \beta X_i \quad [3]$$

Where  $Y$  is the yield expressed in kg ha<sup>-1</sup>,  $Y_0$  is the initial value of yield when  $X_i = 0$  (percent of visual injury) and  $\beta$  is the slope about  $X_i$ . The data were fit using SigmaPlot version 12.5, from Systat Software, Inc., San Jose California USA.

## Results and discussion

Injury by glyphosate simulated drift displayed differences among treatments. The interactions between factors and years was demonstrated by ANOVA at the assessment made 14 days after treatment (14DAT) (Table 1). Consequently, results were presented for each year separately (Figure 6).

Table 1 – P values for assessments of visible injury and yield.

Source of variation	Pr > F for analyzed parameters	
	Visible injury at 14DAT (figure 4)	Yield (Kg ha <sup>-1</sup> ) (figure 10)
Year (Y)	0,0029	<0,001
Block (year)	<0,001	<0,001
Sowing time (ST)	<0,001	<0,001
Rice growing stage (RS)	<0,001	<0,001
Glyphosate rate (G)	<0,001	<0,001
(ST)(RS)	<0,001	<0,001
(G)(ST)	<0,001	<0,001
(ST)(Y)	<0,001	<0,001
(RS)(G)	0,1625	<0,001
(RS)(Y)	<0,001	<0,001
(G)(Y)	<0,001	0,012
(ST)(RS)(G)	0,0008	<0,001
(ST)(RS)(Y)	0,0081	<0,001
(ST)(G)(Y)	0,0150	<0,001
(RS)(G)(Y)	<0,001	<0,001
(ST)(RS)(G)(Y)	<0,001	<0,001

Among the plant stages, visible injury was higher at four-leaf state (V4) independent of the sowing time. There was a higher effect of glyphosate at the second sowing time (LST) for V4 treatment, as shown in Figure 6 (A & B first cropping season). In LST, 10% of glyphosate rate was enough to reach similar injury level caused by 15-20% of the rate at early sowing time (EST). For the eight-leaf state (V8) higher injury level was presented at EST, but just from the higher doses of 15 and 20%. Rice injury from simulated drift at the reproductive stage (PD) was significantly affected by sowing time conditions. Visual injury at 5% for LST was higher than for 20% rate at EST. The results suggest that glyphosate drift consequences on visual injury would be dependent on weather conditions for V4 and PD stages (Figure 6A and 6B).

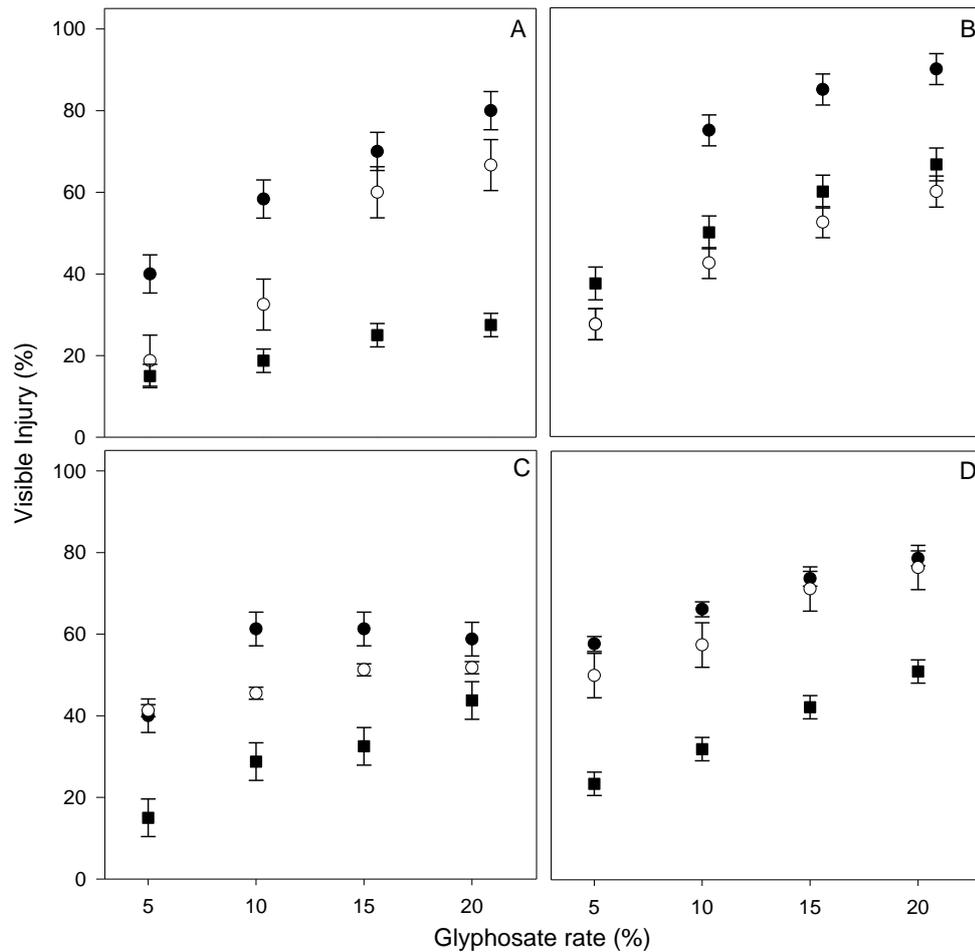


Figure 6 – Visible injury (%) at 14 days after treatment (14 DAT) from simulated drift of glyphosate (5-20% of full rate= 1440 g e.a ha<sup>-1</sup>). Early sowing time (A) and late sowing time (B) crop year 2016-2017. Early sowing time (C) and late sowing time (D) crop year 2017-2018. Four-leaf stage, V4 (•); eight-leaf stage, V8 (○) and; panicle differentiation, PD (▪). Capão do leão, RS, 2017. Symbol = treatment means, error bars = less significant difference (LSD) according to t-test ( $P \leq 0,05$ ), for glyphosate rate factor, at each sowing time and growth state.

Injury level at V4 and V8 for the second year (figure 6C & 6D) was lesser than in the first year, no showing differences between rates of 10 to 20% from V4 EST neither 15 & 20% from V8 EST. Nevertheless, sowing time conserved the contrast in plant response, showing a higher injury level at LST when compared with EST. In the reproductive stage (PD), injury level kept lesser than the vegetative stage (V4 & V8), no showing significant contrast between sowing times (figure 6C & 6D). It is possible that over the second year, the exception for the PD response, denoting no difference over sowing times was a cause to present years' data separately, having full interaction between years and factors at the ANOVA. A second reason could be,

the lesser response by the whole treatments of V4 and V8 from the second year when compared with the first.

For the first crop year (2016-2017), air temperature differences between sowing times help to explain the contrast in visual injury among the rice stages. During V4 application temperature at EST was, on averaged, 1,75°C below LST during the 1-7 DAT and 7°C during the 8-14 DAT (Table 2). Therefore, that incremental difference in favor to LST certainly had influenced the display of glyphosate symptoms over a young stage treatment. On the other hand, the V8 temperature scenario was similar with the visual injury, i.e. not a great contrast was perceived between sowing times. In fact, LST temperature was 3,1°C higher at 1-7 DAT period, and then fall 1,7°C below EST temperature at 8-14 DAT period. Hence, for V8 an incremental difference in temperature did not exist that could influence plant response between sowing times. With respect to reproductive stage of development (PD), despite minimal differences in temperature between sowing times, it was displayed a significant difference in the injury level. Perhaps another factor as sun radiance made a difference between both. The role of solar irradiance at growth reflected over variables such as the number of stems, panicles and yield will be discussed further. For the second crop year (2017-2018) there were brief differences from the temperature reported between sowing times, V4 EST were 3,5 ° C below V4 LST. That fact explains the differences in visible injury from the sowing times. However, differences were evident just for the highest rates of glyphosate (15 and 20%). V8 stage also displayed differences at injury from sowing times, even though the average in air temperature was nearly equal, it could be that 1.8°C higher at LST over the first seven days after treatment would be enough to increment the injury level at LST. PD stage, had no increase in temperature over the second sowing time (LST) neither for visible injury (Figure 6C & 6D).

Table 2 – Air average temperature (°C) to the municipality of Capão do Leão during the 21 days after treatment (DAT).

Crop year 2016-2017						
Range DAT	EST			LST		
	V4	V8	PD	V4	V8	PD
1 – 7	19,3	21,1	24,2	21,1	24,2	25,48
8 – 14	17,5	24,7	22,9	24,71	22,97	22,52
15 – 21	20,6	22,8	22	22,88	22	24,95
T° average	19,1	22,9	23,05	22,9	23,05	24,32
Crop year 2017-2018						
Range DAT	EST			LST		
	V4	V8	PD	V4	V8	PD
1 – 7	19,0	22,6	24,4	22,6	24,4	23,3
8 – 14	19,3	22,8	22,6	22,8	22,6	21,7
15 – 21	20,5	24,1	23,3	24,1	23,3	23,4
T° average	19,6	23,1	23,4	23,1	23,4	22,8

(INMET, 2018) (EMBRAPA, 2018)

For the stems per meter assessment at early stage (V4), full interaction was observed between glyphosate rates and sowing times (Table 3). Therefore, data is presented at figure 7.

Table 3 – P values for assessments of Stems per meter for V4 and V8 treatments, Percentage of inviable stems at V8 treatment, Panicles per meter and Filled spikelet's per panicle.

Source of variation	Pr > F for analyzed parameters				
	Stems V4 (m) (figure 5)	Stems V8 (m) (figure 6A)	Inviabile stems V8 (%) (figure 6B)	Panicles (m) (figure 7)	Filled spikelet's per panicle (figure 9)
Block (year)	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
Sowing time (ST)	<0,001	0,953	<0,001	<0,001	0,053
Rice growing stage (RS)	--	--	--	<0,001	<0,001
Glyphosate rate (G)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
(ST)(RS)	--	--	--	<0,001	0,003
(G)(ST)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
(RS)(G)	--	--	--	<0,001	<0,001
(ST)(RS)(G)	--	--	--	<0,001	<0,001

(--) two factor parameters, sowing time by glyphosate rate.

Plant tillering at young vegetative stage (V4) reflected the effect of the sowing time. At EST the low temperature affected seed germination, leaving spaces between the emergent seedlings. As a response, plants produced an extra quantity of stems, resulting in a higher tiller number than at LST. There was a difference with respect to

the control treatment (no glyphosate) between sowing times (Figure 7). Plots treated with rate 5% had an increment in the stems number when compared with non-treated at both sowing times. As it is known glyphosate acts as an inhibitor of the 5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase (EPSPs), cutting the supply of aromatic compounds and killing the plant by secondary effects caused by a lack of them (Duke and Powles, 2008). But it is suggested, that when applied at low rates, it hardly constricts carbon flux of phosphoenolpyruvate (PEP) through the shikimate pathway, therefore, in response PEP intermediates must be reallocated by branched pathways. If PEP is driven to the Acetyl-CoA carboxylase, which is the first enzyme of fatty acid biosynthesis used at membranes constitution (Sasaki and Nagano, 2004), an overproduction of fatty acid would promote cell division, increasing tissues and the further formation of stems, explaining the stems increment in plots treated with low rates. Several studies of glyphosate at low rates treatment and its effect in plants growth have been defined as hormesis, but all of them are just detailed as an overcome from herbicides suppression without biochemical explanation. For the subsequent rates, the number of stems decreased since 10% of rate at LST, while at EST, 10% of rate appears to be stimulating yet. For the two last rates the effect was completely negative, affecting yet more at LST where the total account fell to almost 20 stems per meter (Figure 7).

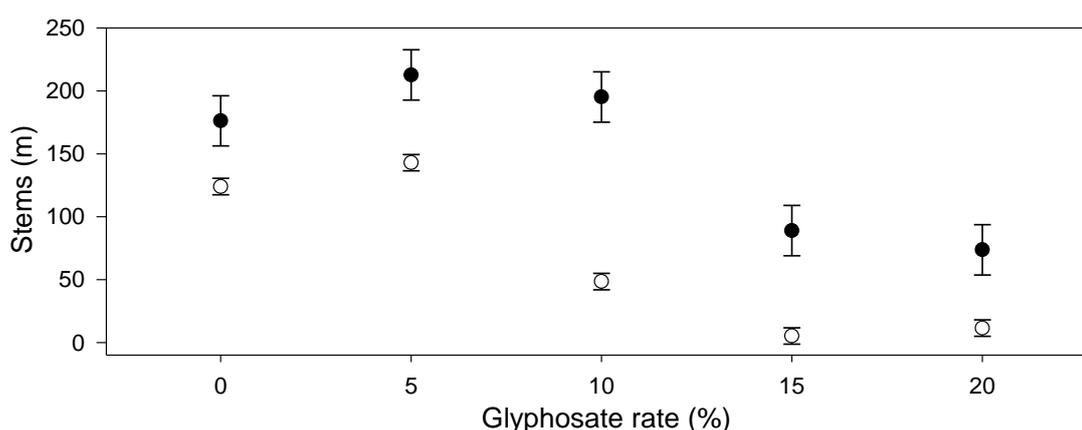


Figure 7 – Total number of stems per meter at 30 days after four-leaf stage (V4 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%). Early sowing time, (•) and; Late sowing time (○). Capão do leão, RS, 2017. Symbol = treatment means, error bars = less significant difference (LSD) according to t-test ( $P \leq 0,05$ ) for glyphosate rate factor at each sowing time.

For the stems per meter assessment at mature vegetative stage (V8) and the assessment for inviable stems, full interaction was observed between glyphosate rates and sowing times (table 3). Therefore, data is presented at figure 8.

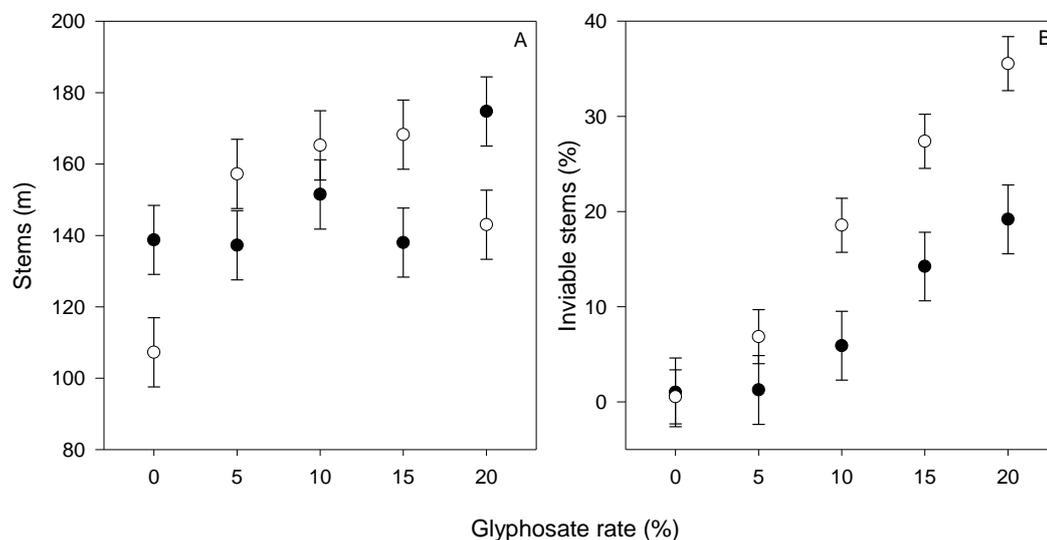


Figure 8 – Total number of stems (A) and percentage of inviable stems (B). per meter at 30 days after eight-leaf stage (V8 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%) Early sowing time, (•) and; Late sowing time (○). Capão do leão, RS, 2017. Symbol = treatment means, error bars = less significant difference (LSD) according to t-test ( $P \leq 0,05$ ) for glyphosate rate factor at each sowing time.

During the count of stems at V8 state treatment, it was necessary to do a subset and calculate the percentage of wilt stems, rotten stems and stems with structural damage affected by glyphosate. This subset was called percentage of inviable stems. As demonstrated before, some low rates can stimulate the stems number in young plants, but unlike V4 state, plants at the end of vegetative growth (V8) already have a defined quantity of stems to go into reproductive stage, and consequently its gems are getting dormant (Itoh et al., 2005). Therefore, low rate treatment at V8 cannot stimulate cellular division any longer. Nevertheless, if the current stems are affected, a plant must produce others capable of flourish as an effort to ensure seeds production. In some cases, when a low glyphosate concentration remains, the lack of aromatic compounds is just enough to interfere with tissues constitution keeping stem production with structural damage (Figure 8). This action increases the total account, and it is function of glyphosate rate and once again dependent by sowing time. To the EST scenario, the stems number was increased just at glyphosate 20%, when the proportion of inviable stems reach almost 20% (Figure 8). To the LST, the total stems was increased since glyphosate

5%, and held high until 15%. In the last glyphosate rate (20%), the increment was lower than the middle rates even when the percentage of inviable stems stayed growing.

For the panicles per meter assessment at reproductive stage (PD), full interaction was observed between glyphosate rates, rice growing stage and sowing times (table 3). Therefore, data is presented at figure 9. Once plant development achieved reproductive stage, panicle number was counted to find out if over time shoot suppression at vegetative stage (V4 & V8) have an opportunity to retrieve. In that sense, V4 displayed a recover capability at EST, where at 15 and 20% of rate the panicle values were closer to control treatment (Figure 9) than the observed for total stems (Figure 7), and the hormesis effect for rates of 5 & 10% is not reflected anymore. Recovery from V4 treatment decreased at LST, giving opportunity only to 10% of rate, and maintaining low panicles count to 15 and 20%.

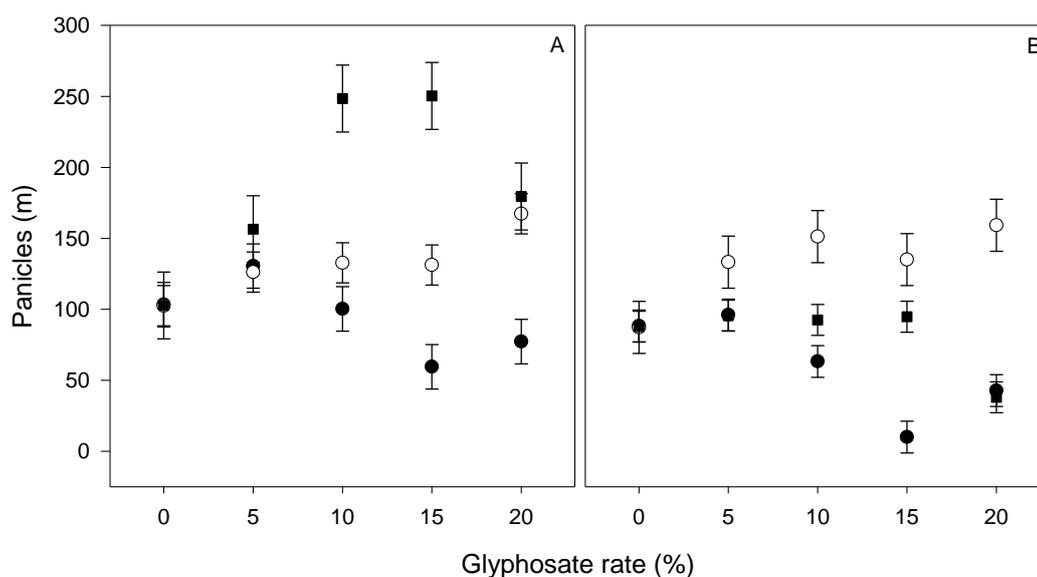


Figure 9 – Number of panicles per meter at 30 days after panicle differentiation (PD 30 DAT) treatment from simulated drift of glyphosate (0-20%). Early sowing time (A) and late sowing time (B). Four leaf stage, V4 (•); Eight leaf-stage, V8 (○) and; panicle differentiation, PD (▪). Capão do leão, RS, 2017. Symbol = treatment means, error bars = less significant difference (LSD) according to t-test ( $P \leq 0,05$ ) for glyphosate rate factor, at each sowing time and growth state.

To plots treated at mature vegetative stage (V8), panicles number is not a good approach to infer about recovery. As detailed before at V8 stems count, when a stem is injured the plant must produce other that guaranteed seed production. That

response increases the total stems per plant and it is reflected as well at the panicles number. Once again results were affected by sowing time, at EST panicle number was significant over control treatment only at 20% of rate, and at LST all rates were higher than control (Figure 9). An interesting fact is that glyphosate 20% show less effect than 15% at panicles count along vegetative treatments (V4 and V8), being contrasting enough to show statistical difference from V4 LST and V8 EST, even when visual injury was crescent as glyphosate rate (Figure 6), it suggests that at 20%, translocation could be auto inhibited affecting only foliar organs without shoot damage (Geiger and Bestman, 1990).

Panicle count at PD treatment displayed an interesting behavior among sowing times. At EST number of panicles increased with glyphosate rates reaching maximum between 10 and 15% and then decreased at 20% (Figure 9). For all rates panicle number were higher than control (10 and 15% resulted in more than doubled). Nevertheless, panicles in plots treated at PD were stunted (Figure 10) affecting seed production. To the LST scenario, there were no differences between rates and control treatment, except for 20% where panicle number was lessened.

Work by others on leafy spurge (*Euphorbia esula* L.), revealed that glyphosate effects on vegetative growth and increase of the stems number were induced by molecular changes in the biosynthesis of hormones affecting the cell cycle (Doğramacı *et al.*, 2016). Early experiments at the same species demonstrated that glyphosate treatment stimulated axillary branching at fall applications causing a two-fold increase in the stems number, but no effect in spring (Maxwell *et al.*, 1987) suggesting that plants response could be in function of the environmental conditions. Sun radiance could have made a difference between sowing times, it was estimated that during flowering plants received an average of  $469,20 \text{ cal cm}^{-2} \text{ day}^{-1}$  at EST and  $224,4 \text{ cal cm}^{-2} \text{ day}^{-1}$  at LST (EMBRAPA, 2017). Thus, it seems that an extra quantity of light at EST could have influenced plants photosynthesis increasing the number of panicles. For non-treated plots light difference resulted in increasing yield. Sun radiance, also, could explain stems count at V8 treatment. As it was reported, stem number at LST (Figure 8) displayed the same behavior than panicle number at EST (Figure 9). It is important to highlight that V8 at LST and PD at EST share the same time at field, being benefited by the plenty sun radiance time of year, and thus displaying similar responses.



Figure 10 – Stems with structural damage from glyphosate treatment at mature vegetative stage V8 (A), ordinary and stunted panicle from non-treated and glyphosate treatment at reproductive stage PD (B). Capão do leão, RS, 2017.

For the number of filled spikelets per panicles assessment, full interaction was observed between glyphosate rates, rice growing stage and sowing times (table 3). Therefore, data is presented at figure 11. The number of filled spikelets per panicle is a variable that complements panicles counts. To plots treated at V4, a difference between rates and non-treated (glyphosate 0%) was observed just to LST, where the effect of glyphosate at 15% was higher than the non-treated (Figure 11). In contrast, glyphosate 15% at LST presented less panicle number (Figure 9). It is possible that a reduction in panicle number decrease competition among them, increasing the total filled grains per panicle. Other experiments simulating drift of glyphosate on rice reported higher of spikelet number in plots with low number of panicles (Ferreira et al., 2006). For plots treated at V8 state, the number of seeds decreased as increase glyphosate rate. At EST there was a significant difference between rates of 5 and 10%, and for LST 5% of rate was enough to reduce spikelet's number at 40%, so, less rate made a higher difference at LST. Drift treatment at PD

displayed the worst scenario from the three plant growth states. The reduction at spikelet's number was proportional to the increase at glyphosate rate, at rate of 20%, panicles produce near 15 grains each, there were no big differences among sowing times (Figure 11).

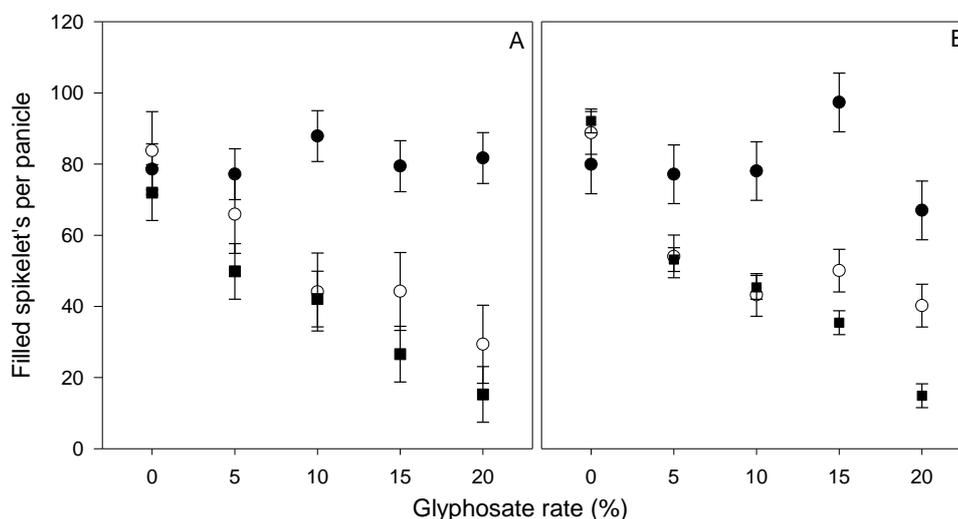


Figure 11 – Number of filled spikelets per panicle from simulated drift of glyphosate (0-20%). Early sowing time (A) and late sowing time (B). Four-leaf stage, V4 (•); Eight-leaf stage, V8 (○) and; panicle differentiation, PD (▪). Capão do leão, RS, 2017. Symbol = treatment means, error bars = less significant difference (LSD) according to t-test ( $P \leq 0,05$ ) for glyphosate rate factor, at each sowing time and growth state.

Plots yield is clearly the best approach to conclude about the treatments along growth stages influenced by sowing time scenarios. As detailed in Table 4, EST was around  $1000 \text{ kg ha}^{-1}$  higher than LST with respect to parameter  $\alpha$  (maximum yield) for the first year and around  $600 \text{ kg ha}^{-1}$  for the second year, confirming that sun radiance enhanced grains production at EST. The role of temperature is reflected only for the first year in V4 stage treatment, where certainly exists a significant difference between both sowing times (Table 2). During the first year, for the warm scenario (LST) 12,7% of glyphosate rate was enough to reduce 50% of the yield, in contrast, plants from EST treated at V4 were capable to recover from rice injury. Even at the highest rate (20%) yield did not present significant losses as consequence, the sigmoidal-logistic model was incapable of estimating  $X_{50}$  rate. In other words, it would be needed bigger rates of glyphosate at EST and in a young stage (V4) to lose 50% of the yield. For the second year, recover capability was present at the two sowing times for V4 plots.  $X_{50}$  values was 29.7% (EST) and 26.6% (LST), being EST further tolerant from both (table 4). Therefore, over the two crop

years, tolerance was preferential on EST from both sowing times. Plants will recover from 5% of rate at this early development stage.

For plants treated at mature vegetative stage (V8) concerning to the first year, tolerance was increased when compared with V4 LST from the first year. It would be needed 17,1% and 21,3% to reduce 50% of yield at EST and LST respectively. It might appear that LST had higher tolerance between sowing times since it is needed more rate to reduce 50% of the yield. However, it is necessary to remind that  $\alpha$  from EST was higher from both sowing times, thus 50% of the yield at V8 EST would be higher as well. So, even when V8 EST was less tolerable, yield was higher. At the second year, EST conserved a greater tolerance from both sowing times. It would need 24.7% of glyphosate to halve the yield, by contrast LST reported 16.4% of  $X_{50}$ . Regarding two the second crop year, LST not only presented a lesser  $\alpha$  parameter from both sowing times (table 4), but also presented a lesser  $X_{50}$  glyphosate rate. Hence, along vegetative stage, recovery had a higher frequency over EST.

Table 4 – Estimated parameter values from the curve fittings on the data shown in figure 10 using equation 2.

Crop year	Sown time	Stage	$\alpha$ (kg ha <sup>-1</sup> )	Confidence interval $\alpha$ (kg ha <sup>-1</sup> )		$\beta$	Confidence interval $\beta$		$X_{50}$ (%)	Confidence interval $X_{50}$ (%)		$r^2$
2016-2017	EST	V4				0,04 <sup>NS</sup>	-0,15	0,05	0,001 <sup>NS</sup>	0,001	0,001	0,25
		V8	10503,08 *	9860,53	11145,65	1,46*	0,91	2,02	17,09*	14,01	20,17	0,96
		PD				0,88*	0,51	1,25	10,42*	7,74	13,1	0,85
	LST	V4				2,72*	2,25	3,19	12,7*	11,95	13,46	0,96
		V8	9436,51 *	9167,81	9705,20	2,15*	1,56	2,75	21,32*	19,17	23,47	0,84
		PD				1,82*	1,5	2,15	5,62*	5,02	6,22	0,98
2017-2018	EST	V4				1,47*	0,55	2,39	29,73*	17,15	42,31	0,75
		V8	10275,97 *	9727,58	10824,36	1,05*	0,49	1,6	24,67*	15,28	34,03	0,69
		PD				0,79*	0,36	1,22	3,71*	1,48	5,94	0,95
	LST	V4				1,12*	0,65	1,59	26,6*	18,44	34,75	0,66
		V8	9665,34 *	9280,69	10049,98	2,31*	1,66	2,97	16,44*	14,95	17,93	0,89
		PD				0,99*	0,29	1,69	1,26*	-0,35	2,87	0,99

\* significance at 5% level, confidence intervals of parameters 95%.

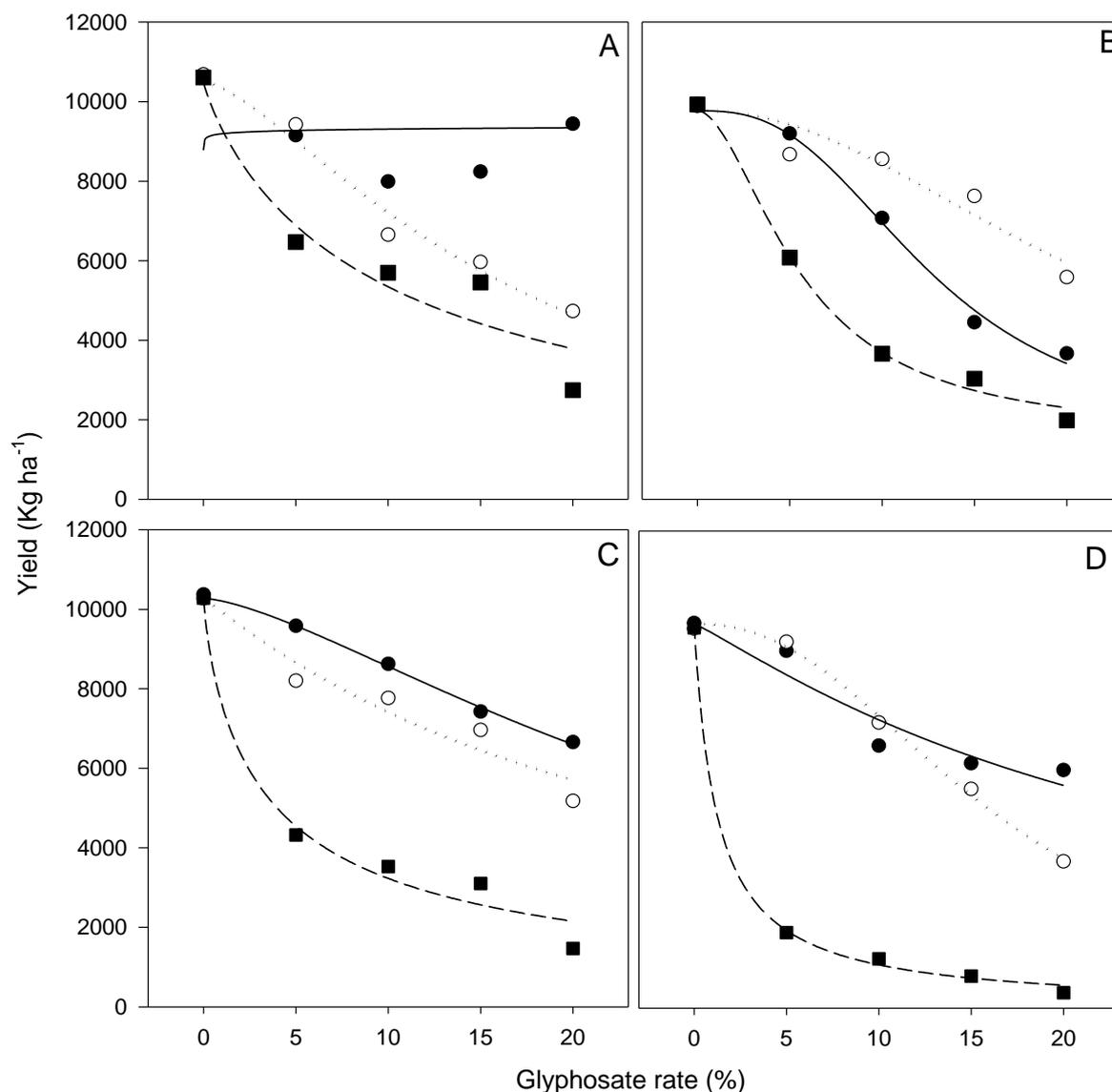


Figure 12 – Yield (kg ha<sup>-1</sup>) from simulated drift of glyphosate (0-20%). Early sowing time (A) and late sowing time (B) crop year 2016-2017, Early sowing time (C) and late sowing time (D) crop year 2017-2018. Four-leaf stage, V4 (•); Eight-leaf stage, V8 (○) and; Panicle differentiation, (▪). Capão do leão, RS, 2016-2018. Symbol = treatment means, regression lines V4 (—), V8 (⋯) & PD (---).

Crop yield were affected the most when glyphosate drift was simulated at early reproductive stage (PD), in comparison with vegetative stages (V4 and V8) and the result was frequent over the two years. Considering that reproductive stage demands significant amounts of amino acids to the biosynthesis of structural proteins (Xu et al., 2014), a lack of aromatic amino acids could be more impacting in overall plant response. Around 10% (first year) and 4% (second year) was enough to reduce yield by 50% at EST (Table 4). For the second sowing time, sensitiveness increase

even more, it was needed just 5% (first year) and 1% (second year) of the rate to halve the yield (Table 4).

A yield estimation from a glyphosate-injured crop, whereby the injury level, could help rice growers to make decisions about the fate of the crop (whether to continue the management or not is a determination that should be done with an accurate tool). Besides injury level, growth stage and environment conditions were considered in the construction of a simple device. In Figure 13, is correlated the dependence of yield and injury level, at three growth stages and each of both sowing times. The equation parameters can be seen in Table 5.

Table 5 – Estimated parameter values from the curve fittings on the date shown in figure 13 using equation 3.

Crop Year	Sowing time	Stage	$Y_0$	Confidence interval		B	Confidence interval		$r^2$
			( $\text{kg ha}^{-1}$ )	$Y_0$			$\beta$		
2016-2017	EST	V4	10681,87 *	10058,9	11304,9	-22,60 *	-35,4	-9,8	0,51
		V8	10547,42 *	10082,2	11012,6	-88,91 *	-103,6	-74,2	0,82
		PD	10391,31 *	9825,5	10957,1	-243,8 *	-277,8	-209,7	0,85
	LST	V4	9940,78 *	9295,9	10585,6	-70,25 *	-81,8	-58,7	0,81
		V8	9754,26 *	9380,2	10128,3	-64,27 *	-74,6	-53,9	0,82
		PD	9634,68 *	9306,9	9962,5	-138,2 *	-146,3	-130,2	0,97
2017-2018	EST	V4	10515,21 *	9883,1	11147,3	-46,98 *	-61,8	-32,1	0,73
		V8	10463,89 *	9995,1	10932,6	-55,84 *	-65,4	-46,3	0,89
		PD	9433,27 *	8734,5	10132,1	-195,98 *	-225,6	-166,3	0,84
	LST	V4	9927,92 *	9408,5	10447,4	-47,18 *	-56,7	-37,6	0,76
		V8	9916,80 *	9245,1	10588,5	-84,86 *	-102,8	-66,9	0,87
		PD	9047,82 *	8309,9	9785,8	-203,08 *	-227,5	-178,7	0,95

\* significance at 5% level, confidence intervals of parameters 95%.

Though simple, correlation of the visual injury with plots yield, is an algorithm that works at rice-fields without big efforts. For example, in view that  $\beta$  values are higher at PD (Table 5), 30% of injury level affects in a higher proportion at PD growth stage than at V4 and V8. For the first crop year, losses in productivity were 243,8 (EST) and 138  $\text{kg ha}^{-1}$  (LST) for each percent in crop injury. for the second crop year losses at PD were around 200  $\text{kg ha}^{-1}$  independent of the sowing time. The crop tolerance to glyphosate increases in younger stages. Herbicide tolerance of grass crops such rice has been demonstrated before, it is common to rice to recover even from 68% of injury, without yield loss at young stage treatments (Camargo et al., 2011). However, recover capability at V4 was in function of sowing time. For the first crop year, unlike V4 stage at EST, a rice crop in V4 stage with 80% of injury level at

LST would have little chances to retrieve, differences for the parameter  $\beta$  were around 3 folds higher at LST (Table 5 and Figure 13). for the second crop year losses were close, around of 47 kg ha<sup>-1</sup>. with respect to adult vegetative stage, glyphosate tolerance was settled between V4 and PD values, there were around 60 to 80 kg ha<sup>-1</sup> of losses for each injury percent, and remain consistent over the two crop years.

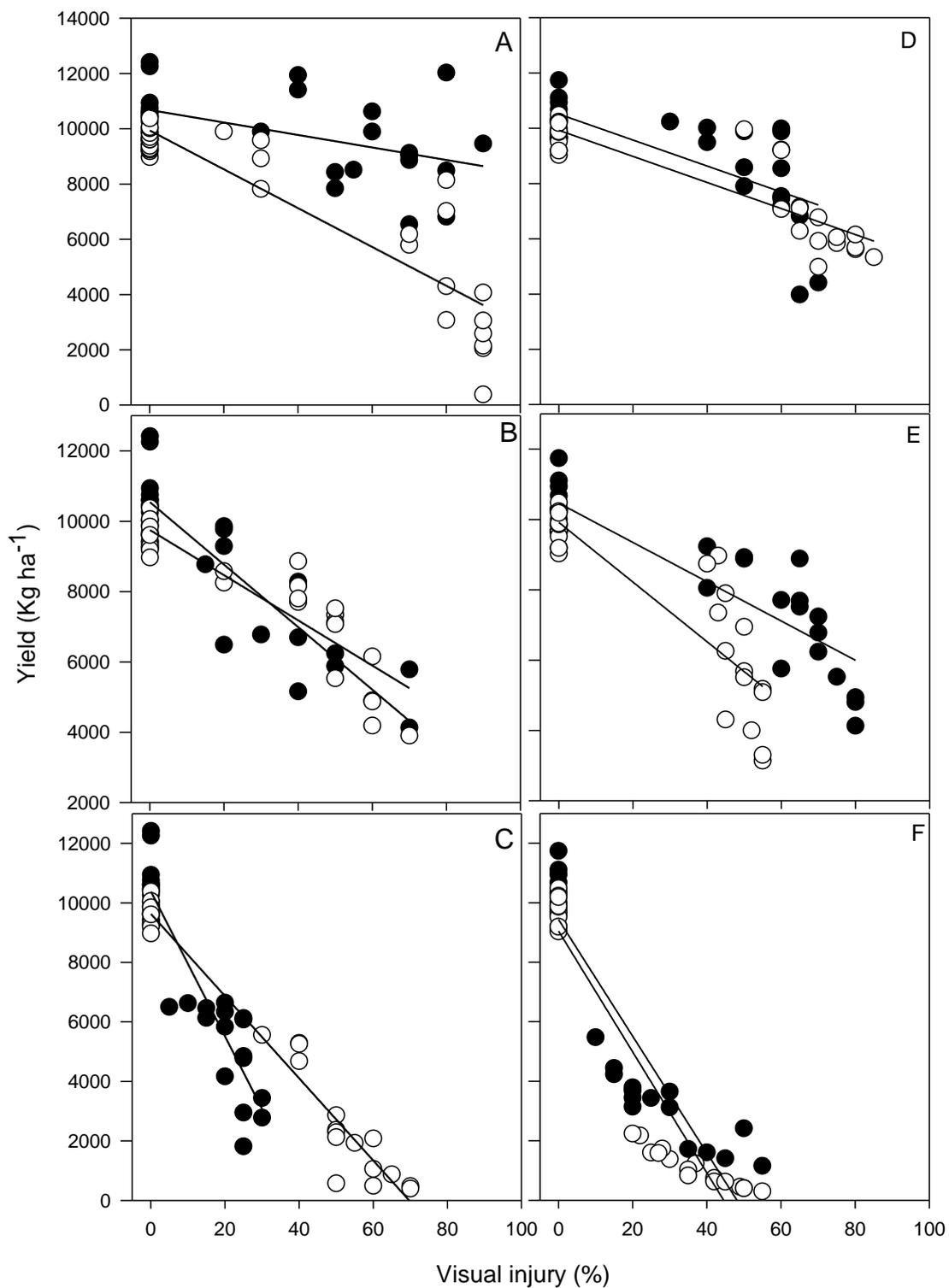


Figure 13 – Relationship between yield (kg ha<sup>-1</sup>) and visual injury (%) at 14 DAT. V4 stage (A), V8 stage (B) & PD stage (C) crop year 2016-2017. V4 stage (D), V8 stage (E) & PD stage (F) crop year 2017-2018. EST (•) & LST (◦). Capão do leão, RS, 2016-2018.

## Conclusions

Drifts effects in rice crop were affected by sowing time and growth stage. Plants at young stage (V4) were capable to retrieve, lesser losses remain reported at V4 stage over the two growing seasons when compared with the others two phenological stages. During the first crop season at EST plants were able to maintain the yield close to the control treatment even at 80% of injury. Plants at mature vegetative stage (V8) showed less tolerance to simulated drift treatments with no contrasting differences between sowing times over the two crop years, the slope values for yield loss according to the percentage of injury level were around 55 to 80 kg ha<sup>-1</sup>. Plants treated at early reproductive stage were affected the most, 30% of injury level were enough to halve yield independent of sowing time.

#### **4. Manuscrito III – Recuperação de arroz afetado por deriva simulada de glifosato mediante adubação nitrogenada**

Cordova, R.A., Tomazetti, M.B., Gomes, J.P., Andres, A., Avila, L.A., Camargo, E.R.,\*

Primeiro autor: estudante de pós-graduação, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil; segundo autor: estudante de pós-graduação, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil; terceiro autor: estudante de agronomia, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil; quarto autor, pesquisador embrapa clima temperado, RS, Brasil; quinto autor: professor, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil; sexto autor: professor, Departamento de Fitossanidade, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, Brasil; Correspondência do autor e-mail: raulco77@hotmail.com

O presente estudo foi conduzido para avaliar a recuperação de plantas de arroz afetadas por deriva de glifosato, mediante à aplicação de doses de nitrogênio. Para isto, foram realizados experimento no delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, organizado em esquema trifatorial  $2 \times 2 \times 4$ . O primeiro fator constituiu-se de duas doses de aplicação de glifosato (0 e 10% da dose de bula). O segundo fator foi dois estádios de desenvolvimento do arroz (V4 e V8) e o terceiro fator diferentes doses de nitrogênio (0, 30, 45 e 60 kg ha<sup>-1</sup>). A deriva simulada foi realizada por meio da aplicação de 10% da dose comercial de glifosato (1440 g e.a. ha<sup>-1</sup>). O experimento foi realizado nas safras agrícolas 2016/2017 e 2017/2018. Foram realizadas avaliações visuais de injúria semanalmente e a produtividade de grãos do arroz ao final de cada safra. Na primeira safra, foi possível observar redução do nível de dano 27 dias após aplicação da deriva simulada para ambos os estádios, o que sugere recuperação por parte das doses de ureia. Porém, os dados de produtividade mostram recuperação de plantas por aplicação de nitrogênio apenas para o estágio V4, onde para cada kg de N aplicado, houve ganho de 35 kg ha<sup>-1</sup> de arroz. Já para a segunda safra, ainda que as avaliações de injúria não tenham demonstrado redução do nível de dano durante os 27 dias após aplicação do glifosato, a produtividade aumentou 17 kg ha<sup>-1</sup> de arroz por cada kg de N adicional, para ambos estádios de desenvolvimento.

## Introdução

Sistemas de rotação de culturas promovem benefícios econômicos, permitem a ciclagem de nutrientes e matéria orgânica do solo, além de proporcionar a eliminação de fontes de inoculo de doenças. Também, possibilitam a redução da incidência de plantas daninhas resistentes, devido a possibilidade de rotação de mecanismos de ação de herbicidas. De acordo com Bullock (1992) não há dúvida que a rotação de culturas aumenta a produtividade e o lucro viabilizando à produção sustentável. O herbicida glifosato (inibidor da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetase, EPSPs) surgiu em 1974 para controlar amplo espectro de plantas daninhas e com baixo custo (DUKE e POWLES, 2008), podendo ser utilizado na rotação de culturas com soja RoundUp Ready (R.R.), milho R.R., algodão R.R., que apresentam gene de resistência para o glifosato. Sendo assim, é usado como alternativa para a rotação de culturas em áreas de produção de arroz irrigado. No entanto, seu uso em condições climáticas inadequadas resulta em eventos de deriva que afetam culturas suscetíveis em áreas adjacentes. O reestabelecimento das lavouras afetadas aumenta o custo de produção, comprometendo as atividades relacionadas, o uso dos equipamentos e o fornecimento de insumos, além de influenciar negativamente na produtividade.

Diversos são os fatores que devem ser considerados para melhor tomada de decisão das lavouras afetadas pela deriva de glifosato. Por exemplo, as lavouras cultivadas com arroz pré-germinado diferem das áreas de semeadura em solo seco, onde as mesmas precisam ser drenadas e estar secas para evitar atolamentos com os equipamentos nas áreas, fator que pode retardar as atividades de campo, sobretudo no reestabelecimento das lavouras que já se encontravam com lamina de água. Além disso, a cultura do arroz como cultura de verão dispõe de um período estabelecido de semeadura, evitando assim o alongamento da safra nos meses de inverno e resultando em melhor gestão das culturas utilizadas no mesmo ano e em anos seguintes. Em resumo, esses fatores que influenciam na toma de decisões, deixam claro que, nem sempre é possível o reestabelecimento da cultura quando afetada por deriva de um herbicida de ação total, como o glifosato. Desta forma, a procura de métodos de remediação das lavouras afetadas por deriva, seria a melhor opção para tentar minimizar danos causados por sub-doses de glifosato.

Para diminuir o efeito tóxico do glifosato aplicado em pós-emergência na cultura da soja, a adição de bioestimulantes (compostos por micro e macro

nutrientes) nas caldas de aplicação tem sido estudada (Soltani et al., 2016). Não obstante, a mistura dessas soluções na calda não demonstrou recuperação da fitotoxicidade e muito menos na produtividade. Talvez a concentração dos nutrientes aportados pelos bioestimulantes seja insuficiente para atenuar o efeito do glifosato. Ainda, a adição de agroquímicos na calda pode inclusive, atuar incentivando a absorção e translocação (Maschhoff et al., 2000), situação que poderia potencializar o dano pelo herbicida com a adição de bioestimulantes.

Herbicidas pré-emergentes também podem causar danos nas lavouras de arroz (Langaro et al., 2017). Para remediar os efeitos tóxicos que o clomazone, herbicida de uso frequente em pré-emergência, provoca nas lavouras de arroz durante o controle de plantas daninhas, Golden e colaboradores (2017) observaram que a adição de nitrogênio na forma de ureia preveniu reduções na produtividade.

A ureia forma parte dos metabólitos para a construção de aminoácidos constituintes da glutathione, substrato que é usado pelo complexo enzimático antioxidante (Noctor e Foyer, 1998). A geração de espécies reativas de oxigênio responsáveis do estresse oxidativo é a principal consequência ao tratamento em plantas com glifosato (Ahsan et al., 2008). Em virtude disso, a ureia pode ajudar na neutralização das espécies reativas de oxigênio formadas em tecidos tratados com glifosato. Além, o nitrogênio como nutriente essencial para o crescimento das plantas, pode acelerar a recuperação delas sob o efeito tóxico dos herbicidas. A adubação nitrogenada em cobertura pode diminuir também a fitotoxicidade de plantas de arroz tratadas com imazapic e imazethapyr (Avila et al., 2009). Dessa forma o objetivo deste trabalho foi estudar a recuperação do dano por deriva de glifosato na cultura do arroz irrigado utilizando para isso diferentes doses de nitrogênio na forma de ureia.

## Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido em campo, em área experimental pertencente ao Centro Agropecuário da Palma (CAP) durante as safras 2016-2017 e 2017-2018. O solo foi gradeado para reduzir a biomassa vegetal durante o inverno e no início da primavera. Antes da semeadura a área foi nivelada para permitir a posterior entrada da água. A cultivar usada foi IRGA 424 RI (resistente a imidazolinonas) semeada a densidade de 90 kg ha<sup>-1</sup> no 29 de setembro do ano 2016 e 20 de setembro em 2017. As unidades experimentais foram compostas de 9 linhas de semeadura distanciadas a 0,17 m e 5 m de comprimento.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com quatro repetições, experimento fatorial (2X2X4). O fator A foi representado por doses do herbicida RoundUP Transorb® (0 e 10% da dose comercial, 1440 g e.a.ha<sup>-1</sup>). O fator B por estádios de desenvolvimento da planta (V3-V4 e V8). E o fator C adubação extra de nitrogênio (0, 30, 45 e 60 kg de N ha<sup>-1</sup>) na forma de ureia para recuperação da cultura 7 dias após a aplicação (DAA) das doses de glifosato, quando foi visualizada fitotoxicidade nas plantas. Para a segunda safra (2017/2018) a ureia foi aplicada aos 28 DAA das doses de glifosato, tempo suficiente para o aparecimento de novos tecidos livres de dano (considerou-se ao final da primeira safra que o tratamento com ureia aos 7DAA de glifosato, pode comprometer a sua metabolização por parte da planta, desde que o glifosato afeta o metabolismo primário da planta e a assimilação de carbono (Servaites et al., 1987)), a distribuição das doses de ureia foi feita entre a primeira e segunda aplicação de cobertura em arroz. As aplicações de glifosato foram feitas com pulverizador de costal pressurizado a CO<sub>2</sub> com pressão de 206,843 kPa a 3,6 km h<sup>-1</sup>, regulado para 150 L ha<sup>-1</sup> de volume de calda, equipado com pontas Teejet® XR 110.015 a 0,5 m de espaçamento com tamanho de gota fina.

A área foi mantida livre de plantas daninhas com uso de imazapyr+imazapic (63+21 g e.a. ha<sup>-1</sup>) aplicados uma semana após a semeadura do arroz, realizando-se outra aplicação com as mesmas doses um dia antes da entrada da água na área. O arroz foi adubado durante a semeadura com 334 kg ha<sup>-1</sup> de fertilizante N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O de formulação 05-20-20 e 240 kg ha<sup>-1</sup> de ureia (108 kg de nitrogênio) distribuída de forma equitativa em duas aplicações, um dia antes da entrada da água e durante a diferenciação da panícula (R0). Tratamentos para a proteção da cultura foram

feitos na diferenciação da panícula (R0) e incluíram os fungicidas azoxystrobin (50 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e tricyclazole (150 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e os inseticidas thiamethoxam (28 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e lambda-cyhalothrin (21 g e.a. ha<sup>-1</sup>) para proteger o desenvolvimento de doenças foliares e o ataque de insetos.

As avaliações visuais de injúria (%) foram realizadas aos 6, 13, 20 e 27 DAA, onde 0% = sem injúria e 100% = morte da planta. Foi realizada também a quantificação dos colmos 38 DAA no estágio V4 e 28 DAA no estágio V8. Para isso, foi utilizado em um metro linear de uma linha tomada aleatoriamente entre 5 linhas centrais da parcela. Para o estágio V8 encontraram-se novos colmos em resposta ao tratamento com glifosato, alguns deles com danos nos tecidos. Para esse caso em particular foi feito um subconjunto de colmos com dano denominado “porcentagem de colmos inviáveis”. Para a quantificação de panículas também foi usado um metro linear, para o número de grãos por panícula foram colhidas 10 panículas por parcela. Quantificações de colmos, panículas e grãos foram realizadas apenas durante a primeira safra. A área foi drenada antes da colheita, a produtividade foi estimada colhendo uma área de 3,4 m<sup>2</sup> (4 m × 0,85 m). A umidade dos grãos foi ajustada a 13% e convertida a kg ha<sup>-1</sup>.

Todos os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com uso do pacote estatístico R (R Core team, 2013). A normalidade dos dados foi verificada usando o teste de Shapiro-Wilk. As médias para diferenças significativas foram comparadas usando teste Tukey ( $P \leq 0,05$ ), sendo que para as médias do número de panículas o teste de Tukey foi aplicado ao nível de  $P \leq 0,05$ . Para o desenho dos gráficos foi usado o pacote estatístico SigmaPlot version 12.5, from Systat Software, Inc., San Jose California USA. Para os dados de produtividade segundo as doses de ureia foram ajustadas curvas de regressão linear, com uso da equação 4.

$$Y = Y_0 + \beta X_i \quad [4]$$

Onde Y corresponde a produtividade em kg de arroz por hectare,  $Y_0$  é o valor inicial da reta quando  $X_i = 0$  (kg extra de nitrogênio ha<sup>-1</sup>) e,  $\beta$  é o valor de decline que corresponde a  $X_i$ .

## Resultados e discussão

De acordo com as análises de variância (ANOVA) para o nível de injúria visual, encontrou-se significância para o fator B (estádios de desenvolvimento do arroz) durante as avaliações dos 6, 13 e 20 dias após aplicação (DAA) dos tratamentos de deriva simulada com glifosato durante a safra 2016-2017. Durante a safra 2017-2018 encontrou-se diferença estatística para todos os períodos de avaliações. As médias dos tratamentos para os estádios de V4 e V8 são apresentadas na Tabela 6, de acordo a análise de variância.

Tabela 6 – Nível visual de injúria aos 6, 13, 20 e 27 dias após aplicação (DAA), em resposta ao tratamento de deriva simulada com glifosato nos estádios de 4 e 8 folhas, durante as safras 2016-2017 e 2017-2018. Capão do Leão, RS.

Estádio	Injúria (%) <sup>1</sup>						
	2016-2017			2017-2018			
	6 DAA <sup>2</sup>	13 DAA	20 DAA	6 DAA	13 DAA	20 DAA	27 DAA
V4	12 <sup>b*</sup>	70*	64*	11*	61*	88*	80*
V8	5	51	54	18	80	70	82

<sup>1</sup> A injúria foi estimada visualmente usando escala de 0 a 100%; <sup>2</sup> DAA = dias após a aplicação de glifosato na dose de 10% em relação à dose comercial de 1440 g e.a. ha<sup>-1</sup>; <sup>3</sup> médias na coluna seguidas por \* diferem entre si pelo teste de T de student de 5% de probabilidade de erro.

O nível de dano foi maior para o estágio V4 quando comparado com o estágio V8 nas avaliações feitas dos 6 aos 20 DAA da primeira safra. O máximo nível de fitotoxicidade ocorreu aos 13 DAA para o estágio V4 (70%) e aos 20 DAA para o estágio V8 (54%) (Tabela 6). Na avaliação feita aos 27 DAA o nível de injúria foi de 46% para ambos os estádios de desenvolvimento, o que sugere uma redução no nível de dano com o passar do tempo. Durante a segunda safra o cenário foi invertido, apresentando maior nível de injúria em V8 nas duas primeiras avaliações. O estágio V4 atingiu o máximo nível de injúria aos 20 DAA (88%), decrescendo para 80% na última avaliação, 27 DAA. O arroz não apresentou recuperação de danos no estágio V8 ao longo das avaliações feitas entre os 6 aos 27 DAA.

O comportamento na resposta da cultura quanto ao nível de injúria sugere uma compensação por parte dos tratamentos com ureia durante a primeira safra quando aplicada aos 7 DAA dos tratamentos com glifosato. Além disso, não houve significância do fator C (adubação extra com nitrogênio, doses 0, 30, 45 e 60 kg de

N ha<sup>-1</sup>) sobre a fitotoxicidade no arroz, indicando que a avaliação visual de injúria não é suficiente para esclarecer o papel das doses de nitrogênio e seu efeito na remediação da fitotoxicidade na cultura.

Para a variável contagem de colmos aos 38 DAA em V4, não se encontrou significância para as interações entre os três fatores, nem mesmo para os fatores isoladamente. A média geral no número de colmos foi de 917 colmos m<sup>-2</sup>. Esse resultado está de acordo aos dados obtidos no experimento de épocas de semeadura, onde 10% da dose de deriva em estágio V4 não foi suficiente para suprimir o número de colmos quando comparado com a testemunha. Desta forma, o papel das doses de recuperação com nitrogênio ou bem a interação delas com as doses de deriva não foi significativa.

Para a variável de contagem de colmos 28 DAA no estágio V8 e porcentagem de colmos inviáveis, houve significância apenas para o fator doses de glifosato. O número total de colmos por metro quadrado aumentou de 922,79 para 1242,15 nos tratamentos com 0% e 10% da dose de deriva, respectivamente. Trabalhos feitos por outros autores em *Euphorbia esula* L. revelaram que os efeitos do herbicida glifosato no crescimento e aumento no número de caules foram induzidos por mudanças moleculares na biossíntese de hormônios afetando o ciclo celular (Doğramacı *et al.*, 2016). Com isso, a lógica leva a refletir que devido ao dano dos caules presentes nas plantas de arroz, estas produzem novos caules com o objetivo florescer e produzir semente assegurando desta forma a perpetuação da espécie.

Enquanto à porcentagem de colmos inviáveis também houve aumento de 0,2 a 13,76% dos tratamentos com 0% e 10%, respectivamente, não havendo significância da interação entre doses de nitrogênio e dose de glifosato. Talvez o curto período de tempo entre a aplicação dos tratamentos com glifosato, aplicação das doses de ureia e a contagem dos colmos não tenha permitido observar o efeito das doses de ureia.

Quanto ao número de panículas a análise de variância demonstrou interação tripla entre os fatores testados ( $P \leq 0,10$ ). Dessa maneira, os dados foram apresentados em função da dose de deriva simulada de glifosato (0 e 10%), estágio de desenvolvimento do arroz (V4 e V8) e adubação extra de nitrogênio (0, 30, 45 e 60 kg N ha<sup>-1</sup>) (Figura 14). Nos tratamentos com 0% de deriva, o aporte extra de nitrogênio não influenciou o número de panículas em nenhum dos estádios de

desenvolvimento. Já para 10% de dose de deriva, no estágio V4 houve um aumento no número de panículas para a dose maior de adubação extra de nitrogênio (60 kg N ha<sup>-1</sup>). De maneira semelhante, na dose de 10% do estágio V8 existiu aumento no número de panículas, porém, com aumento observado já desde a dose de 30 kg N ha<sup>-1</sup>. Para a maior dose de nitrogênio no estágio V8, o número de panículas foi de quase o dobro. Resultado que poderia sugerir que existiu uma recuperação do efeito do glifosato ao longo do tempo, por parte das doses de adubação extra com nitrogênio. Outras pesquisas feitas com simulações de deriva reportaram aumento no número de colmos e/ou panículas de arroz com tratamentos de glifosato em estádios adultos (Webster et al., 2016)

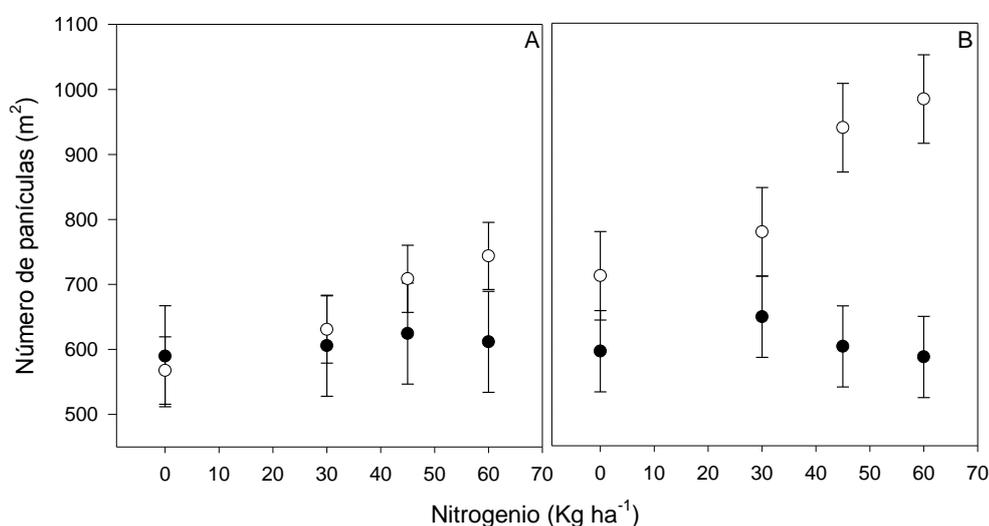


Figura 14 – Número de panículas m<sup>2</sup> aos 30 dias após diferenciação da panícula. Estádio V4 (A) e V8 (B). Dose de deriva 0%, (•); Dose de deriva 10%, (○). Capão do Leão, RS, safra 2016-2017. Símbolo = média dos tratamentos, barras de erro = diferença mínima significativa (DMS) de acordo com o teste T ( $P \leq 0,05$ ) para o fator C adubação extra de nitrogênio (0, 30, 45 e 60 kg ha<sup>-1</sup>).

De acordo a análise de variância para a variável de resposta número de grãos cheios por panícula, houve interação dupla entre as doses de deriva simulada de glifosato e os estádios de desenvolvimento do arroz. Assim, a figura 15 apresenta os dados referentes à análise de variância. Para plantas em estágio de desenvolvimento precoce (V4), os tratamentos de deriva simulada com glifosato não influenciaram o número de grãos cheios por panícula. Em contrapartida, para o estágio de desenvolvimento vegetativo adulto (V8), o número de grãos por panícula diminuiu de 98 sem deriva de glifosato para 60 no tratamento de 10% (Figura 15). Talvez, o aumento do número de panículas no estágio V8 (Figura 14) provocou

competição entre elas, resultando na diminuição do número de grãos, como reportado por Ferreira et al., (2006).

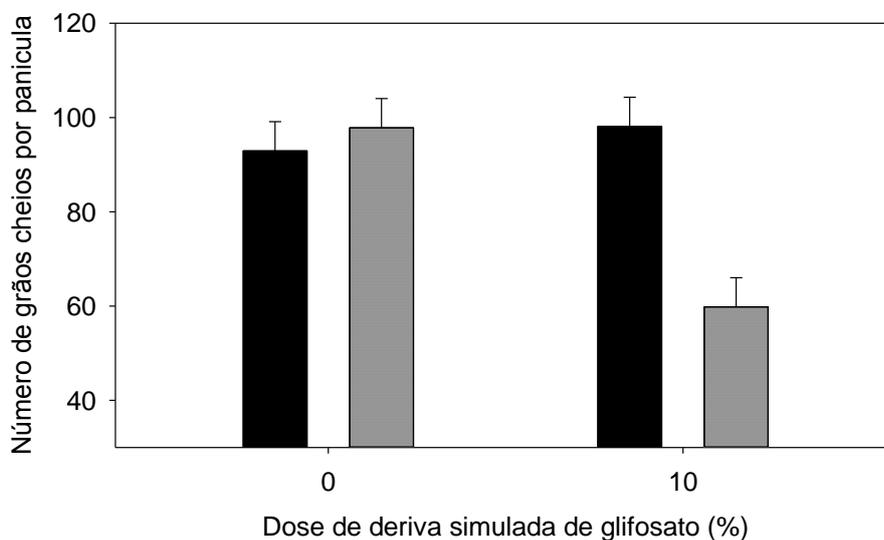


Figura 15 – Número de grãos cheios por panícula. Estádio vegetativo de 4 folhas (■) e 8 folhas (▨). Capão do Leão, RS, safra 2016-2017. Altura da coluna = média dos tratamentos, barras de erro = diferença mínima significativa (DMS) de acordo ao teste T ( $P \leq 0,05$ ).

Para a variável produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ), a ANOVA demonstrou interação tripla para os dados correspondentes a primeira safra (2016-2017). A aplicação de 10% de deriva simulada provocou um decréscimo na produtividade em ambos estádios de desenvolvimento, sendo que no estágio V8 houve maior redução em relação ao estágio V4 (Figura 16). Para o estágio V4 as perdas em produtividade foram aproximadamente de  $1800 \text{ kg ha}^{-1}$ , onde no estágio V8 as perdas em produtividade alcançaram  $2500 \text{ kg ha}^{-1}$  (diferença entre os valores de  $Y_0$  de 0 e 10% de deriva simulada para cada um dos estádios vegetativos Tabela 7). Outras pesquisas com simulações de deriva de glifosato em arroz demonstram maior redução da produtividade nos tratamentos correspondentes a estádios de desenvolvimento avançado (Hensley et al., 2013). As aplicações de doses de nitrogênio influenciaram na recuperação da cultura (quando tratada com 10% de deriva simulada) apenas para o estágio V4, havendo aumento de  $35 \text{ kg ha}^{-1}$  de arroz por cada kg de nitrogênio aplicado na forma de ureia (Tabela 7). As doses de ureia aumentaram a produção dos tratamentos sem glifosato, o que sugere uma terceira aplicação de ao menos  $30 \text{ kg}$  de nitrogênio por hectare na forma de ureia.

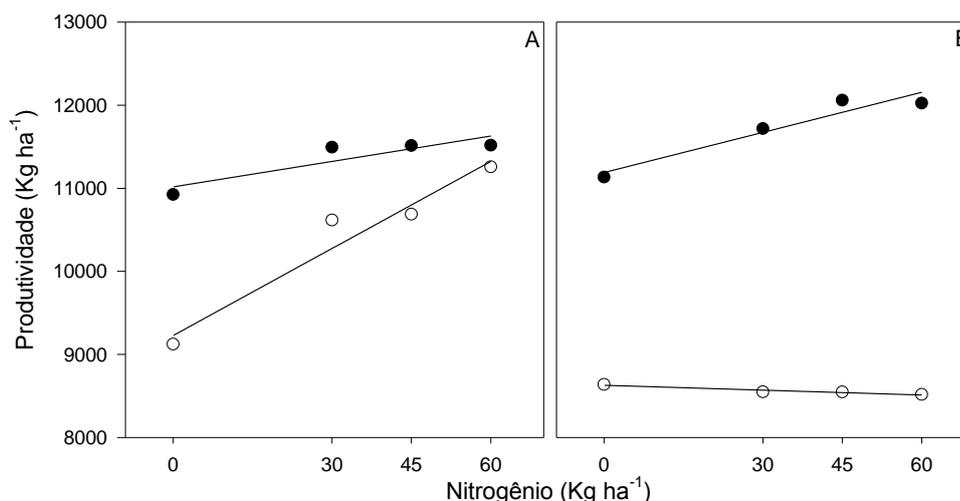


Figura 16 – Produtividade ( $\text{kg ha}^{-1}$ ). Estádio vegetativo de 4 folhas (A) e 8 folhas (B). Dose de deriva 0%, (•); Dose de deriva 10%, (○). Capão do Leão, RS, safra 2016-2017. Símbolo = média dos tratamentos.

Tabela 7 – Valores dos parâmetros correspondentes as curvas ajustadas nos dados de produtividade da primeira safra (2016-2017) mostrados na figura 16 usando a equação 1.

Estádio	Dose de deriva	$Y_0$ ( $\text{kg ha}^{-1}$ )	Intervalo de confiança		$\beta$	Intervalo de confiança		$r^2$
V4	0%	11017,69*	10681,61	11353,77	10,19*	1,87	18,51	0,25
	10%	9226,34*	8752,25	9700,43	34,95*	23,30	46,61	0,71
V8	0%	11190,31*	10796,88	11583,73	16,09*	6,35	25,83	0,38
	10%	8628,49*	8354,36	8902,61	-1,95 <sup>NS</sup>	-8,74	4,83	0,01

\*\* Significância ao nível de 5%; NS valor não significativo; intervalos de confiança dos parâmetros ao nível de 95%.

Para a safra 2017-2018 a ANOVA revelou interação dupla entre doses de deriva simulada e adubação extra de nitrogênio (Figura 17). De forma semelhante a primeira safra, 10% de dose de deriva causou decréscimo de produtividade. Para essa segunda safra a perda em produtividade foi aproximadamente  $2230 \text{ kg ha}^{-1}$  (diferença entre os valores de  $Y_0$  para 0 e 10% de deriva simulada, tabela 8). O aporte extra de nitrogênio ajudou na recuperação da cultura (quando tratada com 10% de deriva simulada), havendo aumento na produtividade de grãos de arroz de  $16,66 \text{ kg ha}^{-1}$  cada kg de nitrogênio aplicado na forma de ureia (Tabela 8).

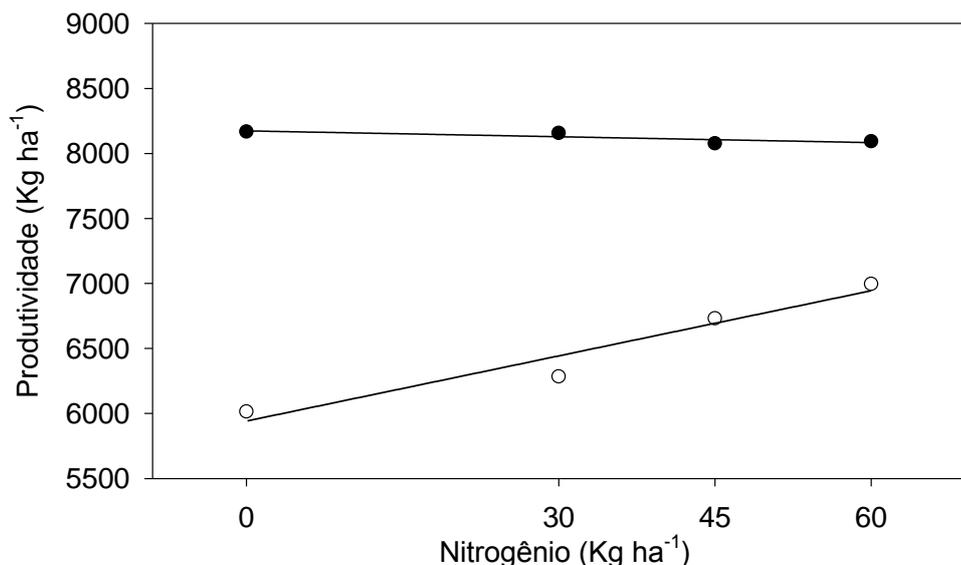


Figura 17 – Produtividade (kg ha<sup>-1</sup>) de arroz irrigado. Dose de deriva 0%, (•); Dose de deriva 10%, (○). Capão do Leão, RS, safra 2017-2018. Símbolo = média dos tratamentos.

Tabela 8 – Valores dos parâmetros correspondentes as curvas ajustadas nos dados de produtividade da segunda safra (2017 - 2018) mostrados na figura 15 usando a equação 1.

Dose de deriva	$Y_0$ (kg ha <sup>-1</sup> )	Intervalo de confiança		$\beta$	Intervalo de confiança		$r^2$
0%	8173,99*	8018,42	8329,56	-1,50 <sup>NS</sup>	-5,35	2,35	0,03
10%	5943,36*	5824,63	6062,09	16,66*	13,72	19,6	0,88

\*\* Significância ao nível de 5%; NS valor não significativo; intervalos de confiança dos parâmetros ao nível de 95%.

A interação dupla para essa segunda safra sugere que diferentemente da safra 2016-2017, a recuperação em produtividade por parte das doses de ureia foi independente do estágio de desenvolvimento. Em outras palavras, ambos estágios de desenvolvimento apresentaram recuperação da produtividade. Isso, como resultado do intervalo de tempo na aplicação entre a deriva simulada e a ureia. Durante a primeira safra a ureia foi aplicada 7 DAA dos tratamentos com glifosato, entretanto, para a segunda safra o intervalo de tempo foi de 28 dias, intervalo que possivelmente permitiu a formação de novos tecidos sadios.

A ureia é uma molécula biológica que forma parte dos intermediários da degradação de arginina nas plantas (Slocum, 2005). Além de ser fonte de nitrogênio para a formação de aminoácidos (Witte, 2011), a ureia exerce um papel importante na formação da glutatona, substrato usado para neutralizar o estresse oxidativo (Noctor e Foyer, 1998). Estudos feitos anteriormente demonstram que o estresse oxidativo é o principal efeito em tecidos vegetais tratados com glifosato (Ahsan et al., 2008). Por consequência a ureia é uma ferramenta promissora na recuperação das

plantas afetadas por herbicidas. Não obstante, estudos realizados por outros pesquisadores demonstram que a partir da inibição da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetase, enzima alvo do herbicida glifosato (Duke e Powles, 2008), mecanismos secundários incidem no esgoto dos intermediários do ciclo de Calvin (Servaites et al., 1987), detendo de forma indireta o metabolismo primário em células autótrofas. Por conseguinte, é sugerido que a assimilação e emprego da ureia em tecidos tratados seria comprometida pelo glifosato. Não está claro se a ureia como fonte de nitrogênio para a formação de aminoácidos e a posterior formação da glutatona ajudaria neutralizando o efeito oxidativo do glifosato nos tecidos tratados, como observado na redução da fitotoxicidade durante a primeira safra quando aplicado aos 7 DAA (Tabela 6). Outra hipótese, é se a ureia ajudaria de melhor forma no crescimento dos novos tecidos pela aplicação após de um intervalo de tempo maior (28 DAA), desde que participa como um nutriente essencial na síntese de clorofila. De qualquer maneira, o papel dela na recuperação da cultura durante a segunda safra foi conciso para ambos estádios.

### **Conclusão**

A aplicação de nitrogênio na forma de ureia influencia na remediação da cultura do arroz quando afetada por deriva de glifosato. A dose de nitrogênio recomendada corresponde a 60 kg de nitrogênio por hectare.

O estágio de desenvolvimento V4 apresentou capacidade de recuperação para ambas safras, independente do momento de aplicação da ureia. Para o estágio de desenvolvimento V8, não foi observada remediação por parte da ureia durante a primeira safra quando aplicada aos 7 dias após a aplicação dos tratamentos de deriva.

## **5. Conclusões gerais**

A tolerância da cultura do arroz ao efeito por glifosato diminui conforme ao crescimento desta, afetando em maior proporção o estágio reprodutivo da planta. Plantas em estágio inicial apresentam alta capacidade de recuperação quando afetada em época de semeadura precoce. Faz-se importante avaliar intervalos de tempo para aplicação da ureia após os tratamentos de deriva simulada, a fim de determinar o melhor momento de aplicação desta.

## 6. Referências

Adkins S.W. et al. Influence of environmental factors on glyphosate efficacy when applied to *Avena fatua* or *Urochloa panicoides*. **Weed Research**. 1998;38:129-38.

Ahsan N. et al. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiology and Biochemistry**. 2008;46:1062-1070.

Alves G.S. et al. Dicamba Spray Drift as Influenced by Wind Speed and Nozzle Type. **Weed Technology**. 2017;31:724-31.

Arvidsson T. et al. Spray drift as influenced by meteorological and technical factors. **Pest management science**. 2011;67:586-98.

Avila L.A. et al. Época de aplicação de nitrogênio e de início da irrigação na fitotoxicidade causada pela aplicação de imidazolinonas em arroz tolerante. **Ciência Rural**. 2009;39:6.

Benner P. Modeling Glyphosate aerial spray drift at the Ecuador–Colombia border. *Applied Mathematical Modelling*, v. 40, n. 1, p. 373-387, 2016.

Bird S.L. et al. Off-target deposition of pesticides from agricultural aerial spray applications. **Journal of Environmental Quality**. 1996;25:1095-1104.

Borggaard O.K., Gimsing A.L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. **Pest management science**. 2008;64:441-56.

Bullock D.G. Crop rotation. **Critical reviews in plant sciences**. 1992;11:309-26.

CAMARGO E.R. et al. Rice tolerance to saflufenacil in clomazone weed control program. **International Journal of Agronomy**. 2011;2011:8.

Coupland D. Influence of light, temperature and humidity on the translocation and activity of glyphosate in *Elymus repens* (= *Agropyron repens*). **Weed Research**. 1983;23:347-55.

Crabbe R.S. et al. The influence of atmospheric stability on wind drift from ultra-low-volume aerial forest spray applications. **Journal of Applied Meteorology**. 1994;33:500-07.

Cunha, J.P. et al. Avaliação de estratégias para redução da deriva de agrotóxicos em pulverizações hidráulicas. **Planta Daninha**. 2003;21:325-32.

Dennis M. et al. Growth stage, temperature, and time of year affects the control of glyphosate-resistant and glyphosate-paraquat resistant *Conyza bonariensis* with saflufenacil. **Crop Protection**. 2016;81:129-37.

Doğramaci M. et al. Field application of glyphosate induces molecular changes affecting vegetative growth processes in leafy spurge (*Euphorbia esula*). **Weed Science**. 2016;64:87-100.

Duke S.O., Powles S.B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest management science**. 2008;64:319-25.

EPA – Environmental protection agency. Introduction of pesticide drift. Disponível em: < <https://www.epa.gov/reducing-pesticide-drift/introduction-pesticide-drift>>, 2018

Ferguson J. Connor et al. Determining the uniformity and consistency of droplet size across spray drift reducing nozzles in a wind tunnel. **Crop Protection**. 2015;76:1-6.

Ferreira F.B. et al. Consequências da deriva simulada do herbicida glyphosate sobre a cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). **Current Agricultural Science and Technology**. 2014;12.

García-Santos G. et al. Drift from the use of hand-held knapsack pesticide sprayers in Boyacá (Colombian Andes). **Journal of agricultural and food chemistry**. 2015;64:3990-98.

Geiger D.R. et al. Glyphosate inhibits photosynthesis and allocation of carbon to starch in sugar beet leaves. **Plant physiology**, 1986;82:468-72.

Geiger D.R., Bestman H.D. Self-limitation of herbicide mobility by phytotoxic action. **Weed Science**. 1990;38:324-29.

Golden B.R. et al. Clomazone and Starter Nitrogen Fertilizer Effects on Growth and Yield of Hybrid and Inbred Rice Cultivars. **Weed Technology**. 2017;31:207-16.

Hensley J.B. et al. Response of rice to drift rates of glyphosate applied at low carrier volumes. **Weed technology**. 2013;27:257-62.

Henry R.S. et al. An Evaluation of Three Drift Reduction Adjuvants for Aerial Application of Pesticides. **GSTF Journal on Agricultural Engineering (JAE)**. 2015;2:1-10.

Hetherington P.R. et al. Absorption and efflux of glyphosate by cell suspensions. **Journal of experimental botany**. 1998;49:527-33.

Holloway P.J. et al. Effects of some agricultural tank-mix adjuvants on the deposition efficiency of aqueous sprays on foliage. **Crop Protection**. 2000;19:27-37.

INMET – Estação Meteorológica de Observação de Superfície Automática. Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>>

IRGA – Area rotação arroz-soja. Disponível em: <[http://www.irga.rs.gov.br/upload/20150806112855soja\\_em\\_rotacao\\_com\\_arroz.pdf](http://www.irga.rs.gov.br/upload/20150806112855soja_em_rotacao_com_arroz.pdf)>, 2018

IRGA – Resultados Safra 2016/17. Disponível em: < [http://www.irga.rs.gov.br/upload/20180404094250produtividade\\_municipios\\_safra\\_16\\_17\\_final.pdf](http://www.irga.rs.gov.br/upload/20180404094250produtividade_municipios_safra_16_17_final.pdf)>, 2018

Itoh J.I. et al. Rice plant development: from zygote to spikelet. **Plant and cell physiology**. 2005;46:23-47.

Kirk I.W. Aerial spray drift from different formulations of glyphosate. **Transactions of the ASAE**. 2000;43:555.

Langaro A.C. et al. Oxidative stress caused by the use of preemergent herbicides in rice crops. **Revista Ciência Agronômica**. 2017;48:358-64.

LSUAg Center – Identifying Herbicide Drift in Rice. Disponível em: < <http://www.lsuagcenter.com/NR/rdonlyres/55FAF1AD-F709-4427-93C7-042E2CA6D984/74397/pub3167herbicidedriftinriceLOWRES.pdf>>, 2018

Maeda H., Dudareva N. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. **Annual review of plant biology**. 2012;63:73-105.

Martini A.T. et al. Influência de adjuvantes e pontas de pulverização na deriva de aplicação do glifosato. **Planta Daninha**. 2015;33:375-86.

Maschhoff J.R. Effect of ammonium sulfate on the efficacy, absorption, and translocation of glufosinate. **Weed Science**. 2000;48:2-6.

Maxwell B.D. The influence of glyphosate on bud dormancy in leafy spurge (*Euphorbia esula*). **Weed Science**. 1987;35:6-10.

Mazzilli S.R. et al. Greater humification of belowground than aboveground biomass carbon into particulate soil organic matter in no-till corn and soybean crops. **Soil Biology and Biochemistry**. 2015;85:22-30.

Noctor G., Foyer C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual review of plant biology**. 1998;49:249-79.

Oliveira R.B. et al. Potential of adjuvants to reduce drift in agricultural spraying. **Engenharia Agrícola**. 2013;33:986-92.

Oliveira M.A. et al. Influence of spray mixture volume and flight height on herbicide deposition in aerial applications on pastures. **Planta Daninha**. 2014;32:227-32.

Prokop M., Kejklicek R. Effect of adjuvants on spray droplet size of water. **Research in Agricultural Engineering**. 2002;48:144-48.

Reddy K.N. et al. Biological responses to glyphosate drift from aerial application in non-glyphosate-resistant corn. **Pest management Science**. 2010;66:1148-1154.

Reis J.C., Pastagens em Terras Baixas. **Embrapa Clima Temperado-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 1998.

Sasaki Y., Nagano Y. Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**. 2004;68:1175-1184.

SENSEMAN S.A. **Herbicide Handbook**. 9<sup>th</sup>. Ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007.

Slocum R.D. Genes, enzymes and regulation of arginine biosynthesis in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. 2005;43:729-45.

Soltani N. Evaluation of Biostimulants Added to Post Emergence Herbicides in Soybean. **American Journal of Plant Sciences**. 2016;7:1729.

SOSBAI, RTDCDAI. Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do brasil. 2014.

Servaites J.C. et al. Glyphosate effects on carbon assimilation, ribulose biphosphate carboxylase activity, and metabolite levels in sugar beet leaves. **Plant Physiology**. 1987;85:370-74.

TEAM, R. Core. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014.

Van De Zande J.C. et al. Effect of sprayer speed on spray drift. **Annual Review of Agricultural Engineering**. 2005;4:129-42.

Vital R.G. et al. Physiological changes and in the carbohydrate content of sunflower plants submitted to sub-doses of glyphosate and trinexapac-ethyl. **Bragantia**. 2017;76:33-44.

Webster E.P. et al. Rice Crop Response to Simulated Drift of Imazamox. **Weed Technology**. 2016;30:99-105.

Witte C.P. Urea metabolism in plants. **Plant Science**. 2011;180:431-38.

XU H. et al. Changes in nitrogen metabolism and antioxidant enzyme activities of maize tassel in black soils region of northeast China. **Frontiers in plant science**. 2014;5:515.

## VITA

Raúl Andrés Córdova Martínez, Nascido no dia 15 de dezembro de 1991 na capital da Guatemala. Filho de Mario Raúl Córdova Alvarado e Mirian Lissett Martinez Lopez. Formado engenheiro agrônomo pela universidade federal de San Carlos de Guatemala no dia 28 de maio do ano 2015. Em março de 2016 ingressou no curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.