

# ABSORPTION VELOCITY OF GLUFOSINATE AND ITS EFFECTS ON WEEDS AND COTTON

## VELOCIDAD DE ABSORCIÓN DEL GLUFOSINATO Y SUS EFECTOS EN MALEZAS Y ALGODÓN

Ilca Puertas de Freitas e Silva, Caio Antonio Carbonari\*, Edivaldo Domingues Velini, Josué Ferreira Silva Jr, Leandro Tropaldi, Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes

Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrônomicas, 1780, Zip Code 18.610-307. (14) 38807161, Botucatu - SP, Brazil (carbonari@fca.unesp.br).

### ABSTRACT

Glufosinate ammonium, an inhibitor of the enzyme glutamine synthetase (GS), is one of the most important herbicides for cotton cultivation and it is utilized for weed management in directed spray applications indicated for conventional cultivars. This study aimed to evaluate the absorption velocity of glufosinate ammonium and its effects on weed and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants. The study was carried out in a greenhouse with the cotton cultivar FiberMax 910 and the weeds *Brachiaria decumbens* and *Ipomoea grandifolia*. The experimental design was completely randomized and treatments were: the herbicide glufosinate ammonium (0.4 kg a.i. ha<sup>-1</sup>); five periods before a simulated rain (times for absorption) (1, 3, 6, 24 and 48 h between herbicide application and simulated rain); a control without herbicide; and four repetitions per treatment. Plants were harvested 2 d after herbicide application to quantify their contents of ammonia, glutamine and glufosinate. Visual injury of plants was quantified at 1, 3, 6, 8 and 10 d after application (DAA) of glufosinate ammonium using a percentage scale for damages. Regression analyses were performed on the results and a standard error (by t test;  $p \leq 0.05$ ) was established for the means. Glufosinate ammonium absorption increased up to 24 h in cotton, and 48 h in *B. decumbens* and *I. grandifolia*. Despite the increase in glufosinate levels in 48 h without rain periods, the contents of ammonia were increased and glutamine was reduced between 1 and 6 h without rains. In addition, the three species presented severe injuries starting at 3 h without rain.

**Key words:** Weeds, *Gossypium hirsutum*, herbicide, mode of action.

### RESUMEN

El glufosinato de amonio, un inhibidor de la enzima glutamina sintetasa (GS), es uno de los herbicidas más importantes para el cultivo de algodón y se utiliza para el control de malezas en aplicaciones de rociado dirigido, indicadas para cultivares convencionales. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la velocidad de absorción del glufosinato de amonio y sus efectos sobre las malas hierbas y las plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.). El estudio se realizó en un invernadero con el cultivar de algodón FiberMax 910 y las malezas *Brachiaria decumbens* e *Ipomoea grandifolia*. El diseño experimental fue completamente al azar y los tratamientos fueron: el herbicida glufosinato de amonio (0.4 kg a.i. ha<sup>-1</sup>); cinco períodos antes de una lluvia simulada (tiempos de absorción) (1, 3, 6, 24 y 48 h entre la aplicación de herbicidas y la lluvia simulada); un testigo sin herbicida; y cuatro repeticiones por tratamiento. Las plantas se cosecharon 2 d después de la aplicación de herbicidas para cuantificar su contenido de amoníaco, glutamina y glufosinato. La lesión visual de los vegetales se cuantificó a los 1, 3, 6, 8 y 10 d después de la aplicación (DDA) del glufosinato de amonio usando una escala de porcentaje de daños. Los análisis de regresión se realizaron con base en los resultados y se estableció un error estándar (mediante la prueba t,  $p \leq 0.05$ ) para los promedios. La absorción de glufosinato de amonio aumentó hasta 24 h en el algodón, y 48 h en *B. decumbens* e *I. grandifolia*. A pesar del aumento en los niveles de glufosinato en 48 h sin períodos de lluvia, el contenido de amoníaco se incrementó y la glutamina se redujo entre 1 y 6 h sin lluvias. Además, las tres especies presentan lesiones graves a partir de 3 h sin lluvia.

**Palabras clave:** Malas hierbas, *Gossypium hirsutum*, herbicidas, modo de acción.

### INTRODUCCIÓN

Brasil es el quinto mayor productor de algodón del mundo (FAO, 2012); la tecnología y la productividad alta han permitido a Brasil

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: noviembre, 2014. Aprobado: enero, 2016.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 50: 239-249. 2016.

## INTRODUCTION

**B**razil is the fifth largest producer of cotton in the world (FAO, 2012); technology and high productivity have allowed Brazil to shift from the largest importer to the third largest exporter of cotton in 12 years. In a ten-year span, Brazilian cotton cultivation was transformed from manual to total mechanization. For 2013/2014, the area under cotton cultivation in Brazil was 1,076,900 ha with a production of 1 638 100 Mg (CONAB, 2013).

According to Christoffoleti (2002), the utilization of direct-sprayed selective herbicides during initial post-emergence, along with herbicides in pre-emergence and in late post-emergence, is an important weed management system for cotton in central Brazil. Glufosinate ammonium (GA) effectively controls weeds in cotton crops and, in Brazil, it is applied during post-emergence by direct spray on areas planted with cotton genetically modified to be resistant to this herbicide (Rodrigues and Almeida, 2011). Glufosinate ammonium is a synthetic version of phosphinothricin, a degradation product of bialaphos produced by *Streptomyces viridochromogenes* and *S. hygroscopicus* (Duke *et al.*, 2000), whose antibiotic and herbicidal properties were discovered by Droge-Laser *et al.* (1994). This led to the synthesis of GA as herbicide (Manderscheid and Wild, 1986) for use in several crops, different production systems and in non-agricultural areas (Krausz *et al.*, 1999). It is a non-selective herbicide that controls a broad spectrum of weeds (Chompoo and Pornprom, 2008).

Glufosinate ammonium inhibits the activity of glutamine synthetase (EC 6.3.1.2), which converts glutamate and ammonium into glutamine (Logusch *et al.*, 1991) and inorganic nitrogen into organic compounds. It is a key enzyme in the metabolism of nitrogen assimilating ammonia produced by nitrite reductase, and recycling ammonia produced by photorespiration and deamination reactions (Mifflin and Habash, 2002). The inhibition of GA activity leads to a rapid accumulation of ammonia, which causes cell destruction (Senseman, 2007). Therefore, an increase in ammonium is used as an indicator of the performance of glufosinate (Pornprom *et al.*, 2000; Petersen and Hurle, 2001).

The mobility of GA is low in plants and it requires good coverage at the time of application for

pasar de ser el mayor importador al tercer exportador mayor de algodón en 12 años. En un lapso de 10 años, el cultivo de algodón de Brasil pasó de manual a mecanización total. Para 2013/2014, la superficie de cultivo de algodón en Brasil fue 1 076 900 ha con una producción de 1 638 100 Mg (CONAB, 2013).

Según Christoffoleti (2002), la utilización de herbicidas selectivos de rociado directo durante la post-emergencia inicial, junto con los herbicidas en la preemergencia y a finales de la postemergencia, es un importante sistema de manejo de malezas para el algodón en la zona centro de Brasil. El glufosinato de amonio (GA) controla eficazmente las malas hierbas en los cultivos de algodón y, en Brasil, se aplica durante la postemergencia por rociado directo sobre las superficies plantadas con algodón modificado genéticamente para que sea resistente a este herbicida (Rodrigues y Almeida, 2011). El glufosinato de amonio es una versión sintética de la fosfotricina, un producto de degradación de bialafos producidos por *Streptomyces viridochromogenes* y *S. hygroscopicus* (Duke *et al.*, 2000), cuyas propiedades como antibióticos y herbicidas fueron descubiertos por Droge-Laser *et al.* (1994). Esto llevó a la síntesis de GA como herbicida (Manderscheid y Wild, 1986) para uso en varios cultivos, diferentes sistemas de producción y en áreas no agrícolas (Krausz *et al.*, 1999). Es un herbicida no selectivo que controla un amplio espectro de malezas (Chompoo y Pornprom, 2008).

El glufosinato de amonio inhibe la actividad de la glutamina sintetasa (EC 6.3.1.2), que convierte el glutamato y el amonio en glutamina (Logusch *et al.*, 1991) y el nitrógeno inorgánico en compuestos orgánicos. Es una enzima clave en el metabolismo del amoníaco que asimila nitrógeno producido por el nitrito reductasa, y el reciclado de amoníaco producido por las reacciones de fotorrespiración y desaminación (Mifflin y Habash, 2002). La inhibición de la actividad de GA conduce a una acumulación rápida de amoníaco, que causa la destrucción de células (Senseman, 2007). Por lo tanto, el aumento de amonio se usa como un indicador del rendimiento del glufosinato (Pornprom *et al.*, 2000; Petersen y Hurle, 2001).

La movilidad de GA es baja en las plantas y requiere cobertura amplia en el momento de la aplicación para el espectro completo de control de malezas (Corbett *et al.*, 2004; Steckel *et al.*, 1997). Debido a que GA no se transloca rápidamente dentro de la planta, los síntomas se producen principalmente en

a broad spectrum of weed control (Corbett *et al.*, 2004; Steckel *et al.*, 1997). Since GA is not promptly translocated within the plant, the symptoms occur principally in the leaves (Davis *et al.*, 2013), which present chlorosis and die two to five days after treatment (Shin *et al.*, 2011). Leaf death occurs due to a sharp elevation in ammonium levels and reduced glutamine levels in foliar tissue within a few hours (Chompoo and Pornprom, 2008).

According to Kumaratilake *et al.* (2002), absorption occurs in the first 24 h after GA treatment in *Lolium rigidum* and *Avena sterilis*. A 6 h period without rain after application is needed to obtain an efficient performance of this herbicide (Rodrigues and Almeida, 2011).

Given the importance of GA to control weeds in cotton crops, and the lack of data on the absorption velocity and the intensity of the effects in the metabolism on cotton and important weeds (*Brachiaria decumbens* and *Ipomoea grandifolia*), our study aimed to evaluate GA absorption (velocity and quantity) of glufosinate ammonium and its effects on the metabolism of weeds and cotton.

## MATERIALS AND METHODS

Three experiments were carried out in a greenhouse under temperatures between 15 and 28 °C, at the São Paulo State University, UNESP, campus at Botucatu/SP/Brazil. Pots (5 L capacity) were filled with a substrate composed of turf, expanded vermiculite and pine bark, enriched with macro and micronutrients, at pH 5.8 ( $\pm 0.5$ ).

The experimental design was completely randomized with four repetitions; four plants of the cotton cultivar FiberMax 910 were utilized, and ten plants of *B. decumbens* Stapf and *I. grandifolia* Dammer per repetitions. The treatments were GA application (0.4 kg a.i. ha<sup>-1</sup>) and five periods before a simulated rain (times for absorption: 1, 3, 6, 24 and 48 h between application and simulated rain); plus a control without herbicide.

The herbicide was applied in a stationary sprayer equipped with a spray bar equipped with four Teejet XR 11002VS tips arranged 0.5 m apart and positioned at a height of 0.5 m in relation to the plants. The system was operated at a displacement velocity of 1 m s<sup>-1</sup>, with a liquid consumption of 200 L ha<sup>-1</sup> and a constant pressure of 1.5 kgf cm<sup>-2</sup> using compressed air. The rainfall simulation of 40 mm in each treatment was performed using the same structure previously described with an automated system allowing for constant-pressure via an hydraulic pump using a spray boom with three TK20-SS high-

las hojas (Davis *et al.*, 2013), que presentan clorosis y mueren dos a cinco días después del tratamiento (Shin *et al.*, 2011). La muerte de las hojas se produce por la elevación de los niveles de amonio y a los niveles reducidos de glutamina en el tejido foliar en pocas horas (Chompoo y Pornprom, 2008).

Según Kumaratilake *et al.* (2002), la absorción se produce en las primeras 24 h después del tratamiento GA en *Lolium rigidum* y *Avena sterilis*. Un período de 6 h sin lluvia después de la aplicación es necesario para obtener un desempeño eficiente de este herbicida (Rodrigues y Almeida, 2011).

Dada la importancia de GA para controlar malezas en los cultivos de algodón, y la falta de datos sobre la velocidad de absorción y la intensidad de los efectos en el metabolismo del algodón y las malezas importantes (*Brachiaria decumbens* e *Ipomoea grandifolia*), el objetivo de nuestro estudio fue evaluar la absorción de GA (velocidad y cantidad) del glufosinato de amonio y sus efectos sobre el metabolismo de malezas y algodón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Tres experimentos se realizaron en un invernadero a temperaturas entre 15 y 28 °C, en la Universidad del Estado de São Paulo, UNESP, campus Botucatu/SP/Brasil. Las macetas (5 L capacidad) se llenaron con un sustrato de césped, vermiculita expandida y corteza de pino, enriquecido con macro y micronutrientes, con un pH de 5.8 ( $\pm 0.5$ ).

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones; con cuatro plantas de la variedad de algodón FiberMax 910, y 10 plantas de *B. decumbens* Stapf e *I. grandifolia* Dammer por repetición. Los tratamientos fueron GA (0.4 kg a.i. ha<sup>-1</sup>) y cinco períodos antes de una lluvia simulada (tiempos para la absorción: 1, 3, 6, 24 y 48 h entre la aplicación y la lluvia simulada); y un testigo sin herbicida.

El herbicida se aplicó con un pulverizador estacionario equipado con una barra de pulverización con cuatro puntas Teejet XR 11002VS dispuestas a 0.5 m de separación y a una altura de 0.5 m respecto a las plantas. El sistema se manejó con una velocidad de desplazamiento de 1 m s<sup>-1</sup>, con un consumo de líquido de 200 L ha<sup>-1</sup> y una presión constante de 1.5 kgf cm<sup>-2</sup>, usando aire comprimido. La simulación de lluvia de 40 mm en cada tratamiento se realizó con la misma estructura ya descrita, con un sistema automatizado que permite una presión constante a través de una bomba hidráulica usando una barra de pulverización con tres toberas de pulverización de alto flujo TK20-SS, espaciadas a 0.5 m de distancia, a 1.45 m por encima de la superficie de la unidad experimental. Esta estructura permitió simulaciones de

flow spray nozzles spaced 0.5 m apart at 1.45 m above the experimental unit surface. This structure enabled simulations of rainfall of various volumes. The traveling speed of the system was  $3.16 \text{ m min}^{-1}$ , with pressure of 79.4 kPa, enabling the formation of artificial raindrops with a median volumetric diameter of  $1140 \mu\text{m}$ .

At the time of application, the cotton plants presented completely expanded second true leaves (and a third in expansion) at approximate heights of 30 cm, whereas height of *B. decumbens* was approximately 35 cm, and that of *I. grandifolia* was 18 cm.

The plants were harvested for laboratory analyses two days after the herbicide application, when the first visual symptoms injury began to appear. In these samples, the levels of ammonia, glutamine and glufosinate were analyzed.

Visual rating of cotton plant injury and weed control was rated at 3, 6, 8 and 10 d after application (DAA) of glufosinate ammonium. Ratings were based on a 0 to 100 % scale with 0 % equal to no plant response and 100 % equal to complete weed control or cotton death (Richardson *et al.*, 2007).

#### Ammonia quantification

Ammonia was quantified, according to Wendler *et al.* (1990), utilizing colorimetry by the action of reagents and determination by spectrophotometry. For the extraction of ammonia, all leaves from each plant per replicate were placed in 300 mL polystyrene bottles. The biomass collected at 2 DAA of the herbicide was determined by weighing and then water (pH 3.5), acidified with HCl, was added to the bottles. The collected leaves were placed in an ultrasonic bath for 60 min, after which the ammonia was quantified in solution with an absorbance reading of the samples at 630 nm.

#### Analyses in Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

All the leaves from one plant per repetition were collected, washed in distilled water and grounded in liquid nitrogen. A 200 mg aliquot of the sample was weighed in a centrifuge tube, and a 10 mL of extraction solution of water: methanol (75:25) was added to the tube and placed in an ultrasonic bath for 30 min (defined by previous tests, data not shown). After centrifugation at 3500 g for 5 min, the supernatant was filtered through a  $0.2 \mu\text{m}$  membrane and the samples were analyzed in an LC-MS/MS system.

Glutamate, glutamine and glufosinate were quantified according to Barberis (2012) in an LC-MS/MS system using a HPLC (Prominence UFLC, Shimadzu Corporation., Kyoto,

lluvia de varios volúmenes. La velocidad de desplazamiento del sistema fue  $3.16 \text{ m min}^{-1}$ , con una presión de 79.4 kPa, permitiendo formar de gotas de agua artificiales con un diámetro volumétrico medio de  $1,140 \mu\text{m}$ .

En el momento de la aplicación, las plantas de algodón presentaron hojas totalmente extendidas (y una tercera en expansión) a altura aproximada de 30 cm, mientras que la altura aproximada de *B. decumbens* era 35 cm, y la de *I. grandifolia* 18 cm.

Las plantas se recolectaron para análisis de laboratorio dos días después de la aplicación del herbicida, cuando comenzaron a aparecer los primeros síntomas visuales de lesión. En estas muestras se analizaron los niveles de amoníaco, glutamina y glufosinato.

La evaluación visual del control de las lesiones y la maleza en las plantas de algodón se evaluaron a los 3, 6, 8 y 10 d después de la aplicación (DDA) del glufosinato de amonio. Las evaluaciones se basaron en una escala de 0 a 100 %, con 0 % igual a no respuesta de la planta y 100 % igual a un completo control de malezas o la muerte del algodón (Richardson *et al.*, 2007).

#### La cuantificación del amoníaco

El amoníaco se cuantificó, de acuerdo con Wendler *et al.* (1990), mediante colorimetría por la acción de los reactivos y determinación por espectrofotometría. Para la extracción del amoníaco, todas las hojas de cada planta por repetición se colocaron en botellas de poliestireno de 300 ml. La biomasa recolectada 2 DAA del herbicida se determinó pesándola y luego agua (pH 3.5) acidificada con HCl se agregó a las botellas. Las hojas recogidas se colocaron en un baño de ultrasonidos durante 60 min, y después el amoníaco se cuantificó en una solución con una lectura de la absorbancia de las muestras a 630 nm.

#### Análisis de Cromatografía Líquida-Espectrometría de Masas (LC-MS / MS)

Todas las hojas de una planta por repetición se recogieron, lavaron con agua destilada y colocaron en nitrógeno líquido. Una alícuota de la muestra de 200 mg se pesó en un tubo de centrifugado, y una solución de extracción de agua de 10 mL de metanol (75:25) se agregó en el tubo y se colocó en un baño de ultrasonidos durante 30 min (que se definió por las pruebas anteriores, datos no mostrados). Después de centrifugar a 3500 g por 5 min, el sobrenadante se filtró a través de una membrana de  $0.2 \mu\text{m}$  y las muestras se analizaron en un sistema de LC-MS / MS.

El glutamato, glutamina y glufosinato se cuantificaron según Barberis (2012) en un sistema de LC-MS / MS usando un HPLC (prominencia UFLC, Shimadzu Corporation., Kyoto, Japón), equipado con dos bombas LC-20AD, un autoinyector



Japan), equipped with two LC-20AD pumps, an SIL-20AC autoinjector, a DGU-20A5 degasser, a CBM-20A controller system and a CTO-20AC column oven. The HPLC was coupled with a triple-quadruple type 3200 Q TRAP mass spectrometer (Applied Biosystems).

**Statistical analysis**

For ammonia, glutamine and glufosinate, cotton plant injury and weed control data, regression analyses were performed by using Sigma Plot (version 11), adjusting the most appropriate models to each variable analyzed. A t test ( $p \leq 0.05$ ) was carried out for treatments means.

**RESULTS AND DISCUSSION**

In cotton plants, an increase of GA level (absorption) was observed up to 24 h without rain (Figure 1). Although the herbicide was absorbed slowly and the highest levels were found in plants after 24 h without rain, the ammonia accumulation occurred independently of herbicide absorption in greater quantities. The absorption until 2 to 5 h without rain, promoted a large accumulation of ammonia in the plants, which shows that the quantity of glufosinate absorbed in 5 h was enough to cause plant injury (Figure 2).

The glufosinate quantity absorbed by *I. grandifolia* plants was superior to that by cotton plants and rose until 48 h after application without rain. For *B. decumbens*, the absorption was more rapid and intense in the first 6 h without rain, and there was an increase in the herbicide levels in the leaves until 48 h after application without rain simulation (Figure 1).

Everman *et al.* (2009a) evaluated the quantity of <sup>14</sup>C-Glufosinate absorbed by four species, (glufosinate-resistant corn, *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis* and *Senna obtusifolia*), and observed that *S. obtusifolia* absorbed 80 % of the GA applied, whereas *E. indica* and *D. sanguinalis* absorbed less than 22 % and the resistant corn absorbed only 16 %. Everman *et al.* (2009b) assessed absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in transgenic and nontransgenic cotton, *Amaranthus palmeri*, and *Ipomoea lacunosa*, and point out that these species could be divided into two groups based on GA absorption: high (*A. palmeri*) and low (both nontransgenic and glufosinate-resistant cotton and *I. lacunosa*).

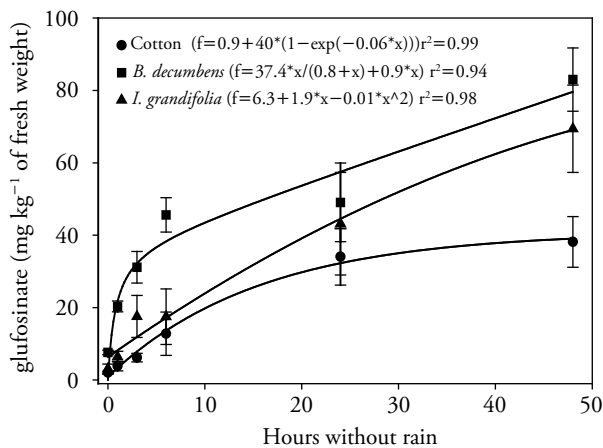
SIL-20AC, un desgasificador DGU-20A5, un sistema controlador CBM-20A y un horno de columna CTO-20AC. La HPLC se acopló con un espectrómetro de masas tipo 3200 Q TRAP triple cuádruple (Applied Biosystems).

**Análisis estadístico**

Para los datos de amoníaco, glutamina y glufosinato, de lesiones de las plantas de algodón y de malezas, se realizaron análisis de regresión con Sigma Plot (versión 11), y ajustando los modelos más apropiados para cada variable analizada. Una prueba t ( $p \leq 0.05$ ) se realizó para la media de los tratamientos.

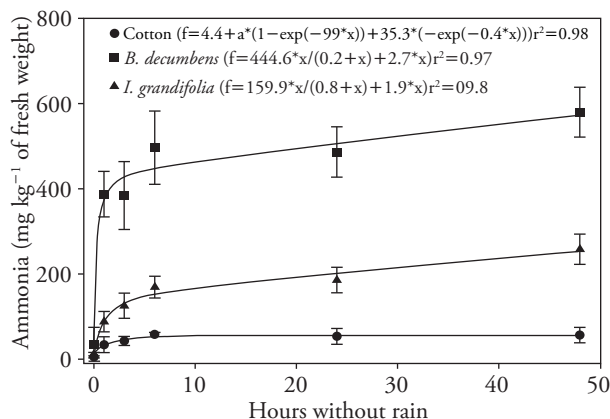
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En las plantas de algodón, se observó un aumento del nivel de GA (absorción) después de 24 h sin lluvia (Figura 1). A pesar de que el herbicida se absorbió lentamente y se encontraron los niveles más altos en las plantas después de 24 h sin lluvia, la acumulación de amoníaco se produjo independientemente de la absorción del herbicida, en cantidades mayores. La



**Figure 1. Glufosinate concentration (mg kg<sup>-1</sup> fresh weight) in plants of cotton, *B. decumbens* and *I. grandifolia* for different periods without rain at two days after application (DAA). Vertical bars represent ± confidence interval of the mean (n=4) by the t test (p≤0.05).**

**Figura 1. Concentración del glufosinato (mg kg<sup>-1</sup> de peso fresco) en las plantas de algodón, *B. decumbens* e *I. grandifolia* para diferentes períodos sin lluvia dos días después de la aplicación (DDA). Las barras verticales representan el intervalo de confianza ± de la media (n=4) de la prueba de t (p≤0.05).**



**Figure 2. Ammonia concentration ( $\text{mg kg}^{-1}$  fresh weight) in plants of cotton, *B. decumbens* and *I. grandifolia* for different without rain periods at two days after application (DAA). Vertical bars represent  $\pm$  confidence interval of the mean ( $n=4$ ) by the t test ( $p \leq 0.05$ ).**

**Figura 2. Concentración de amoníaco ( $\text{mg kg}^{-1}$  de peso fresco) en las plantas de algodón, *B. decumbens* e *I. grandifolia* para diferentes períodos sin lluvia dos días después de la aplicación (DDA). Las barras verticales representan el intervalo de confianza  $\pm$  de la media ( $n=4$ ) de la prueba de t ( $p \leq 0.05$ ).**

Similarly to the cotton plants, the inside ammonia concentrations of *I. grandifolia* and *B. decumbens* stabilized in approximately 2 to 5 h without rain, despite the increase in herbicide absorbed starting from these periods. The higher accumulation of ammonia shows that the quantities of herbicide absorbed in the first hours after application were able to increase levels of this compound in the plants, leading to higher injury levels. Cotton presented the lowest ammonia accumulation, followed by *I. grandifolia*, and *B. decumbens* had the highest levels (Figure 2). Ammonium buildup is used as an indicator for glufosinate performance (Petersen and Hurle, 2001). Sellers *et al.* (2004) evaluated glutamine synthetase activity and ammonium accumulation as influenced by time of glufosinate application in velvetleaf, and after 160-320  $\text{g ha}^{-1}$  glufosinate application, glutamine synthetase activity was reduced by at least 50 % and ammonium concentration was at least 13 times higher in treated plants, compared to control plants. This amount of accumulation is comparable to ammonium concentrations that alter chloroplast ultrastructure and inhibit ATP formation (Krogmann *et al.*, 1959; Puritch and Barker, 1967; Barker, 1968).

absorción después de 2 a 5 h sin lluvia produjo una gran acumulación de amoníaco en las plantas, lo cual muestra que la cantidad de glufosinato absorbido en 5 h fue suficiente para causar daño a las plantas (Figura 2).

La cantidad de glufosinato absorbida por *I. grandifolia* fue mayor a la de las plantas de algodón y se elevó a las 48 h después de la aplicación sin lluvia. Para *B. decumbens*, la absorción fue más rápida e intensa en las primeras 6 h sin lluvia, y los niveles de herbicidas en las hojas aumentaron a las 48 h después de la aplicación sin simulación de lluvia (Figura 1).

Everman *et al.* (2009a) evaluaron la cantidad de  $^{14}\text{C}$ -glufosinato absorbida por cuatro especies (maíz resistente al glufosinato, *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis* y *Senna obtusifolia*), y observaron que *S. obtusifolia* absorbe 80 % del GA aplicado, mientras que *E. indica* y *D. sanguinalis* absorben menos de 22 % y el maíz resistente absorbe sólo 16 %. Everman *et al.* (2009b) analizaron la absorción, translocación, y el metabolismo del glufosinato en el algodón transgénico y no transgénico, *Amaranthus palmeri*, e *Ipomoea lacunosa*, y señalan que estas especies se podían dividir en dos grupos en función de la absorción GA: alta (*A. palmeri*) y baja (algodón no transgénico y resistente al glufosinato e *I. lacunosa*).

De manera similar a las plantas de algodón, las concentraciones de amoníaco en el interior de *I. grandifolia* y *B. decumbens* se estabilizaron en aproximadamente 2 a 5 h sin lluvia, a pesar del aumento de herbicida absorbido a partir de estos períodos. La acumulación mayor de amoníaco mostró que las cantidades de herbicida absorbido en las primeras horas después de la aplicación aumentaron los niveles de este compuesto en las plantas, y causó niveles mayores de lesiones. El algodón presentó la acumulación de amoníaco más baja, seguido de *I. grandifolia*, y *B. decumbens* tuvo los niveles más altos (Figura 2). La acumulación de amonio se usa como indicador de rendimiento del glufosinato (Petersen y Hurle, 2001). Sellers *et al.* (2004) evaluaron la actividad de la glutamina sintetasa y la acumulación de amonio e influencia del momento de la aplicación de glufosinato en malva, y después de aplicar 160 a 320  $\text{g ha}^{-1}$  de glufosinato, la actividad de la glutamina sintetasa se redujo en al menos 50 % y la concentración de amonio fue al menos 13 veces mayor en las plantas tratadas, comparadas con las plantas testigo. Esta cantidad de acumulación es comparable

According to Pline *et al.* (1999), the foliar absorption of glufosinate in *Solanum carolinense* and *Asclepias syriaca* was fast in the first 12 h after treatment and increased significantly after 12 h. As glufosinate ammonium presents a structure analogous to glutamate, it inhibits glutamine synthetase, which is a key enzyme for controlling nitrogen utilization inside the cells (Coetzer and Al-Khatib, 2001). This results in a rapid accumulation of ammonia content (Lea *et al.*, 1984; Coetzer and Al-Khatib, 2001) and, subsequently, a change in the amino-acid spectrum in plant cells (Lea *et al.*, 1984; Sauer *et al.*, 1987). Tsai *et al.* (2006) reported drastic accumulation of ammonia, a biochemical marker of the inhibition of glutamine synthetase by glufosinate, in two rice lineages at 9 h after treatment with 0.26 mM glufosinate, and accumulation continued until 24 h after the treatment.

Plant cells avoid ammonium toxicity by rapidly converting the ammonium generated from nitrate assimilation or from photorespiration (Mifflin and Habash, 2002; Taiz and Zeiger, 2013). The inhibition of glutamine synthetase by glufosinate delays the photosynthesis rate in C3 and C4 plants (Lacuesta *et al.*, 1993; Wild *et al.*, 1987), which is attributed to inhibition of photorespiration, causing the accumulation of glycolate (González-Moro *et al.*, 1993; Wendler *et al.*, 1990). This accumulation inhibits ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and, consequently, diminishes CO<sub>2</sub> assimilation (González-Moro *et al.*, 1997). Photorespiration functions, along with the Calvin-Benson cycle, contribute to a wide array of chloroplast processes, from bioenergy to metabolism of carbon and assimilation of nitrogen; thus, it protects the photosynthetic machinery under stress conditions (Taiz and Zeiger, 2013). This could explain the higher accumulation of ammonium by *B. decumbens*, as compared with cotton and *I. grandifolia*, because it has a C3 metabolism in the presence of photorespiration.

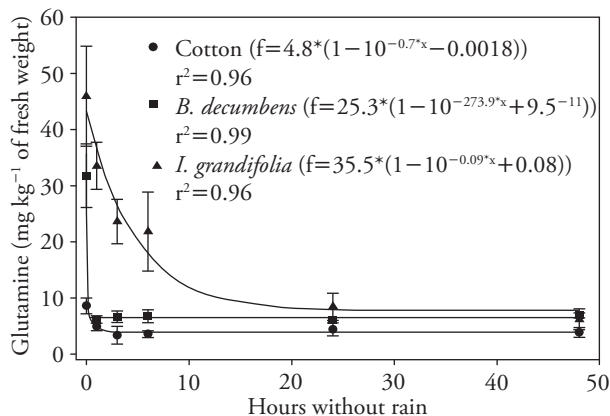
The exposure of *B. decumbens* plants to glufosinate for 1 h before rain was enough to cause the maximum reduction (approximately 80 %) in glutamine content (Figure 3). Cotton showed 60 % reduction in glutamine in 3 h without rain, whereas *I. grandifolia* showed the lowest glutamine levels at approximately 24 h without rain. This shows that plants must absorb a greater quantity of the herbicide to promote the most intense effects on glutamine content (Figure 3).

a las concentraciones de amonio que alteran la ultraestructura del cloroplasto e inhiben la formación de ATP (Krogmann *et al.*, 1959; Puritch y Barker, 1967; Barker, 1968).

Según Pline *et al.* (1999), la absorción foliar de glufosinato en *Solanum carolinense* y *Asclepias syriaca* fue rápida en las primeras 12 h después del tratamiento y aumentó significativamente después de 12 h. Dado que el glufosinato de amonio presenta estructura análoga al glutamato, inhibe la glutamina sintetasa que es una enzima clave para controlar la utilización de nitrógeno dentro de las células (Coetzer y Al-Khatib, 2001). Esto causa la acumulación rápida del contenido de amoniaco (Lea *et al.*, 1984; Coetzer y Al-Khatib, 2001) y, después un cambio en el espectro de aminoácidos en las células vegetales (Lea *et al.*, 1984; Sauer *et al.*, 1987). Tsai *et al.* (2006) informaron la acumulación drástica de amoniaco, un marcador bioquímico de la inhibición de la sintetasa de glutamina debido al glufosinato, en dos linajes de arroz a las 9 h después del tratamiento con 0.26 mM, de glufosinato y la acumulación continuó hasta 24 h después del tratamiento.

Las células vegetales evitan la toxicidad del amonio convirtiendo rápidamente el amonio generado a partir de la asimilación de nitrato o de la fotorrespiración (Mifflin y Habash, 2002; Taiz y Zeiger, 2013). La inhibición de la sintetasa de glutamina por la acción del glufosinato retarda la tasa de fotosíntesis en las plantas C3 y C4 (Lacuesta *et al.*, 1993; Wild *et al.*, 1987), lo cual se atribuye a la inhibición de la fotorrespiración y causa la acumulación del glicolato (González-Moro *et al.*, 1993; Wendler *et al.*, 1990). Esta acumulación inhibe la carboxilasa ribulosa-1,5-bisfosfato y por tanto, reduce la asimilación de CO<sub>2</sub> (González-Moro *et al.*, 1997). Las funciones de fotorrespiración, junto con el ciclo de Calvin-Benson, contribuyen a una amplia gama de procesos del cloroplasto, desde la bioenergía al metabolismo del carbono y la asimilación de nitrógeno; por lo tanto, protege el aparato fotosintético bajo condiciones de estrés (Taiz y Zeiger, 2013). Esto podría explicar la mayor acumulación de amonio de *B. decumbens*, comparado con el algodón e *I. grandifolia*, porque tiene un metabolismo C3 en presencia de la fotorrespiración.

La exposición de las plantas *B. decumbens* al glufosinato durante 1 h antes de la lluvia fue suficiente para causar la reducción máxima (aproximadamente 80 %) del contenido de glutamina (Figura 3). El



**Figure 3.** Glutamine concentration ( $\text{mg kg}^{-1}$  fresh weight) in plants of cotton, *B. decumbens* and *I. grandifolia* for different without rain periods at two days after application (DAA). Vertical bars represent  $\pm$  confidence interval of the mean ( $n=4$ ) by the t test ( $p \leq 0.05$ ).

**Figura 3.** La concentración de glutamina ( $\text{mg kg}^{-1}$  de peso fresco) en las plantas de algodón, *B. decumbens* e *I. grandifolia* para diferentes períodos sin lluvia a dos días después de la aplicación (DAA). Las barras verticales representan el intervalo de confianza  $\pm$  de la media ( $n=4$ ) de la prueba de t ( $p \leq 0.05$ ).

The inhibition of glutamine synthetase, by glufosinate, generates a glutamine decrease, amino-acid biosynthesis inhibition and ammonia accumulation in the plants (Hess, 2000). After applying 1.02 mM glufosinate, the activity of glutamine synthetase in the rice cv TNG 67, FSK and R11-2 diminished drastically within 6 h after the treatment (Tsai *et al.*, 2006). In *Amaranthus palmeri* S.Wats, 80 % of the activity of glutamine synthetase was inhibited by glufosinate between 6 and 24 h after herbicide treatment (Coetzer and Al-Khatib, 2001).

Visual injuries of the species analyzed increased throughout the evaluation period (Table 1). Cotton at 3 and 10 DAA, displayed 10 % and 95 % injuries, respectively, and this verified that the quantity of herbicide absorbed in 6 h after application was sufficient to promote the highest injury levels. Symptoms of injuries are evident 3 to 5 d after application of glufosinate ammonium, beginning with chlorosis and spots of liquid saturation followed by the rapid necrosis and death of the plant (Pline *et al.*, 1999).

At 3 DAA, *B. decumbens* plants presented 40 % control, which was higher to that observed in cotton

algodón mostró una reducción de 60 % en glutamina en 3 h sin lluvia, mientras que *I. grandifolia* tuvo los niveles más bajos de glutamina en aproximadamente 24 h sin lluvia. Esto muestra que las plantas deben absorber una mayor cantidad de herbicida para producir mayores efectos sobre el contenido de glutamina (Figura 3).

La inhibición de la sintetasa de glutamina por la acción del glufosinato genera una disminución de glutamina, inhibición de la biosíntesis de aminoácidos y acumulación de amoníaco en las plantas (Hess, 2000). Después de aplicar 1.02 mM de glufosinato, la actividad de la glutamina sintetasa en el cv TNG 67 de arroz, el FSK y R11-2 disminuyó drásticamente en 6 h después del tratamiento (Tsai *et al.*, 2006). En *Amaranthus palmeri* S.Wats, 80 % de la actividad de la glutamina sintetasa fue inhibida por el glufosinato entre 6 y 24 h después del tratamiento con herbicida (Coetzer y Al-Khatib, 2001).

Las lesiones visuales de las especies analizadas aumentaron durante el período de evaluación (Cuadro 1). El algodón a los 3 y 10 DDA mostró 10 % y 95 % de lesiones, respectivamente, y esto comprobó que la cantidad de herbicida absorbido en 6 h después de la aplicación fue suficiente para promover los niveles más altos de lesión. Los síntomas de las lesiones son evidentes 3-5 d después de la aplicación de glufosinato de amonio, comenzando con clorosis y puntos de saturación líquida, seguido por una rápida necrosis y muerte de la planta (Pline *et al.*, 1999).

A los 3 DDA, las plantas *B. decumbens* presentaron 40 % de control, que fue superior al observado en el algodón en el mismo período, y a los 10 DDA hubo 97 % de control en las plantas tratadas con 3 h de absorción de herbicida sin lluvias (Cuadro 1). En *I. grandifolia*, a los 3 DDA, las lesiones de las plantas aumentaron durante los períodos más largos sin lluvia, lo cual muestra que una mayor cantidad de glufosinato absorbido en los períodos más largos sin lluvia produce síntomas más intensos (Cuadro 1). Sin embargo, a los 6, 8 y 10 DDA no hubo diferencias después de 3 h sin lluvias, y alcanzó aproximadamente 90 % de control a los 10 DDA.

Anderson *et al.* (1993) evaluaron los efectos de las lluvias simuladas de 4, 9 y 22 mm en la eficacia del glufosinato de amonio en la cebada (*Hordeum vulgare* cv. Samson) y cola de zorro verde (*Setaria viridis*). Ellos observaron que se requería un período sin lluvia de 1 a 8 h (después de la aplicación de herbicidas)



in the same period, and at 10 DAA there was 97 % control in plants treated with 3 h of herbicide absorption without rains (Table 1). In *I. grandifolia* at 3 DAA, plants injuries increased during the longest periods without rain, which shows that greater quantities of glufosinate absorbed in the longest periods without rain promoted more intense symptoms (Table 1). Nevertheless, in the 6, 8 and 10 DAA there were no differences starting at 3 h without rains, reaching approximately 90 % control at 10 DAA.

Anderson *et al.* (1993) evaluated the effects of simulated rains of 4, 9 and 22 mm on the efficacy of glufosinate ammonium on barley (*Hordeum vulgare* cv. Samson) and green foxtail (*Setaria viridis*). They observed that a period of 1 to 8 h without rain (after herbicide application) was required to achieve good control of barley, compared to less than 20 min for green foxtail. Coetzer *et al.* (2001) estimated glufosinate efficacy in amaranth as affected by relative humidity and temperature, and 4 d after treatment, glufosinate dose (205, 410 and 820 g ha<sup>-1</sup>) controlled all species, on average higher than 80 % for plants grown at 90 % relative humidity, but 820 g ha<sup>-1</sup>

para lograr buen control en la cebada, comparado a menos de 20 min para la cola de zorro verde. Coetzer *et al.* (2001) estimaron la eficacia del glufosinato en el amaranto afectado por la humedad relativa y la temperatura, y 4 d después del tratamiento, las dosis de glufosinato (205, 410 y 820 g ha<sup>-1</sup>) controlaron todas las especies, en promedio más de 80 % cuando las plantas crecían con 90 % de humedad relativa, pero 820 g ha<sup>-1</sup> glufosinato dañó más de 80 % de las plantas con 35 % de humedad relativa.

### CONCLUSIONES

La absorción de glufosinato de amonio aumentó hasta las 24 h en algodón y 48 h en *B. decumbens* e *I. grandifolia*. A pesar del aumento en el contenido de glufosinato en los períodos más largos sin lluvia, los niveles de amonio aumentaron y los de glutamina disminuyeron. Las hojas de algodón mostraron los contenidos más bajos de glufosinato, amoniaco y glutamina. Las dos especies de maleza tuvieron las cantidades mayores de glufosinato y amoniaco, las cuales fueron menores para *I. grandifolia* comparada con

**Table 1. Percentage of visual injury in cotton plants (n=4) and percentage of control in *B. decumbens* (n=10) and *I. grandifolia* (n=10) plants for different without rain periods.**

**Cuadro 1. Porcentaje de daño visual en plantas de algodón (n=4) y porcentaje de control en las plantas *B. decumbens* (n=10) e *I. grandifolia* (n=10) para diferentes períodos sin lluvia.**

	Hours					Equation
	1	3	6	24	48	
<b>Cotton</b>						
3 DAA	1.3 ± 2.5	3.8 ± 2.5	7.5 ± 2.9	8.8 ± 4.8	12.5 ± 2.9	f(x)=9.5(1-10 <sup>-0.2x</sup> -0.07); R <sup>2</sup> =0.95
6 DAA	40.0 ± 4.1	60.0 ± 4.1	66.3 ± 6.3	72.5 ± 2.9	77.5 ± 2.9	f(x)=7.1(1-10 <sup>-0.3x</sup> -0.01); R <sup>2</sup> =0.99
8 DAA	68.8 ± 6.3	73.8 ± 2.5	86.3 ± 4.8	88.8 ± 6.3	95.0 ± 4.1	f(x)=86.6(1-10 <sup>-0.6x</sup> -0.003); R <sup>2</sup> =0.97
10 DAA	83.8 ± 2.5	90.0 ± 4.1	97.5 ± 2.9	97.5 ± 2.9	98.8 ± 2.5	f(x)=96.0(1-10 <sup>-0.9x</sup> -0.0003); R <sup>2</sup> =0.99
<b><i>B. decumbens</i></b>						
3 DAA	25.0 ± 4.1	42.5 ± 2.9	42.5 ± 2.9	43.8 ± 4.8	46.3 ± 2.5	f(x)=47.7(1-10 <sup>-0.4x</sup> -0.003); R <sup>2</sup> =0.99
6 DAA	48.8 ± 4.8	82.5 ± 2.9	83.9 ± 2.5	83.9 ± 2.5	88.8 ± 2.5	f(x)=86.5(1-10 <sup>-0.4x</sup> -0.004); R <sup>2</sup> =0.99
8 DAA	85.0 ± 4.1	92.5 ± 2.9	92.5 ± 2.9	92.5 ± 2.9	96.3 ± 1.5	f(x)=93.4(1-10 <sup>-1.0x+1.34<sup>-5</sup></sup> ); R <sup>2</sup> =0.99
10 DAA	92.5 ± 2.9	96.3 ± 2.5	97.5 ± 2.9	97.5 ± 2.9	100.0 ± 0.0	f(x)=97.8(1-10 <sup>-1.3x+6.12<sup>-6</sup></sup> ); R <sup>2</sup> =0.99
<b><i>I. grandifolia</i></b>						
3 DAA	16.3 ± 2.5	22.5 ± 2.9	31.3 ± 2.5	32.5 ± 2.9	68.8 ± 2.5	f(x)=(10.5x/0.2+x)+(9.8x/0.2+x)+0.9; R <sup>2</sup> =0.94
6 DAA	42.5 ± 2.9	72.5 ± 2.9	85.0 ± 4.1	86.3 ± 2.5	87.5 ± 2.9	f(x)=86.2(1-10 <sup>-0.3x</sup> +0.005); R <sup>2</sup> =0.99
8 DAA	58.8 ± 4.8	92.5 ± 2.9	92.5 ± 2.9	93.3 ± 2.4	93.8 ± 2.5	f(x)=94.2(1-10 <sup>-0.4x</sup> -0.003); R <sup>2</sup> =0.99
10 DAA	76.3 ± 2.5	92.5 ± 2.9	93.5 ± 4.0	96.0 ± 4.0	97.3 ± 2.1	f(x)=95.0(1-10 <sup>-0.0003x</sup> +0.7); R <sup>2</sup> =0.99

Values are the average of replications ± confidence interval of the mean (n=4) by the t test (p≤0.05). The equations models were adjusted by t test (p≤0.05) ♦ Los valores son la media de repeticiones ± intervalo de confianza de la media (n=4) de la prueba t (p≤0.05). Los modelos de ecuaciones se ajustaron mediante la prueba t (p≤0.05).

glufosinate injured more than 80 % of plants grown at 35 % relative humidity.

## CONCLUSIONS

Glufosinate ammonium absorption increased until 24 h in cotton and 48 h in *B. decumbens* and *I. grandifolia*. Despite the increment in glufosinate content in the longest periods without rain, levels of ammonia were increased and those of glutamine were reduced. Cotton leaves showed the lowest contents of glufosinate, ammonia and glutamine. The two weeds species had higher amounts of glufosinate and ammonia, which were lower for *I. grandifolia* as compared to *B. decumbens*. In the periods up to 24 h without rain, the reduction in glutamine was lower for *I. grandifolia*. Finally, injuries were already severe at three hours without rain for the three species.

## LITERATURE CITED

Anderson, D. M., C. J. Swanton, J. C. Hall, and B. G. Mersey. 1993. The influence of soil moisture, simulated rainfall and time of application on the efficacy of glufosinate-ammonium. *Weed Res.* 33:149-160.

Barberis, L. R. M. 2012. Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja. Thesis (Ph.D). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 66 p.

Barker, A. V. 1968. Ammonium interactions with proteins. *Biochem. Biophys. Acta.* 168:447-455.

Chompoo, J., and T. Pornprom. 2008. RT-PCR based detection of resistance conferred by an insensitive GS in glufosinate-resistant maize cell lines. *Pesticide Biochem. Physiol.* 90:189-195.

Christoffoleti, P. J. 2002. Trifloxysulfuron-sodium nos sistemas de manejo de plantas daninhas na cultura do algodão: seletividade, eficácia, custos e rendimento. *In: Anais do Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas.* Gramado, RS, Brasil. pp: 467.

Coetzer, E., and K. Al-khatib. 2001. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in Palmer amaranth after glufosinate application. *Weed Sci.* 49:454-459.

Coetzer, E., K. Al-Khatib., and T. M. Loughin. 2001. Glufosinate efficacy, absorption, and translocation in amaranth as affected by relative humidity and temperatura. *Weed Sci.* 49:8-13.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2013. Acompanhamento da safra brasileira grãos, Safra 2013/2014, v.1, n.3, terceiro levantamento. <http://www.conab.gov.br> (Access: December 2013).

Corbett, J. L., S. D. Askew, W. E. Thomas, and J. W. Wilcut. 2004. Weed efficacy evaluations for bromoxynil, glufosinate, glyphosate, pyriithiobac, and sulfosate. *Weed Technol.* 18:443-453.

Davis, B., R. C. Scott, and J. K. Norworthy. 2013. Response of wheat (*Triticum aestivum*) to low rates of glyphosate and glufosinate. *Crop Prot.* 54:181-184.

*B. decumbens*. En los períodos de hasta 24 h sin lluvia, la reducción en glutamina fue menor para *I. grandifolia*. Por último, las lesiones ya eran severas a las tres horas lluvia para las tres especies.

—Fin de la versión en Español—

-----\*-----

Duke, S. O., F. E. Dayan, J. G. Romagni, and A. M. Rimando. 2000. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed Res.* 40:99-111.

Droge-laser, W., U. Siemeling, A. Puhler, and I. Broer. 1994. The metabolites of the herbicide-phosphinothricin (glufosinate) (identification, stability, and mobility in transgenic, herbicide-resistant, and untransformed plants). *Plant Physiol.* 105:159-166.

Everman, W. J., C. R. Mayhe, J. D. Burton, A. C. York, and J. W. Wilcut. 2009a. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in glufosinate-resistant corn, goosegrass, large crabgrass, and sicklepod. *Weed Sci.* 57:1-5.

Everman, W. J., W. E. Thomas, J. D. Burton, A. C. York, and J. W. Wilcut. 2009b. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in transgenic and nontransgenic cotton, Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*), and Pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*). *Weed Sci.* 57:357-361.

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nation). 2012. Faostat. <http://www.faostat.fao.org> (Access: April 2014).

González-Moro, M. B., M. Lacuesta, R. Royuela, A. Muñoz-Rueda, and C. González-Murua. 1993. Comparative study of the inhibition of photosynthesis caused by aminooxyacetic acid and phosphinothricin in *Zea mays*. *J. Plant Physiol.* 142:161-166.

González-Moro, M. B., M. Lacuesta, J. M. Becerril, C. González-Murua, and A. Muñoz-Rueda. 1997. Glycolate accumulation causes a decrease of photosynthesis by inhibiting RUBISCO activity in maize. *J. Plant Physiol.* 150:388-394.

Hess, F. D. 2000. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Sci.* 48:160-170.

Krausz, R. F., G. Kapusta, J. L. Matthews, J. L. Baldwin, and J. Maschoff. 1999. Evaluation of glufosinate-resistant corn (*Zea mays*) and glufosinate: efficacy on annual weeds. *Weed Technol.* 13:691-696.

Krogmann, D. W., A. T. Jagendorf, and M. Avron. 1959. Uncouplers of spinach chloroplast photosynthetic phosphorylation. *Plant Physiol.* 34:272-277.

Kumaratilake, A. R., D. F. Lorraine-Colwill, and C. Preston. 2002. A comparative study of glufosinate efficacy in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) and sterile oat (*Avena sterilis*). *Weed Sci.* 50:560-566.

Lacuesta, M. B., C. González-Moro, A. González-Murua, and A. Muñoz-Rueda. 1993. Time-course effect of phosphinothricin (PPT) on photosynthesis in *Medicago sativa*. *Plant Physiol.* 89:847-853.

- Lea, P. J., K. W. Joy, J. L. Ramos, and M. G. Guerrero. 1984. The action of 2-amino-4 (methylphosphinyl)-butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants. *Phytochemistry*. 23:1-6.
- Logusch, E. W., D. M. Walker, J. F. McDonald, J. E. Franz. 1991. Inhibition of plant glutamine synthetases by substituted phosphinothricins. *Plant Physiol*. 95:1057-1062.
- Manderscheid, R., and A. Wild. 1986. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. J. *Plant Physiol*. 123:135-142.
- Mifflin, J. B., and D. Z. Habash. 2002. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. *J. Exp. Bot.* 53:979-987.
- Petersen, J., and K. Hurlle. 2001. Influence of climatic conditions and plant physiology on glufosinate-ammonium efficacy. *Weed Res.* 41:31-39.
- Pline, W. A., J. Wu, and K. K. Hatzio. 1999. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in five weed species as influenced by ammonium sulfate and pelargonic acid. *Weed Sci.* 47:636-643.
- Pornprom, T., S. Surawattananon, and P. Srinives. 2000. Ammonia accumulation as an index of glufosinate-tolerant soybean cell lines. *Pestic. Biochem. Physiol.* 68:102-106.
- Puritch, G. S. and A. V. Barker. 1967. Structure and function of tomato leaf chloroplasts during ammonium toxicity. *Plant Physiol*. 42:1229-1238.
- Richardson, R. J., H. P. Wilson, and T. E. Hines. 2007. Preemergence herbicides followed by trifloxysulfuron postemergence in cotton. *Weed Technol.* 21:1-6.
- Rodrigues, B. N., and F. S. Almeida. 2011. 6a. ed. *Guia de Herbicidas*. Londrina. 697 p.
- Sauer, H., A. Wild, and W. Ruhle. 1987. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis. II. The causes of inhibition of photosynthesis. *Z. Naturforsch.* 42: 270-278.
- Sellers, B. A., R. J. Smeda, and J. Li. 2004. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation in influenced by time of glufosinate application. *Pest Bioch Physiol.* 78: 9-20.
- Senseman, S. A. 2007. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of America. Lawrence. 458 p.
- Shin, J. S., K. M. Kim, D. J. Lee, S. B. Lee, N. R. Burgose, and Y. I. Kuka. 2011. Resistance levels and fitness of glufosinate-resistant transgenic sweet potato in field experiments. *Field Crops Res.* 121:324-332.
- Steckel, G. J., S. E. Hart, and L. M. Wax. 1997. Absorption and translocation of glufosinate on four weed species. *Weed Sci.* 45:378-38.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2013. *Fisiologia Vegetal*. 5a. ed. Artmed. Porto Alegre. 918 p.
- Tsai C. J., C. S. Wang, and C. Y. Wang. 2006. Physiological characteristics of glufosinate resistance in rice. *Weed Sci.* 54:634-640.
- Wendler, C., M. Barniske, and A. Wild. 1990. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and photorespiration of C3 and C4 plants. *Photosynth. Res.* 24:55-61.
- Wild, A., H. Sauer, and W. Ruhle. 1987. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis. I. Inhibition of photosynthesis and accumulation of ammonia in *Sinapis alba*. *Z. Naturforsch* 42: 263-269.