

EFEITO DO ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO (2,4-D)  
NA ABSORÇÃO DO FÓSFORO ( $^{32}\text{P}$ ) PELO TRIGO (Triticum  
aestivum.,L) E A SUA DISTRIBUIÇÃO NA PLANTA.

**MARCELO HOGAN ALTERMAN**

Engenheiro Agrônomo  
Universidade do Chile  
Faculdade de Agronomia

Orientador: **PROF. DR. A. M. LOUIS NEPTUNE**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade  
de São Paulo, para obtenção do título de Mestre.

PIRACICABA

SÃO PAULO

BRASIL

1971

À compreensão de minha espôsa

María Angélica

À minha filha

Cecilia Jussara

Dedico

Aos meus pais

Ofereço

## A G R A D E C I M E N T O S .

Desejamos expressar os nossos sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho , principalmente:

- Ao Dr. A.M.LOUIS NEPTUNE , Professor de Disciplina do Departamento de Solos e Geologia e Responsável pelo Setor de Fertilizantes e Fertilidade de Solos do Centro de Energia Nuclear na Agricultura ( CENA ) , pela orientação deste trabalho e inestimáveis conselhos.
- Aos Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> VIRGILIO F. NASCIMENTO FILHO e TAKASHI MURAOKA, pela indispensável colaboração prestada durante o decorrer - deste trabalho.
- Ao Sr. OSMAR FERRAZ DE PAULA, pela sua cooperação.
- Ao INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIÊNCIAS AGRÍCOLAS ,( IICA - Zona Sul ) pela bolsa de estudo concedida.
- À FACULDADE DE AGRONOMIA DA UNIVERSIDADE DO CHILE , que autorizou minha participação no Curso de Pós-graduação.
- Ao CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA ( CENA ) na pessoa do Prof. ADMAR CERVELLINI , pelas facilidades otorgadas para a realização do presente trabalho.
- A todo pessoal do CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA.

## Í N D I C E

### AGRADECIMENTOS

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
3.1. VARIEDADE DE TRIGO UTILIZADA .....	8
3.2. SOLO .....	8
3.3. ENSAIOS REALIZADOS .....	8
3.4. ADUBAÇÃO E SEMEADURA .....	8
3.5. APLICAÇÃO DO HERBICIDA .....	9
3.6. APLICAÇÃO DA SOLUÇÃO RADIOATIVA ( $^{32}\text{P}$ ) .....	9
3.7. COLHEITA .....	9
3.8. PREPARAÇÃO DO MATERIAL PARA A DETECÇÃO DA <u>RA</u> DIOATIVIDADE .....	10
3.9. MEDIDA DA RADIOATIVIDADE DAS AMOSTRAS .....	10
4. RESULTADOS .....	12
4.1. PRIMEIRO ENSAIO .....	12
4.2. SEGUNDO ENSAIO .....	15
4.3. TERCEIRO ENSAIO .....	18
4.4. QUARTO ENSAIO .....	21

5. DISCUSSÃO .....	29
5.1. ABSORÇÃO DE FÓSFORO PELO TRIGO .....	29
5.2. DISTRIBUIÇÃO DO FÓSFORO NO TRIGO .....	32
6. CONCLUSÕES .....	33
7. RESUMO .....	34
8. SUMMARY .....	35
9. BIBLIOGRAFIA CITADA .....	36

## 1. INTRODUÇÃO

Em 1931, KÖGL e HAAGEN-SHMIT isolaram, pela primeira vez, um hormônio vegetal, ao qual denominou-se auxina. Es se por sua vez, foi identificado como sendo o ácido B' indol acético ( IAA ) (YUFERA,1958). Este fitohormônio possuía uma ação reguladora sobre diferentes processos fisiológicos nos ve getais e, provavelmente sobre os outros hormônios.

Pouco depois do isolamento do IAA, vários pesquisadores demonstraram que certos compostos cuja existência nos vegetais era desconhecida, induziam reações nas plantas, se melhantes àquelas determinadas pela auxina natural.

Baseando-se no conhecimento de que as auxinas, quando aplicadas em determinadas concentrações, exercem efeitos tóxicos nas plantas, surgiu a ideia de usar produtos sintéticos de efeitos semelhantes às auxinas, como o 2,4 - D, com o propósito de combater plantas indesejáveis (MITCHELL e HAMNER, 1944, citados por AUDUS, 1963).

ZIMMERMAN e HITCHCOCK, 1942, demonstraram as propriedades reguladoras de crescimento do ácido 2,4 diclorofenoxiacético ( 2,4 - D ).

Quando o 2,4 - D é aplicado sobre as plantas suscetíveis, ele é rapidamente absorvido e migra às outras partes do vegetal, afetando principalmente os tecidos meristemáticos. A sua rápida distribuição contribui em grande parte para a sua eficiência como agente tóxico.

Os estudos relativos ao efeito do 2,4 - D mostram que esse herbicida afeta a fotossíntese, o metabolismo dos carbôni

dratos , a respiração , a absorção e o metabolismo dos iônios, a produção de metabólitos tóxicos, etc.( NORMAN et al. , 1950; FERNANDEZ, 1963 ; MORELAND , 1967 ; ANDREAE, 1963 ; ROBERTSON and KIRKWOOD, 1970 ; GHINEA e CARAMETE,1970 ; KOGAN, 1971).

Existem muitos trabalhos com 2,4- D no que diz respeito à interação deste herbicida com os nutrientes , em várias espécies , principalmente da família Dicotiledoneas , porém poucos estudos neste campo tem sido conduzidos com o trigo.

Em vista disso , procuramos no presente trabalho , estudar o efeito de diferentes concentrações de 2,4 - D na absorção e distribuição de fósforo -  $^{32}\text{P}$  pelo trigo no estado de três folhas , sendo que esta gramínea ,naquêl estado mostra-se susceptível a este herbicida.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O estudo do efeito do 2,4-D na absorção do fósforo é de grande importância devido ao papel deste nutriente e da fosforilação em vários processos metabólicos.

A absorção do íon fosfato é um processo metabólico, relacionado com a respiração (LUNDEGÅRDH e BURSTRÖM, 1933, citados por LUNDEGÅRDH, 1966; GAUCH, 1957; EPSTEIN, 1960).

Em relação a respiração, o 2,4-D pode retardar ou estimular tal processo (KLINGMAN, 1963). De fato, FREED et al., 1961, verificaram que baixas concentrações de 2,4-D ( $5 \times 10^{-4}M$ ) estimulam a atividade enzimática, embora concentrações relativamente altas ( $5 \times 10^{-3}M$ ) inibiam a atividade das enzimas respiratórias. Aliás este achado concorda com KEY, 1960, que trabalhando com mitocôndrios de soja (Glycine max., Merr.), submetidas a 2,4-D ( $5 \times 10^{-4}M$ ), observou maior crescimento das ditas organelas. Isso incrementou a atividade oxidativa e fosforilativa, e consequentemente a respiração.

YAKUSHKINA e LIKHOLAT, 1965, citados por MASHTAKOV e DEENA, 1967, indicaram a influência do 2,4-D na acumulação de fosfatos ricos em energia, tanto em plantas sensíveis como resistentes.

HUMPHREYS e DUGGER, 1957<sup>a</sup> e 1957<sup>b</sup>, observaram que a respiração continuava normalmente em plantinhas de ervilhas (Pisum sativum, L.) separados de seus cotilédones, após serem pulverizadas com 2,4-D. Estes autores postularam que este herbicida aumentou a respiração devido a maior quantidade de glucose catabolizada pela via oxidativa das fosfopentosas.

Estudos feitos por WEST et al., 1960, em mesocotilo de milho (Zea mays, L.) e hipocotilo de abóbora (Cucumis maxima, L.), KEY e HANSON, 1961; FITES, 1965, em plantinhas de



soja ( Glycine max Merr ) e por BASLER e NAKAZAWA , 1961 , em tecidos de cotilédones de algodão ( Gossypium hirsutum , L. ) , mostraram aumento do ácido ribonucleico ( RNA ). Outros trabalhos indicaram que a ação do 2,4 -D no teor de RNA dependia da dose ; assim, baixas concentrações aceleravam a atividade da ribonuclease ( RNA ase ) , embora fôsse inibida por altas concentrações ( KEY , 1963 ; SHANNON et al . , 1964 ). O ácido é essencial na síntese proteica e aparentemente tem certa função na fosforilação oxidativa e na absorção de iônios.

Existem evidências que o 2,4 - D pode atuar desacoplando a fosforilação oxidativa ( LOTLIKAR , 1960 , citado por WORT , 1964a ; BOTTRILL , 1965 , citado por MORELAND , 1967 ). Assim WEDDING e BLACK , 1961 , encontraram que o 2,4-D inibia a incorporação de  $^{32}\text{P}$  na molécula de ATP e ADP em chlorella.

CHAKANICOV et al . , 1970 , verificaram que uma solução  $5 \times 10^{-3}\text{M}$  de 2,4 -D inibia a incorporação do  $^{32}\text{P}$  nos nucleotidos fosfatos em segmentos estiolados de ervilha e algodão . A inibição da incorporação de  $^{32}\text{P}$  em ATP , UDPG e ADP foi constatada entre os 15 - 60 minutos após a imersão dos segmentos na solução desse herbicida. Quando plantinhas de ervilha foram pulverizadas com uma solução  $5 \times 10^{-3}\text{M}$  de 2,4- D , estes pesquisadores observaram uma inibição do processo da fosforilação nos tecidos tratados. Com uma concentração 10 vezes menor (  $5 \times 10^{-4}\text{M}$  ), SWITZER encontrou um estímulo da fosforilação de mitocôndrios isolados das plantas de soja. Porém quando trabalhando com mitocôndrios " in vitro " aquela concentração reduziu em 20% a fosforilação.

WILDMAN e BONNER , 1946 , citados por Verdejo , 1958 , relacionaram as auxinas com o metabolismo do fósforo. Das folhas de espinafre ( Spinacia oleracea, L. ) uma proteína auxina tem sido isolada , a qual parece atuar como fosfatase , hidrolizando rapidamente compostos fosforilados. Sabendo-se que o

2,4 - D goza de muitas propriedades auxínicas, não é de se surpreender que este, depois de combinar-se com uma proteína, fôsse capaz de estimular a libertação do fósforo inorgânico a partir de compostos fosforilados. Se o 2,4 - D inibe ou estimula a fosforilação ou facilita a hidrólise do ATP, é de se esperar que a absorção iônica seja afetada.

Por outro lado, sabendo-se que os iônios movimentam-se para a parte aérea, passivamente na corrente transpiratória, e que o 2,4 - D produz um parcial fechamento dos estômatos ( BRADBURY e ENNIS, 1952 ; SASAKI e KOSLOWSKI, 1967 ; LEONARD et al., 1966 ), pode-se esperar distúrbios na distribuição dos iônios dentro das plantas.

Os resultados obtidos pelo efeito do 2,4-D na absorção do fósforo podem ser divergentes quando se trabalha com espécies diferentes ( BLACKMAN, 1956 ). Ainda mais, outros fatores podem determinar resultados diferentes, tais como, idade da planta, natureza do tratamento ("in vivo" ou "in vitro"), local de aplicação do herbicida (fôlhas ou raízes), concentração usada, órgão ou tecido examinado e tempo após o qual é feita a análise ( WORT, 1964a ).

WOLF et al., 1950, trabalhando com soja, encontraram um menor conteúdo de fósforo em plantas que receberam uma aplicação de 20 ppm. de 2,4-D.

Como se pode ver no QUADRO 1, vários são os trabalhos realizados a este respeito em feijoeiro; assim; REBSTOCK et al., 1954, e ETTER, 1967, observaram o efeito do 2,4-D na distribuição do fósforo. As plantas tratadas apresentam um conteúdo de fósforo maior no caule e menor nas fôlhas. FANG e BUTTS, 1954a, trabalhando com a mesma espécie obteve respostas variáveis, segundo a dosagem de 2,4 - D empregada. Quando a dose foi de 10  $\mu$  g. de 2,4-D/planta, os resultados concordam com aqueles obtidos por REBSTOCK et al., 1954 e ETTER, 1967.

Com as doses de 50 e 100 µg. de 2,4-D/planta , tanto a absorção como a distribuição do fósforo foi menor. Dêsse modo , as plantas tratadas mostraram um menor conteúdo de fósforo tanto nas raízes , como no caule e nas fôlhas ( QUADRO 1 ).

WILDON et al ., 1957 e REBSTOCK et al.,1954 , trabalhando , os primeiros com fumo (Nicotiana tabacum, L.) e os segundos com feijão com a dose de 1000 ppm de 2,4-D , encontraram resultados totalmente contraditórios.(QUADRO 1 )

Os trabalhos com gramíneas são mais escassos na literatura . WORT , 1964b, cita um trabalho , no qual a cevada ( Hordeum vulgare , L. ) cultivada em solução nutritiva , foi polvilhada , no estado de 3 fôlhas , com 2,4-D a 5% , numa dose equivalente a 11,3 Kg/ha . Houve um aumento na absorção do fósforo -  $^{32}\text{P}$  como também no transporte , das raízes para os caules.

BLACKMAN , 1955 , encontrou que a absorção de fosfato diminui progressivamente quando Salvinia natans e Lemna minor foram pulverizadas com concentração de 2,4-D superiores a 3 ppm.(BRIAN , 1964)

Trabalhos realizados com raízes destacadas de cevada por KOGAN et al ., 1971 , indicam uma sensível diminuição na absorção de  $^{32}\text{P}$  , na presença de 1 e 10 ppm. de 2,4-D. Após 30 minutos , raízes mergulhadas em uma solução contendo 10 ppm. de 2,4-D mostraram uma diminuição de 32,7% na absorção do fósforo em relação àquelas na solução sem 2,4 -D.

QUADRO 1 - Resumo de diferentes trabalhos relacionados com efeito do 2,4-D na absorção e distribuição do fósforo, em diferentes espécies.

<u>AUTOR</u>	<u>ESPÉCIE</u>	<u>IDADE DA PLANTA</u>	<u>CONCENTRAÇÃO DE 2,4-D USADA</u>	<u>QUANTIDADE DE FÓSFORO EM RELAÇÃO A PLANTAS NÃO TRATADAS.</u>			
				<u>RAÍZ</u>	<u>CAULE</u>	<u>FÔLHAS</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
WOLF et al., 1950	<u>Glycine max</u>	—	20 ppm.	—	—	—	menor
REBSTOCK et al., 1954	<u>Phaseolus vulgaris</u>	1ª folha ( 10 dias)	1000 ppm.	semelhan- te	maior	menor	—
FRANG e BUTTS 1954	<u>Phaseolus vulgaris</u>	1ª folha	10µg./planta 50µg./planta 100µg./planta	semelhan- te menor menor	maior menor menor	menor menor menor	— — —
WILDON et al., 1957	<u>Nicotiana tabacum</u>	20 - 28 cm.	1000 ppm.	semelhan- te	muito menor	—	— —
ETTER 1967	<u>Phaseolus vulgaris</u>	15 dias	5 ppm.	—	maior	menor	—

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 VARIEDADE DE TRIGO UTILIZADA

A variedade de trigo empregada foi B H 1146.

#### 3.2 SOLO

Um Regossolo , de baixo teor em fósforo solúvel ( $< 0,01$  e mg./100g solo) foi utilizado como substrato para as plantas.

#### 3.3 ENSAIOS REALIZADOS

O trabalho experimental constou de quatro ensaios em vasos , com quatro repetições , conduzido em casa de vegetação . Em cada ensaio , foram aplicadas quatro doses de 2,4 -D: 0 , 1000 , 2000 e 4000 ppm. e uma solução contendo fósforo radioativo.

No primeiro ensaio , as plantas foram cortadas 8 horas após a aplicação do herbicida. No segundo , no terceiro e no quarto ensaio às 14 , 26 e 50 horas respectivamente.

#### 3.4 ADUBAÇÃO E SEMEADURA

Cada vaso , com capacidade de 2,5 Kg. de solo , recebeu 300 ml. de uma solução de nutrientes contendo por litro: 200 mg.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  , 200 mg.  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  , 500 mg.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  , 800 mg.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e 200mg.  $\text{Mg. SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Em cada vaso , foram semeadas 9 sementes. As datas de

semeadura variaram de acordo com o cronograma estabelecido. Para o primeiro ensaio 10 de abril , para o segundo , o terceiro e o quarto: 20 de abril , 5 de maio e 15 de maio, respectivamente.

### 3.5 APLICAÇÃO DO HERBICIDA

O 2,4 - D ( sal amina ) foi aplicado na forma comercial de Difenox A ( 39% I.A) na pós emergência , quando o trigo tinha 3 fôlhas .

A aplicação foi realizada com um micro pulverizador, utilizado em cromatografia , da KIMAX , smi nº 26500

Antes da pulverização , pedaços de algodão foram colocados na superfície do solo dos vasos para evitar que o 2,4 - D entrasse em contacto com o solo.

### 3.6 APLICAÇÃO DA SOLUÇÃO RADIOATIVA ( $^{32}\text{P}$ )

Duas horas após a aplicação do 2,4- D, cada vaso recebeu 5 ml. de uma solução contendo 6  $\mu$  Ci de  $^{32}\text{P}/\text{ml}$ . Cabe assinalar , entretanto , que no quarto ensaio a atividade da solução radioativa foi de 3  $\mu$  Ci de  $^{32}\text{P}/\text{ml}$ .

A aplicação do radioisótopo foi feita com uma pipeta automática , da Aupette Clay - Adams . Inc -N.Y. A seguir os vasos foram irrigados com 150 ml. de água , com objetivo de provocar uma melhor distribuição do radioisótopo nos primeiros 10 cm. do solo .

O material radioativo na forma de  $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$  , livre de carregador , foi fornecido pelo Instituto de Energia Atômica , S.P.

### 3.7 COLHEITA

As plantas foram colhidas às 8 , 14 , 26 e 50 horas após a aplicação do 2,4-D , como foi mencionado no item 3.3 ,

e separadas em raiz e parte aérea . Em primeiro lugar cortou-se a parte aérea a 1 cm, acima da superfície do solo . Em segundo lugar , as raízes , com ajuda de jatos de água , foram retiradas dos vasos e colocadas em uma peneira nº 10. Continuou-se a lavagem até eliminar as partículas de solo.

A fim de provocar a troca isotópica , as raízes foram mergulhadas em uma solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,001 M e a seguir em uma de  $\text{HCl}$  0,1 N. Finalmente , foram lavadas novamente com água e colocadas sobre papel filtro para retirar excesso de água. A seguir , tanto a parte aérea como as raízes foram postas a secar em estufa a 70-80°C , durante 48 horas.

### 3.8 PREPARAÇÃO DO MATERIAL PARA A DETECÇÃO DA RADIOATIVIDADE

A matéria seca ( parte aérea e raízes ) foi pesada e transferida para cadinhos de porcelana e incinerada a 500°C ( ELLIS et al., 1966), durante 6 - 8 horas. Uma vez esfriados os cadinhos , a cinza foi umedecida com algumas gotas de água destilada , e adicionou-se , a cada cadinho , 5 ml. de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( 1:2). Escolheu-se o ácido sulfúrico, já que ROBINSON , 1969, conseguiu com êsse reagente uma maior eficiência na detecção do material radioativo , quando comparado com ácido nítrico e outros.

Os cadinhos foram aquecidos em banho de areia até que o extrato ficara quase incolor . A seguir o conteúdo dos cadinhos foi filtrado sob vácuo. O filtrado foi recebido em frascos do cintilador líquido e completou-se com água destilada até 20g.

### 3.9. MEDIDA DA RADIOATIVIDADE DAS AMOSTRAS

A atividade de cada amostra foi determinada através da radiação Cerenkov ( HABERER, 1966 ; WHITE e ELLIS , 1968 ;

AWERBUCH e AVNIMELECH , 1970 )utilizando um contador por cintilação líquida da Nuclear Chicago Corporation.Série 720 , U.S.A.

Para melhor precisão na determinação da radioatividade das amostras , empregou-se a técnica da padronização interna ( TURNER, s/ data ; PARNENTIER e TENHAAF , 1969). Nesta , a atividade de cada amostra foi medida durante 10 minutos ou o tempo suficiente para atingir 10000 contagens ; após essa determinação , adicionou-se a cada frasco do cintilador, contendo uma alíquota ( 250 micromililitros) de uma solução radioativa ( $^{32}\text{P}$ ) , da qual conhecemos a radioatividade em d/min.Novamente determinou-se a atividade de cada amostra , durante 1 minuto . Desta forma torna-se possível expressar os resultados em d/min./mg. de matéria sêca , de acôrdo com as seguintes equações :

$$Ea = \frac{Da}{C' - C} \quad ( 1 )$$

Ea = Eficiência de detecção do padrão e da amostra.

Da = Atividade da alíquota adicionada em d/ min.

C = Contagem da amostra em i/min.

C' = Contagem da amostra mais contagem da alíquota em i/min.

$$D = \frac{Da}{C' - C} \cdot \frac{( C - B )}{X} \quad ( 2 )$$

D = Atividade da amostra em d/ min/ mg. matéria sêca.

B = Radiação de fundo.

X = Quantidade de matéria sêca em mg.



4. RESULTADOS

Os resultados dos quatro ensaios encontram-se nos Quadros 2 até 9 e nas Figuras 2 até 7. Os dados representam a média de quatro repetições.

4.1 PRIMEIRO ENSAIO

Os dados do Quadro 2 mostram o efeito do 2,4-D na absorção e distribuição do fósforo nas frações da planta de trigo em d/min/mg. matéria seca.

Para melhor visualização, estes dados, foram transformados em percentagem, dando um valor 100 às atividades das frações das plantas que não receberam aplicação do herbicida (Quadro 3 e a Figura 1)

QUADRO 2 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4 -D, 8 horas após a pulverização, na absorção e distribuição do <sup>32</sup>P.

ppm 2,4-D	d/min./mg. matéria seca		
	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	5,0	2,5	7,5
1000	12,6	13,5	36,1
2000	11,0	12,3	23,3
4000	5,2	9,7	14,9

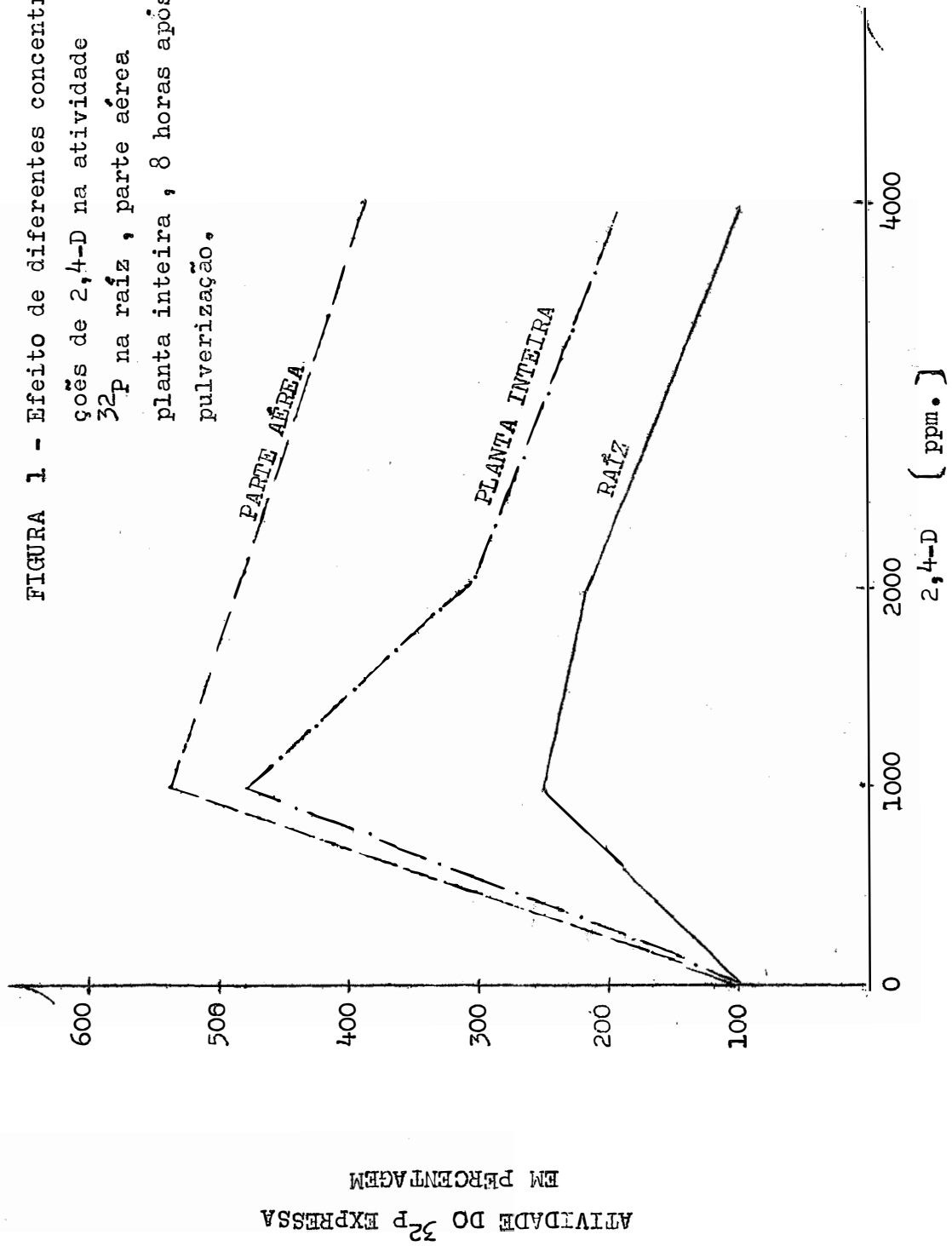
QUADRO - 3 - Efeito do 2,4-D , 8 horas após a pulverização , na absorção e distribuição percentual do  $^{32}\text{P}$ .

ppm 2,4-D	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	100	100	100
1000	250	540	481
2000	220	492	311
4000	104	388	199

Observando os dados do Quadro 3 e da Figura 1 ,pode-se ver claramente que as três doses de 2,4-D usadas estimulam a absorção de  $^{32}\text{P}$  ; porém o estímulo diminui com o aumento das concentrações de 2,4 - D .

A distribuição do  $^{32}\text{P}$  da raiz para a parte aérea obedeceu a mesma tendência. Pode-se observar também que a atividade de das plantas tratadas com 2,4-D foi sempre maior que daque las não pulverizadas.

FIGURA 1 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na atividade do  $^{32}\text{P}$  na raiz, parte aérea e planta inteira, 8 horas após a pulverização.



ATIVIDADE DO  $^{32}\text{P}$  EXPRESSA EM PORCENTAGEM

4.2 SEGUNDO ENSAIO

O efeito do 2,4 - D na absorção e distribuição do fósforo nas frações da planta de trigo encontra-se no Quadro 4. Estes dados, como no primeiro ensaio, foram transformados em percentagem (Quadro 5) e ilustrados na Figura 2.

QUADRO 4 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4 - D, 14 horas após a pulverização, na absorção e distribuição do  $^{32}\text{P}$ .

ppm 2,4 -D	d/min./mg. matéria seca		
	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	89,6	94,8	184,4
1000	213,5	192,2	405,7
2000	284,9	170,8	455,7
4000	193,1	181,5	374,6

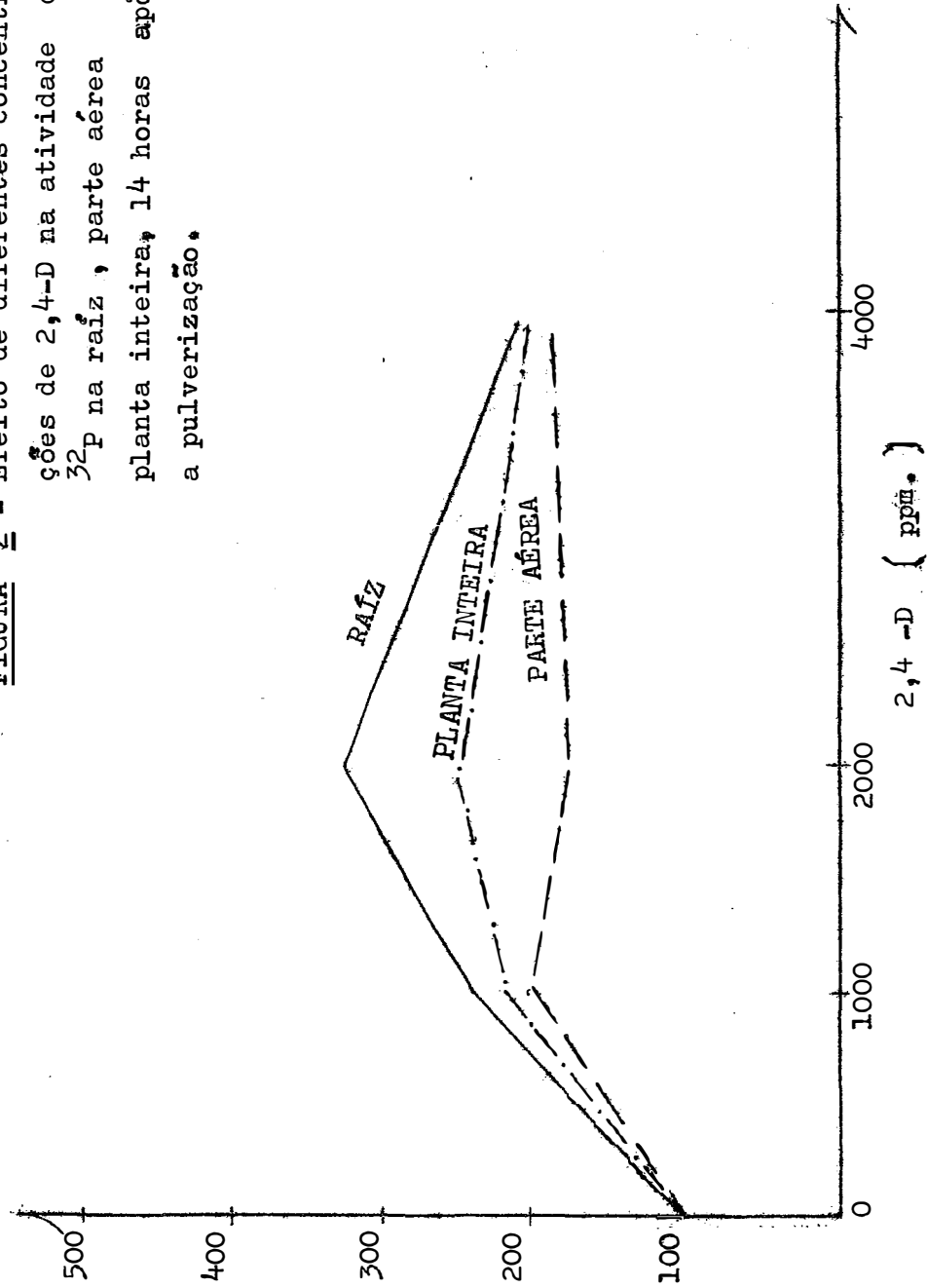
QUADRO 5 - Efeito do 2,4-D , 14 horas após a pulverização , na absorção e distribuição percentual do  $^{32}\text{P}$ .

ppm 2,4-D	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	100	100	100
1000	238	203	220
2000	317	180	247
4000	215	191	203

As três concentrações de 2,4-D , 1000 , 2000 e 4000 ppm, estimularam a absorção e a distribuição do  $^{32}\text{P}$ . Observou-se uma maior absorção do fósforo com a concentração de 2000 ppm.

ATIVIDADE DO  $^{32}\text{P}$  EXPRESSA  
EM PORCENTAGEM.

FIGURA 2 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na atividade do  $^{32}\text{P}$  na raiz, parte aérea e planta inteira, 14 horas após a pulverização.



4.3 TERCEIRO ENSAIO

No Quadro 6 , são apresentados os dados referentes ao efeito do 2,4-D na absorção e distribuição do fósforo nas frações da planta de trigo , os quais foram transformados em percentagem ( Quadro 7 ).

QUADRO 6 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D , 26 horas após a pulverização, na absorção e distribuição do  $^{32}\text{P}$ .

ppm 2,4-D	d/min./mg. matéria sêca		
	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	126,8	143,3	270,1
1000	227,7	167,9	395,6
2000	296,0	130,8	426,8
4000	164,1	100,1	264,2

QUADRO 7 - Efeito do 2,4-D , 26 horas após a pulverização , na absorção e distribuição percentual do  $^{32}\text{P}$ .

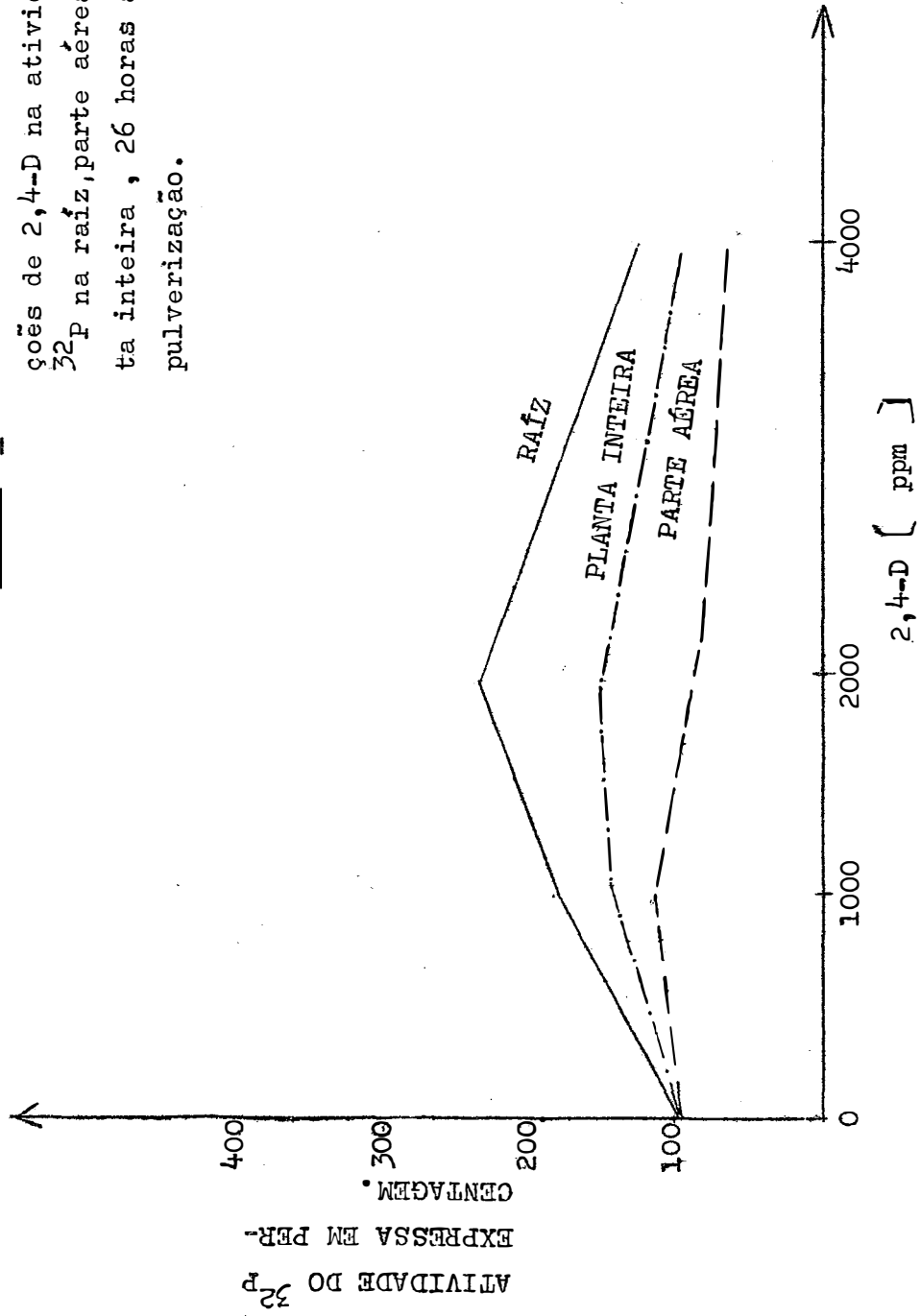
ppm 2,4-D	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	100	100	100
1000	180	117	146
2000	235	91	158
4000	129	70	98

Como no ensaio anterior , os dados do Quadro 7 e Figura 3 mostram que houve maior absorção de  $^{32}\text{P}$  com a concentração de 2000 ppm. de 2,4-D.

Em relação à parte aérea , verificou-se menor distribuição do fósforo com as concentrações de 2000 ppm e de 4000 ppm. de 2,4-D.



**FIGURA 2** - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na atividade do  $^{32}\text{P}$  na raiz, parte aérea e planta inteira, 26 horas após a pulverização.



4.4 QUARTO ENSAIO

No Quadro 8 são apresentados os dados referentes ao efeito do 2,4-D na absorção e distribuição do fósforo nas frações da planta de trigo. Esses valores expressos em porcentagem, encontram-se no Quadro 9 e são ilustrados na Figura 4.

QUADRO 8 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D, 50 horas após a pulverização, na absorção e distribuição do <sup>32</sup>P.

ppm 2,4-D	d/min./mg. matéria sêca		
	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	73,6	40,1	113,7
1000	69,0	45,0	114,5
2000	89,8	39,6	129,4
4000	100,8	42,8	143,6

QUADRO 9 - Efeito do 2,4-D , 50 horas após a pulverização , na absorção e distribuição percentual do  $^{32}\text{P}$ .

ppm 2,4-D	<u>RAÍZ</u>	<u>PARTE AÉREA</u>	<u>PLANTA INTEIRA</u>
0	100,0	100	100
1000	93,7	112,3	100,7
2000	122,0	98,8	113,8
4000	136,9	106,7	126,3

ATIVIDADE DO  $^{32}\text{P}$  EXPRESSA  
EM PORCENTAGEM.

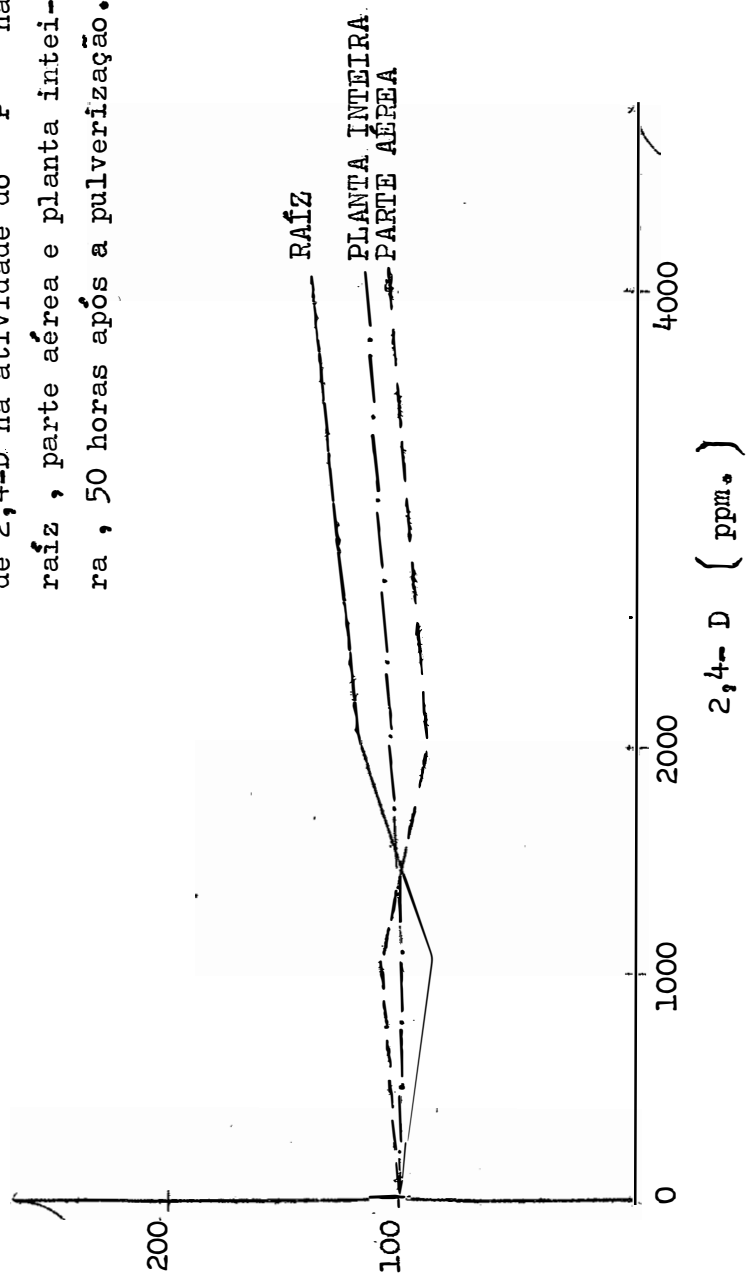


FIGURA - 4 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na atividade do  $^{32}\text{P}$  na raiz, parte aérea e planta inteira, 50 horas após a pulverização.

Como se pode verificar no Quadro 9 e na Figura 4 , as plantas que receberam as concentrações de 2000 e 4000 ppm, mostraram maior absorção de fósforo e aquelas que foram pulverizadas com a dose de 1000 ppm. de 2,4-D, mostraram uma menor absorção de fósforo.

Em relação a parte aérea , as plantas pulverizadas com 1000 ppm. de 2,4-D apresentaram uma maior atividade.

Considerando a planta inteira , as que receberam a concentração de 1000 ppm. de 2,4-D , quase não mostraram diferença na atividade , daquelas não tratadas . Quando foram pulverizadas com 2000 e 4000 ppm. de 2,4 - D mostraram uma atividade maior que as plantas que não receberam o herbicida.

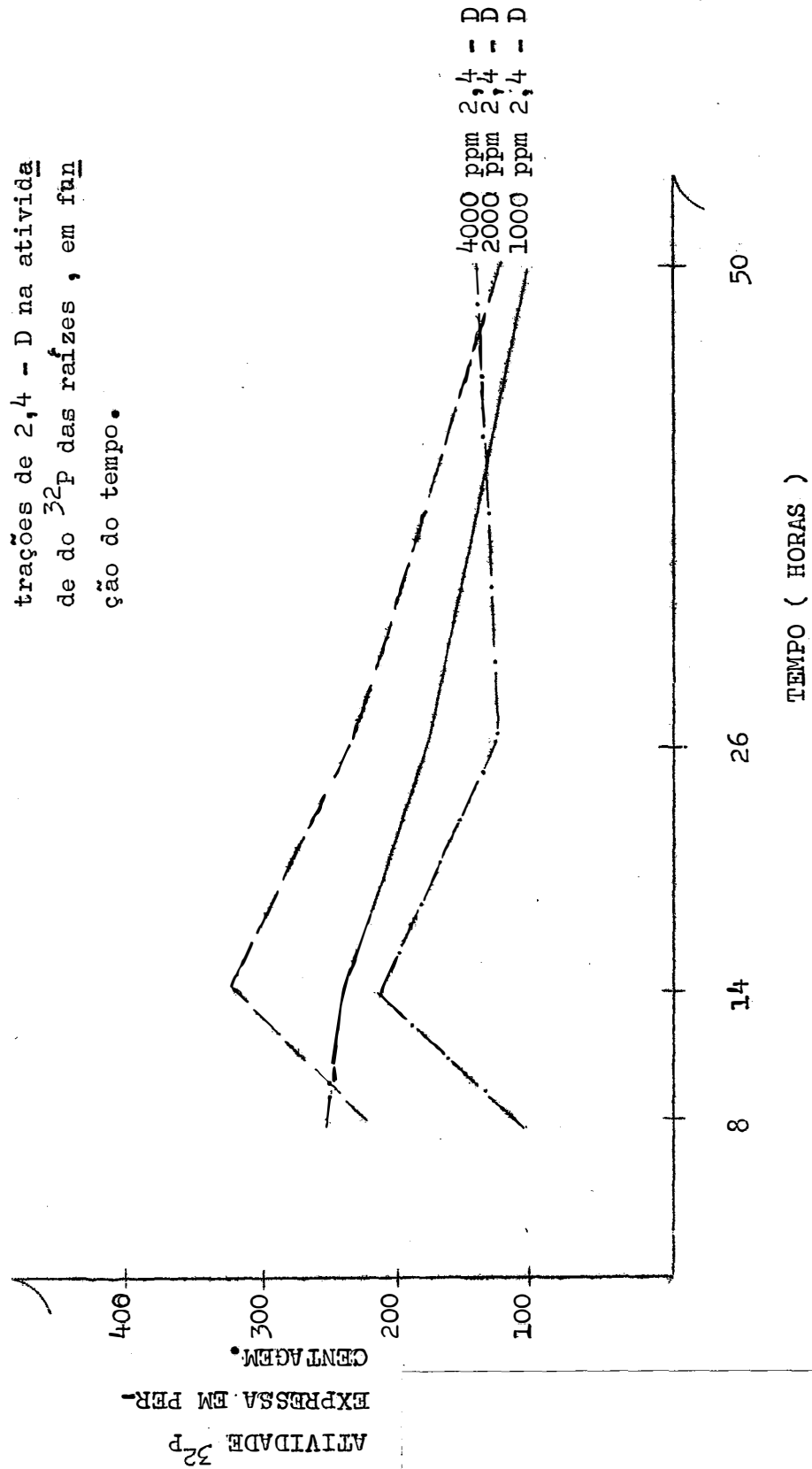
De maneira geral , verificou-se nas plantas que foram cortadas 50 horas após a aplicação das várias concentrações de 2,4- D , pequenas diferenças na absorção e distribuição do  $^{32}\text{P}$  em relação às plantas não tratadas.

Até aqui , apresentamos , em separado , os dados de cada ensaio. Agora nas Figuras 5 , 6 e 7 , colocamos em gráfico a atividade do  $^{32}\text{P}$  expressa em percentagem , em função do tempo de corte das plantas , para as diferentes concentrações de 2,4- D e para raízes , partes aéreas e plantas inteiras respectivamente.

Na Figura 5 pode-se verificar que a máxima atividade de  $^{32}\text{P}$  foi obtida às 14 horas após da pulverização das plantas, com as concentrações de 2000 e 4000 ppm. Com a concentração de 1000 ppm , observou-se uma maior absorção de  $^{32}\text{P}$  , 8 horas após a pulverização.

Com o decorrer do tempo , as plantas pulverizadas com as concentrações de 2000 e 1000 ppm. de 2,4-D , mostraram uma diminuição da estimulação inicial na absorção do fósforo . Em termos gerais, nas plantas analisadas 50 horas após a pulveri

FIGURA 5 -- Efeito de diferentes concentrações de 2,4 - D na atividade de do  $^{32}\text{P}$  das raízes , em função do tempo.



zação com 2,4-D , verificou-se que as atividades de  $^{32}\text{P}$  das raízes aproximou-se daquelas das plantas não pulverizadas. Houve maior absorção de fósforo com a concentração de 4000 ppm. de 2,4-D.

Em relação ao efeito do 2,4-D na distribuição do  $^{32}\text{P}$  ( Figura 6 ), é visível uma maior atividade das plantas analisadas 8 horas após a pulverização , para três concentrações utilizadas.

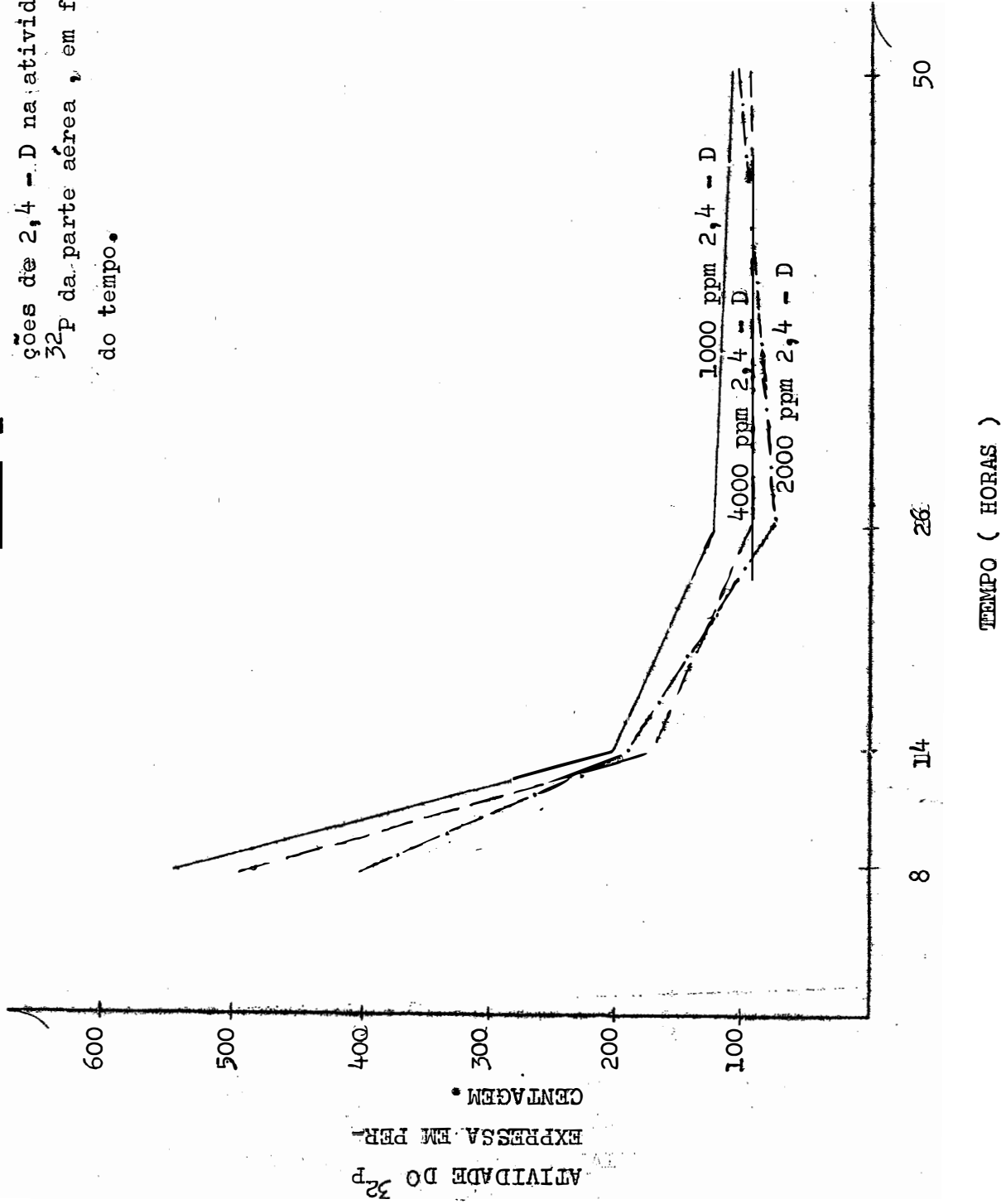
Com o passar do tempo observou-se ,que o estímulo inicial foi decrescendo , tal como aconteceu nas raízes.

As plantas que foram pulverizadas com as concentrações de 2000 e 4000 ppm. de 2,4-D , mostraram uma menor atividade na parte aérea que as não tratadas , quando analisadas 26 horas após a pulverização. Porém , a distribuição do fósforo foi quase igual quando as plantas foram analisadas 50 horas após a pulverização.

Ao considerar a planta inteira , a tendência observada foi a mesma que para raízes e partes aéreas. Nas primeiras 8 horas , verificou-se que a medida que diminuíram as concentrações de 2,4-D , aumentaram as atividades nas plantas tratadas.

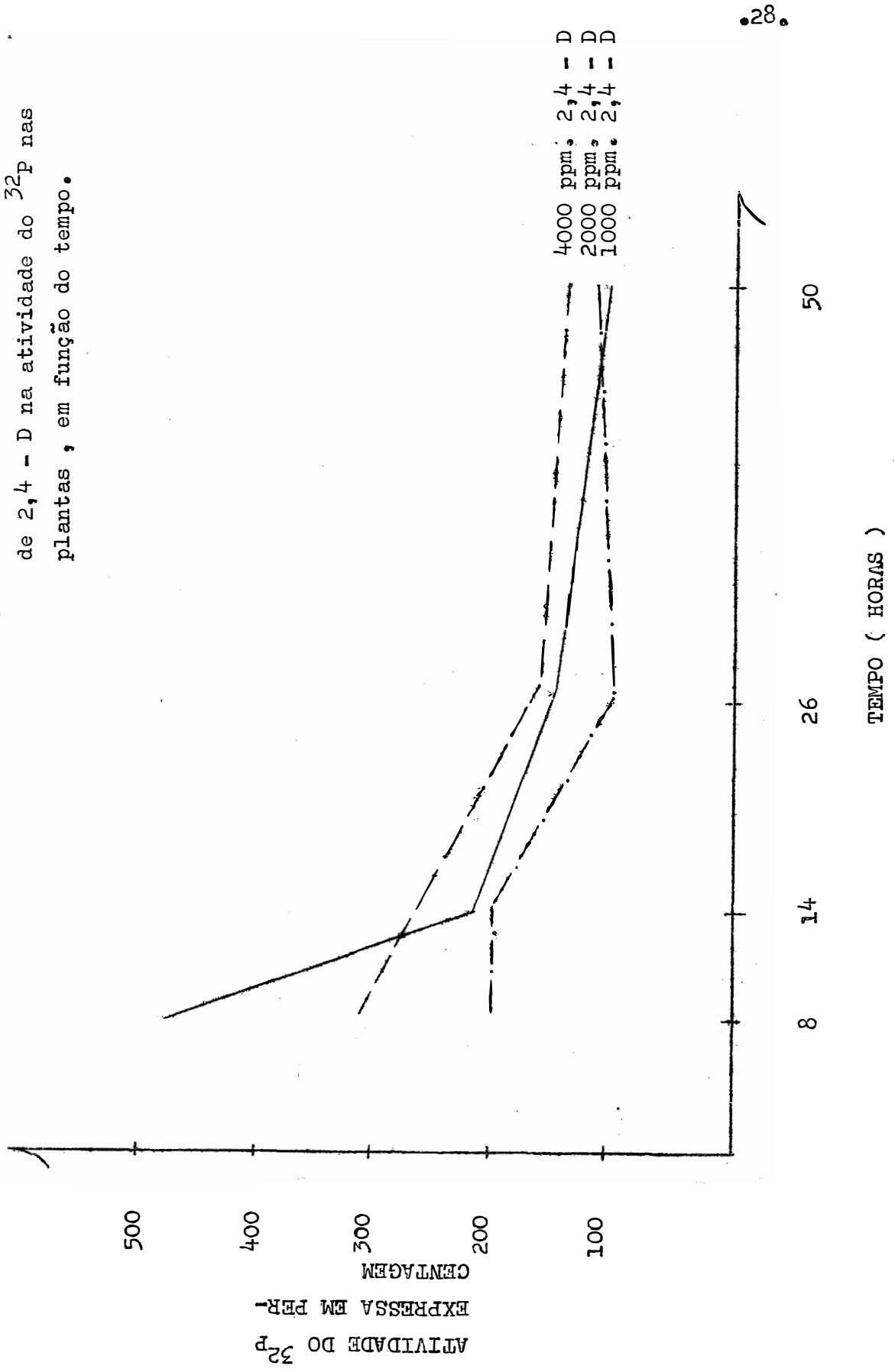
As concentrações de 1000 e 2000 ppm. de 2,4-D em função do tempo , produziram uma marcada diminuição na atividade do  $^{32}\text{P}$  , até quase igualar aquela das plantas não pulverizadas.

FIGURA 6 - Efeito de diferentes concentrações de 2,4 - D na atividade do  $^{32}\text{P}$  da parte aérea, em função do tempo.





**FIGURA 2** - Efeito de diferentes concentrações de 2,4 - D na atividade do  $^{32}\text{P}$  nas plantas, em função do tempo.



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 ABSORÇÃO DO FÓSFORO PELO TRIGO

Pelos dados apresentados nos Quadros 3, 5, 7 e 9 e ilustrados na Fig. 5, verificou-se que as três doses de 2,4-D usadas estimularam a absorção do fosfato em relação às plantas não tratadas.

As plantas que receberam 1000 ppm de 2,4-D, 8 horas após o tratamento, mostraram maior estímulo na absorção de fósforo ( $^{32}\text{P}$ ). Quando receberam 2000 e 4000 ppm, houve maior absorção às 14 horas após o tratamento.

Quatorze horas após a pulverização, com as três concentrações de 2,4-D utilizadas, observou-se um decréscimo do incremento da absorção do  $^{32}\text{P}$ , o qual foi influenciado pelas doses (Fig. 5), embora essa absorção fôsse sempre menor nas plantas não pulverizadas. Já às 50 horas após a pulverização, não se verificou uma diferença sensível, entre as plantas que receberam a dose de 1000 ppm. de 2,4-D e aquelas não pulverizadas.

A grande estimulação inicial, entre 8 e 14 horas, na absorção do fósforo ( $^{32}\text{P}$ ), provocada pelas diferentes concentrações de 2,4-D, pode correlacionar-se com a influência do 2,4-D no processo da fosforilação oxidativa. Foi comprovado que a pulverização deste regulador de crescimento, na concentração de  $5 \times 10^{-4}\text{M}$ , pode estimular o processo da fosforilação oxidativa de mitocôndrios isolados de soja (SWITZER, 1957). Mais tarde KEY, 1960, observou, ao microscópio eletrônico, um

aumento no crescimento dessas organelas devido ao efeito do 2,4-D. Isso levou a um incremento da atividade oxidativa e fosforilativa. Por outro lado, concentrações de  $5 \times 10^{-3}$  M inibem a ~~atividade~~ catalítica das enzimas respiratórias (FREED et al., 1961).

CHKANIKOV et al., 1970, constataram menor incorporação de  $^{32}\text{P}$  para a formação do ATP, após mergulhar segmentos etiolados de ervilhas (Pisum sativum, L.) e de algodão (Gossypium hirsutum, L.) em 2,4-D. O efeito foi evidente entre os 15 - 60 minutos depois da imersão dos segmentos na solução do herbicida com uma concentração de  $5 \times 10^{-3}$  M. Os autores indicaram que o 2,4-D desacoplou a fosforilação oxidativa de forma similar ao 2,4 dinitrofenol.

COOKE, 1957, pulverizou, com uma solução de 100ppm de 2,4-D e agente espalhante, plantas de feijoeiro cultivadas em vasos com solo, com a finalidade de estudar o seu efeito na absorção de  $^{42}\text{K}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{45}\text{Ca}$  e  $^{35}\text{S}$ . Este pesquisador observou que algumas horas após a aplicação do herbicida, a absorção foi grandemente estimulada. No caso do  $^{42}\text{K}$ , 8 horas após a pulverização, as folhas mostraram uma atividade 4 vezes maior em relação as plantas não tratadas. Após estimulação inicial, observou-se uma marcada diminuição da absorção do potássio. Porém, 24 horas após a pulverização, as folhas tratadas acusavam uma atividade menor do que nas plantas não pulverizadas. Os dados de COOKE são bem semelhantes aqueles obtidos no presente trabalho.

Concordando com COOKE, 1957, pode-se pensar que nas primeiras 8 e 14 horas após o tratamento com 2,4-D, pequenas quantidades do herbicida migraram-se das folhas para as raízes, estimulando assim, ao nível de mitocôndrios, a fosforilação oxidativa e por tanto aumentando a absorção metabólica ou ativa do fosfato ( $^{32}\text{P}$ ).

Os dados obtidos no presente trabalho parecem indicar que, com decorrer do tempo, quantidades crescentes do herbicida alcançariam as raízes, determinando assim um decréscimo do efeito estimulante, devido à ação de desacoplamento da cadeia respiratória provocado pelo 2,4-D, como já foi indicado por LOTLIKAR, 1960, citado por WORT, 1964a; WEDDING e BLACK, 1961 e 1962; BOTTRILL, 1965, citado por MORELAND, 1967; CHKANICOV, 1970.

Os dados apresentados no Quadro 9 e ilustrados na Fig. 5 indicaram que 50 horas após a pulverização com 2,4-D, as diferentes concentrações deste herbicida, não apresentaram efeito sensível na absorção.

Baseados nos trabalhos realizados por FANG E BUTTS, 1954b, podemos postular como possível explicação que o trigo foi capaz de metabolizar o 2,4-D a um produto inócuo, sem atividade como herbicida. Aliás CHKANICOV et al., 1965, citados por LOOS, 1969, observaram que cevada (Hordeum vulgare, L.) e outras espécies foram capazes de metabolizar o ácido 2,4-diclorofenoxiacético a 2,4-diclorofenol. Este último é um metabolito que não possui características de um herbicida. Ainda poder-se-ia pensar que 50 horas após a pulverização com a dose de 4000 ppm. de 2,4-D, pequenas quantidades do herbicida ficariam sem metabolizar, o que viria explicar, em parte, o novo incremento da absorção do fósforo (Quadro 9 e Fig. 5).

Recentes estudos sobre o metabolismo do 2,4-D indicam como um possível mecanismo de resistência das gramíneas a esse herbicida, a conversão do 2,4-D em produtos que não apresentam características de herbicida. HAGIN et al., 1971, observaram ao pulverizar com 2,4-D Bromus inermis, Leyss Phleum pratense, L e Dactylis glomerata, L, o desaparecimento deste herbicida e o aparecimento do ácido 3-(2,4-diclorofenoxiacético) propiônico,  $[3-(2,4-DP)]$ , o qual não pos-

sui características de herbicida.

## 5.2 DISTRIBUIÇÃO DO FÓSFORO NO TRIGO

Os resultados obtidos para a absorção e a distribuição do  $^{32}\text{P}$  apresentaram tendências semelhantes. Isso se compreende, uma vez que o teor de fósforo do caule e folhas é função da quantidade de fósforo absorvidos pelas raízes, sempre que o processo de distribuição seja normal. Dêsse modo, obteve-se incremento inicial da distribuição do fósforo, com tôdas as doses e logo diminuição até quase igualar-se com as plantas que não receberam aplicação do herbicida. Porém, 26 horas após a pulverização, verificou-se, em relação às plantas não tratadas, uma distribuição de fósforo de 9 e 30% menor, com as doses de 2 000 e 4 000ppm. de 2,4-D, respectivamente. (Quadro 7 e Figura 6). Isso pode ser atribuído ao efeito do 2,4-D sobre os estômatos. BRADBURY e ENNIS, 1952, LEONARD et al., 1966, SAKI, 1967, relataram que o 2,4-D produz um parcial fechamento estomático; por tanto, é de se esperar que a transpiração diminua (BROWN, 1946; FERRI e LEX, 1948; PLAYER, 1950; KASPERIK, 1955, citados por BRIAN, 1964). Se a transpiração diminui, o processo de distribuição de iônios sofrerá alterações.

MACIEJEWSKA e POTAPCZYK, 1955, indicam que o 2,4-D atua diretamente sobre as células estomáticas, as quais sofrem desidratação, perda da turgescência e conduzindo, portanto, ao fechamento dos estômatos.

Os resultados obtidos no presente trabalho concordaram com o trabalho, já mencionado, de WORT, 1964b, que relata um incremento da absorção de fósforo ( $^{32}\text{P}$ ) desde a solução nutritiva, e um incremento no seu transporte das raízes para a parte aérea.

## 6. CONCLUSÕES

- 1 - O 2,4 -D afeta a absorção do fósforo e a distribuição deste na planta.
- 2 - O efeito inicial do 2,4-D é estimulante , tanto na absorção e distribuição do fósforo. Com o decorrer do tempo , o efeito estimulante decresce.
- 3 - A magnitude deste efeito varia com a dose de 2,4- D empregada.

## 7. RESUMO

O objetivo d'este trabalho foi estudar o efeito de diferentes concentrações de 2,4 -D na absorção de fósforo -  $^{32}\text{P}$  pelo trigo ( Triticum aestivum , L ) no estado de 3 fôlhas e a sua distribuição na planta.

Foram realizados quatro ensaios em vaso , conduzidos em casa de vegetação , com quatro repetições. No primeiro ensaio as plantas foram cortadas 8 horas após a pulverização do herbicida . No segundo , terceiro e quarto ensaios , após 14, 26 e 50 horas respectivamente. Em cada um dos ensaios foram aplicados 4 doses de 2,4 -D: 0 , 1000 , 2000 e 4 000ppm e uma solução contendo  $^{32}\text{P}$ .

Os dados obtidos mostraram que:

- O 2,4 -D afetou a absorção do fósforo e a distribuição d'este na planta.
- A tendência , nos quatro ensaios, foi de que as doses utilizadas estimularam a absorção do fósforo pelo trigo , a qual foi decrescendo com o decorrer do tempo.
- A distribuição do fósforo foi , de modo geral , estimulada , decrescendo com o decorrer do tempo. No terceiro ensaio , quando as plantas foram pulverizadas com 2000 e 4 000ppm. de 2,4 -D, a distribuição foi prejudicada, sendo maior naquelas plantas não tratadas com o herbicida.

### 8. SUMMARY

The aim of this paper was to study the effect of different concentrations of 2,4-D on the phosphorus uptake by wheat plants ( Triticum aestivum , L ) at the 3 leaves stage and its distribution in the plants.

Four experiments were carried out in the greenhouse, with four replicates. In the first experiment the wheat plants were harvested 8 hours after spraying the herbicide. In the second , third and fourth experiments , after 14 , 26 and 50 hours respectively. In each experiment, four levels of 2,4-D , namely, 0 , 1000 , 2000 , and 4000 ppm. and a solution with <sup>32</sup>P were applied.

The data showed :

- The 2,4-D affected the phosphorus uptake and its distribution in the plant .
- The four experiments showed a tendency toward 2,4-D stimulation of phosphorus uptake in wheat , which decreased with the passage of time.
- The phosphorus translocation to the shoot was , in general , stimulated , but this decreased with time. In the third experiment when the plants were sprayed with 2000 and 4000 ppm. 2,4-D, the translocation was reduced with respect to the control plants.



9. BIBLIOGRAFIA CITADA

ANDREAE , A.W. 1963. Herbicides. In Metabolic inhibitors ( Ed. by R.H. Hoscher e J.H. Quastel ) Vol. II , pp. 243 - 261. Academic Press, New York , London.

AUDUS, L.J. 1963. Plant growth substances. London , Leonard Hill Book limited. Interscience publishers . Inc. New York. Second Editions. 553p.

AWERBUCH, T. e Y. AVNIMELECF 1970 Counting <sup>32</sup>P in plant tissues using the Cerenkov effect. Plant and Soil , 33, 260-264.

BASLER, E. e K. NAKAZAWA. 1961. Some effects of 2,4 - D on nucleic acids of cotton cotyledon tissue. Bot. Gaz., 122, 228 - 232.

BLACKMAN, G.E. 1956. Interrelationship between the up take of 2,4-D, growth on ion absorption. In The chemistry and mode of action of plant growth substances. ( Ed. by. Wain, R.L. and Wightman, F ) pp. 253 - 259 , Proceedings of a symposium held , at Wye , College University of London.

- BROADBURY, D. e B.W. ENNIS. 1952. Stomacal closure in kidney bean plant treated with ammonium 2,4- dichloro phenoxyacetic. Am. J. Bot. , 39 , 324 - 328.
- BRIAN, C.R. 1964. The effects of herbicides on biophysical processes in the plant. In The physiology and biochemistry of herbicides. ( Ed.by. J.L. Audus) pp.357 - 386. Academic Press , London , New York.
- CHKANIKOV, I.D ; O.D. MIKITYUK ; A.M. MAKEEV e YU.M. MIRENKOV. 1970. Additional data on disturbance of phosphorylative processes under the influence of 2,4-D. Soviet Plant Physiol., 17 , 633-639.
- COOKE, A.R. 1957. Influence of 2,4-D on the uptake of minerals from the soil. Weeds, 5, 25-28.
- ELLIS, K.M ; S.M. WAMPLER e R.H. YAGER. 1966. Liquid Scintillation method for determination of solvent extracted phosphorus - 32 in foods. Anl.chim.Acta., 34, 1969 - 1974.
- EPSTEIN, E. 1960. Spaces, barriers and ion carriers: Ion absorption by plants. Am. J. Bot., 47 , 393-399.
- ETTER, F.M. 1967. The uptake and distribution of <sup>32</sup>P by bean seedlings (Phaseolus vulgare ) growing at two

phosphate levels and some effect of 2,4-D. Cam. J. Bot., 45, 1011-1017.

FANG, S.C. e S.J. BUTTS. 1954<sup>a</sup>. Studies in plant metabolism . IV. Comparative effects of 2,4-D and other plant growth regulations on phosphorus metabolism in bean plant. Plant. Physiol., 29, 365 - 368.

FANG, C.S e J.S. BUTTS. 1954<sup>b</sup>. Studies in plant metabolism. III. Absorption, translocation and metabolism of radioactive 2,4-D in corn and wheat plants. Plant Physiol., 29, 56 - 60.

FERNANDEZ, A.O. 1963. Acción fisiológica del ácido 2,4 diclorofenoxyacético. Revist. de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires. Tomo XV, 11-20.

FITES, R.C. 1965. Alteration of the nucleic acid metabolism of soybean seedlings induced by 2,4- dichlorophenoxyacetic acid ( Doctoral Thesis, Univ. Illinois, Urbana, III , 122 pp., 1965 )

FREED, V.H, J.F. REITHEL e F.L. REMMERT. 1961. Some physical chemical aspects of synthetic auxins with respect to their mode of action. Plant Growth Regulation. Proc. 4th. Int. Conf., 289 - 303. Iowa State University Press , Iowa, U.S.A.

GAUCH, G.H. 1957. Mineral nutrition of plants. Ann. Rev. Plant. Physiol., 8, 31 - 64 .

GHINEA, L e C. CARAMETE. 1970. Influenta erbicidelor asupra metabolismului plantelor. Probleme Agricole , 11 , 42 - 49 .

HABERER, K.VON. 1966. Measurement of beta activities in aqueous samples utilizing Cerenkov radiation. Technical Bulletin Packard Instrument Company, Inc. No 16. 14pp.

HAGIN, D.R; D.L.LINSCOTT e J.E. DAWSON. 1970. 2,4-D metabolism en resistant grasses. J.Agr. Food Chem., 18 , 848 - 850.

HUMPHREYS, T.E. e M.W. DUGGER. 1957. The effect of 2,4 dichlorofenoxyacetic acid on the respiration of etiolated pea seedlings. Plant Physiol., 32 , 530-536.

HUMPHREYS, T.E e W.M. DUGGER J.R. 1957. The effect of 2,4 dichlorofenoxyacetic acid on pathways of glucose catabolism in higher plants. Plant Physiol., 32 , 136 - 140.

KEY, L.J ; J.B. HANSON e R.F. BILS. 1960. Effect of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid application on activity and composition of mitochondria soybeans. Plant Physiol., 35 , 177 - 183 .

- KEY, L.J e B.J. HANSON. 1961. Some effects of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid on soluble nucleotides and nucleic acid of soybean seedlings. *Plant Physiol.*, 36, 145-152.
- KEY, L.J. 1963. Studies on induced changes in ribonucleic acid metabolism in excised corn mesocotyl tissue. *Weeds*, 11, 177-180.
- KLINGMAN, G. 1963. *Weed control: as a science*. New York, London 421p.
- KOGAN, A.M ; T. MURAOKA ; V.F. NASCIMENTO FILHO e A.M.L. NEPTUNE. 1971. Influência do ácido 2,4- diclorofenoxyacético na absorção do fosfato por raízes destacadas de cevada ( Hordeum vulgare, L. ) usando <sup>32</sup>P como traçador. Resumo apresentado na XXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência ( SBPC ) Curitiba , Paraná.
- KOGAN, A.M. 1971. Efecto del herbicida 2,4 diclorofenoxyacético ( 2,4-D ) en los principales procesos metabólicos de las plantas. Boletim Didático 003 , Centro de Energia Nuclear na Agricultura , Escola Superior de Agricultura " Luiz de Queiroz " U.S.P. 40pp.
- LEONARD , O.A; E.D. BAYER e J.K.R. GLENN. 1966. Translocation of labelled assimilates in red maple and white ash. *Bot. Gaz.* 127, 193 - 201.

LOOS ,A.M. 1969. Phenoxyalkanoic acids. In Degradation of herbicides. ( Ed. by P.C. KEARNEY and D.D. KAUFMAN ) Marcel Dekker, Inc., New York.

LUNDEGÅRDH, H. 1966. Plant physiology. First Published in Great Britain , Oliver and Boyd , Edinburgh and London, 549 p.

MACIEJENSKA - POTAPCZYK,W. 1955. The action of 2,4-D on some of the enzymes of the stomatal cells. Acta. Soc. Bot. Pol., 24 , 639-645.

MASHTAKOV,M.S e V.P. DEENA. 1967. Change in oxidative phosphorylation in various varieties of cultivated plants under the influence of herbicides. Soviet Plant Physiol., 14 , 867 - 873.

MORELAND,D.E. 1967. Mechanism of action of herbicides. Ann. Rev. Plant Physiol., 18 , 365 - 386.

NORMAN,G.A ; C.E.MINARIK e R.L. WEINTRAUB. 1950. Herbicides. Ann.Rev. of Plant Physiol., 1 , 141 - 168.

PARMENTIER ,H.J e F.E.L. TENHAAF. 1969. Developments in liquid scintillation counting since 1963. The international Journ. of applied radiation and isotopes , 20 , 305 - 334.

REBSTOCK, T.L ; L.L. HAMMER e M.H.SHELL. 1954. The influence of 2,4-D on the phosphorus metabolism of cranberry bean plants ( Phaseolus vulgaris ) Plant Physiol., 29, 490 - 491 .

ROBERTSON, M.M e R.C. KIRDWOOD. 1970. The mode of action of foliage - applied translocated herbicides with particular reference to the phenoxy - acid compounds. II The mechanism and factors influencing translocation, metabolism and biochemical inhibition. Weed Res., 10 , 94 - 120.

ROBINSON , R.J. 1969. <sup>33</sup>P: a superior radiation for phosphorus? The international Journ. of Applied Radiation and Isotopes , 20 , 531 - 534 .

SASAKI, S. e T.T. KOZLOWSKI. 1967. Effects of herbicides on carbon dioxide uptake by pine seedlings. Can. J. Bot., 45 , 961 - 971 .

SHANNON, J.C ; B.J. HANSON e M.C. WILSON. 1964. Ribonuclease levels in the mesocotyl tissue of Zea mays as a function of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid application. Plant Physiol., 39 , 804 - 809.

SWITZER, C.M. 1957. Effect of herbicides and related chemicals on oxidation and phosphorylation by isolated soybeans mitochondria . Plant Physiol., 32 , 42-44.

- TURNER, C.J. s/data. Sample preparation for liquid cintillation techniques. The Radiochemical Centre Amersham, England , Review 6, 31 pag..
- VERDEJO, V.G. 1958. " El 2,4-D" ( El ácido 2,4- dicloro fenoxiacético ) Trabajos de la sección de química. Archivos del Instituto de aclimataçãõ, ( Almería, España), 7, 9-65.
- WEDDIPG, T.R e M.K. BLACK. 1962 Response of oxidation and coupled phosphorylation in plant mitochondriate 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. Plant Physiol ., 37, 364 - 370 .
- WEST, S.H ; J.B. HANSON e J.L. HEY . 1960. Effect of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid on the nucleic acid and protein content of seedling tissue.. Weeds, 8, 333-340.
- WHITE , P.R e G.B. ELLIS. 1968. Routine counting of <sup>32</sup>P in colored solutions from dry ashed plant samples utilizing Cerenkov radiation. Proc. Soil. Sci. Soc. Am, 32, 7 49-741.



WILDON, E.C ; C. HAMNER e S.T. BASS. 1957. The effect of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid on the accumulation of mineral elements in tobacco plants. Plant Physiol., 32 , 243 - 244.

WILLIAMS, G e S. DUNN. 1961. Effects of 2,4-D on chlorophyll and CO<sub>2</sub> exchange. Weeds, 9 , 243 - 250 .

WOLF, D.E ; G. VERMILLION ; A. WALLACE e H.G. AHLGREN. 1950. Effect of 2,4-D on carbohydrate and nutrient element content and on rapidity of kili soybean plants growing at different nitrogen levels. Bot. Gaz., 112, 188 - 197.

WORT, D.J. 1964a. Effects of herbicides on plant composition and metabolism. In The Physiology and Biochemistry of Herbicides. ( Ed by. L.J. Audus ), pp.291-334. Academic Press , London and New York.

WORT, J.D. 1964b. Responses of plants to sublethal concentrations of 2,4- D without and with added minerals. In The physiology and biochemistry of herbicides. (Ed. by J.L. Audus), pp. 335 - 342 - Academic Press-, London and New York.

YUFERA, P.E. 1958. Herbicidas y Fitorreguladores. Madrid, España , Ed. Aguilar.

ZIMMERMAN, P.W. e E.A. HITCHCOCK. 1942. Substituted phenoxy and benzoic acid growth substances and the relation of structure to physiological activity. Contr. Boyce Thompson Inst., 12, 321 - 343.