

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CONTROLE E HORMESIS DE GLYPHOSATE EM *Brachiaria*
*decumbens***

CAROLINA PUCCI DE MORAES

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU - SP

Julho - 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**CONTROLE E HORMESIS DE GLYPHOSATE EM *Brachiaria*
*decumbens***

CAROLINA PUCCI DE MORAES

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

BOTUCATU - SP

Julho - 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO- BOTUCATU (SP)

M828c Moraes, Carolina Pucci de, 1989-
Controle e hormesis de glyphosate em *Brachiaria
decumbens* / Carolina Pucci de Moraes. - Botucatu : [s.n.],
2016
v, 62 f.: ils. color., fots., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2016
Orientador: Edivaldo Domingues Velini
Inclui bibliografia

1. *Brachiaria decumbens*. 2. Hormese. 3. Herbicidas. I.
Velini, Edivaldo Domingues. II. Universidade Estadual Pau-
lista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Fa-
culdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "CONTROLE E HORMESIS DE GLYPHOSATE EM *Branchiaria decumbens*"

AUTORA: CAROLINA PUCCI DE MORAES

ORIENTADOR: EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP



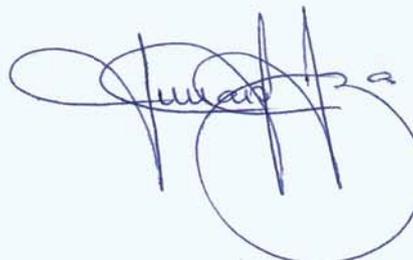
Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI

Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu



PROF. DR. LUCIANO SOARES DE SOUZA

Agronomia / FACULDADE DE TECNOLOGIA DE LINS



Botucatu, 08 de julho de 2016.

“ Se não podes entender, crê para que entendas.

A fé precede, o intelecto segue. ”

(Santo Agostinho)

À minha mãe Julieta, minha irmã Juliana e minha avó Heloisa,

por todo o apoio, dedicação e amor que nunca me faltaram.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção, sabedoria e presença durante essa caminhada.

À minha mãe Julieta Pucci, que nunca mediu esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos, sempre ao meu lado, sendo o meu apoio em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, pela confiança, acolhimento, amizade e pelos grandes ensinamentos que foram fundamentais para minha formação pessoal e profissional.

Ao meu namorado Lucas Silva Barros, por todo o amor, carinho, paciência e por não me deixar desanimar diante das dificuldades.

Às amigas Bruna Barboza Marchesi e Ivana Paula Ferraz Santos de Brito, irmãs que o mestrado me presenteou. O carinho e a amizade que levarei para o resto da minha vida. Elas que sempre me ajudaram e me proporcionaram momentos felizes durante os últimos anos.

Aos amigos Leandro Tropaldi e Ana Karollyna Alves de Matos por toda a ajuda durante os experimentos, pelos ensinamentos e principalmente pelos nossos momentos de descontração.

Ao Prof. Caio Antonio Carbonari pela atenção, disposição e contribuições durante o trabalho.

Aos técnicos do laboratório: José Roberto M. Silva, José Guilherme Cordeiro e Marcelo Siono, que sempre estiveram dispostos a ajudar. Obrigada pelas colaborações, amizade e paciência.

Aos colegas do Nupam, em especial Diego Belapart, Roque de Carvalho Dias e Tais Santo Dadazio pela amizade e por toda a ajuda durante a condução dos experimentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia: Proteção de Plantas e à Faculdade de Ciências Agrônomicas, pela oportunidade e formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma maneira.

SUMÁRIO

	Página
1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO	5
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
4.1 Capim-braquiária (<i>Brachiaria decumbens</i>)	7
4.2 Herbicida glyphosate	8
4.2.1 Modo de ação do glyphosate	10
4.2.1.1 Mecanismo de ação: rota do ácido chiquímico.....	12
4.3 Curva de dose-resposta	14
4.4 Efeito hormesis	15
5 MATERIAL E MÉTODOS	21
5.1 Estudo de dose-resposta de glyphosate em <i>Brachiaria decumbens</i>	23
5.2 Estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis em <i>Brachiaria decumbens</i>	24
5.3 Avaliações dos estudos	25
5.4 Análise dos dados	25
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6.1 Estudo de dose-resposta em <i>Brachiaria decumbens</i>	28
6.1.1 Experimento 1	28
6.1.2 Experimento 2	32
6.1.3 Experimento 3	37
6.2 Estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis em <i>Brachiaria decumbens</i>	42
7 CONCLUSÕES	51
8 REFERÊNCIAS	52

1 RESUMO

O efeito de estímulo de uma característica biológica por baixas doses de um composto considerado tóxico, mas que em altas doses tem efeito inibitório é denominado efeito hormesis. Estímulos de crescimento em plantas têm sido verificados após a aplicação de subdoses de alguns herbicidas, incluindo o glyphosate. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar as respostas de crescimento de plantas de *Brachiaria decumbens* submetidas a diferentes doses de glyphosate. Foram realizados dois estudos em casa de vegetação, ambos em delineamento inteiramente casualizado (DIC). No primeiro estudo foram realizados três experimentos com seis repetições, sendo no experimento 1 testada uma curva de dose-resposta com nove doses do herbicida glyphosate (0; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 e 2880 g e.a. ha⁻¹). Nos experimentos dois e três foram aplicadas onze doses do herbicida glyphosate (0; 2,8125; 5,625; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720 e 1440 g e.a. ha⁻¹). No estudo 2 para a avaliação de subdoses com efeito hormesis realizou-se quatro experimentos, em DIC com oito repetições e dois tratamentos (testemunha e dose de 11,25 g e.a. ha⁻¹). Para ambos os estudos foram coletadas oito plantas de vasos sem aplicação para a determinação da biomassa inicial dos experimentos. Nos experimentos do estudo 1 foram realizadas avaliações de fitointoxicação aos 0, 7, 14 e 21 dias após a aplicação (DAA), além da coleta de oito plantas por vaso de cada tratamento para determinação de massa fresca e massa seca. Além disso, realizou-se a quantificação de massa fresca e seca total dos vasos aos 21 DAA, sendo essa metodologia também adotada para os experimentos do estudo 2. Os resultados do estudo 1 indicaram que: em doses acima de 45 g e.a. ha⁻¹ foi possível obter 80% de controle das plantas de *B. decumbens*; a aplicação de baixas doses de glyphosate estimulou o aumento da biomassa das plantas de *B. decumbens*, com valores

máximos alcançados na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. O segundo estudo indicou que a aplicação de subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate promoveu tanto estímulo quanto inibição de crescimento, demonstrando haver variabilidade de resposta das plantas à essa subdose.

Palavras-chave: Curva dose-resposta, efeito hormesis, EPSPs, herbicida, subdoses.

2 SUMMARY

CONTROL AND HORMESIS OF GLYPHOSATE IN *Brachiaria decumbens*

Botucatu, 2016, 62 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: CAROLINA PUCCI DE MORAES

Adviser: Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

The stimulus effect on a biological characteristic by low doses of toxic compound, but at high doses has the inhibitory effect is called hormesis effect. It has been verified growth stimuli in plants after the application of low doses of some herbicides, including glyphosate. In this context, the current study aimed at evaluating the growth responses of *Brachiaria decumbens* plants under different doses of glyphosate. Two studies were conducted in greenhouse, both in a completely randomized design (CRD). In the first the study were conducted three experiments with six replications, in the experiment 1 was tested a dose-response curve with nine doses of glyphosate (0; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 and 2880 g a.e. ha⁻¹). In the experiments 2 and 3 were applied eleven doses of glyphosate (0; 2,8125; 5,625; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720 and 1440 g a.e. ha⁻¹). In the second study to evaluate hormesis effect by low doses of glyphosate, were conducted four experiments, in CRD with eight replications and two treatments (control and dose 11,25 g a.e. ha⁻¹ of glyphosate). For both studies, were collected eight plants from pots without application to quantifying of initial biomass of experiments. In the experiments of study 1 were conducted evaluations of injury at 0, 7, 14 and 21 days after application (DAA), in addition to collect eight plants per

pot from each treatment to quantify fresh and dry weight. Besides the collect, was conducted the quantification of total fresh and dry weight of pots at 21 DAA, and this methodology also adopted for the experiments of study 2. In the study 1 the results indicated that: doses above 45 g a.e. ha⁻¹ it was possible to achieve 80% control of *B. decumbens* plants; the application of low doses of glyphosate stimulated the increase in biomass of *B. decumbens* plants, with maximum values achieved in the dose of 11,25 g a.e. ha⁻¹ of glyphosate. The second study indicated that the application of dose 11,25 g a.e. ha⁻¹ of glyphosate promoted growth stimulus but also inhibition, showing there may have variability in the response of plants to this dose.

Keywords: dose-response curve, hormesis effect, EPSPs, herbicide, low doses.

3 INTRODUÇÃO

O glyphosate tem sido uma das moléculas herbicidas mais estudadas mundialmente em termos de segurança ambiental e saúde humana, além de possuir uma das maiores bases de dados dentre todos os pesticidas (GIESY et al., 2000; WILLIAMS et al., 2000). Porém a sua capacidade de estimular o crescimento em plantas quando aplicado em baixas doses ainda é pouco estudada.

Para o correto entendimento do comportamento dos herbicidas, faz-se necessária a realização de bioensaios, como a curva de dose-resposta, a qual permite estimar o potencial do herbicida após sua aplicação sobre um organismo vivo. Vários herbicidas podem ter outros usos que não apenas o controle de plantas daninhas. Os efeitos secundários dos herbicidas podem ocorrer em doses normais ou em doses muito inferiores às recomendadas.

Plantas tratadas com baixas doses de herbicidas podem apresentar crescimento superior daquelas que não receberam aplicação e esse comportamento é conhecido como efeito hormesis. Teoricamente, o efeito estimulatório pode aparecer involuntariamente, causado por deriva, erros durante a aplicação, absorção de baixas doses pelo solo, principalmente após os processos de degradação ou imobilização do herbicida, contato foliar entre plantas tratadas e não tratadas e proteção através de plantas mais altas, reduzindo o número de gotas que atingem o alvo (VELINI et al., 2010).

Tanto no setor de produção agrícola como na medicina, o efeito estimulatório vem sendo amplamente discutido e pesquisado, com a finalidade de

compreender o mecanismo de ação estimulante e benéfico de substâncias inicialmente consideradas tóxicas. Baixas doses de um herbicida podem modificar o crescimento, o desenvolvimento ou a composição das plantas.

A resposta estimulatória de um composto herbicida parece estar ligada a fatores capazes de afetar o crescimento geral das plantas, como: espécie, biótipo ou cultivar, a fase de crescimento da planta, estado fisiológico, densidade de plantas ou condições ambientais, além do tipo de composto e o tempo de exposição (CARVALHO et al., 2013). Diversos estudos têm demonstrado que o aumento da biomassa da parte aérea não é apenas uma consequência da alocação de reservas nessa região, mas que ela ocorre em toda a planta (CARVALHO et al., 2013).

A análise de crescimento consiste na avaliação sequencial do acúmulo de matéria orgânica da planta, considerando a produção de massa seca, além da descrição das condições morfológicas em diferentes períodos. Assim, é possível avaliar o crescimento final como um todo, e a contribuição dos órgãos da planta no crescimento total, levando-se em consideração também a produção líquida resultante do processo fotossintético, que decorre do desempenho do sistema assimilatório durante certo tempo (BENINCASA, 2003; MARAFON, 2012).

Os locais em que o estímulo ocorre e como isso acontece, são diversos, e os parâmetros para analisá-lo não seguem um padrão definido, portanto, a análise de crescimento torna-se uma ferramenta fundamental quando se deseja verificar o verdadeiro crescimento de uma planta.

A *Brachiaria decumbens* é uma planta daninha e também uma importante cultura forrageira, a qual pode receber doses subletais de herbicidas por deriva de áreas vizinhas ou por erros durante a aplicação. Assim, diante do exposto, objetivou-se avaliar a resposta de plantas de *B. decumbens* submetidas a diferentes doses de glyphosate.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*)

A *Brachiaria decumbens*, de nome popular capim-braquiária, é uma gramínea forrageira, originária da África do Sul, mas ocorrendo também na África Oriental, pertencente à família Poaceae, a qual abrange em torno de 100 espécies (KISSMANN, 1997). Diversos cultivares foram introduzidos no Brasil, como o cultivar IPEAN (Instituto de Pesquisa Agropecuária do Norte - atual EMBRAPA), que ocupa áreas do estado do Mato Grosso, e o cultivar Basilisk, muito comum nos Cerrados.

Dentre as forrageiras cultivadas, é estimado que 85% das áreas destinadas às pastagens em regiões tropicais do país sejam constituídas pelos capins do gênero *Brachiaria*, se destacando *B. decumbens* cv. Basilisk, *B. brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* (MONTEIRO et al., 2016).

A espécie *B. decumbens* tem se tornado ao longo dos anos uma planta invasora merecedora de grande atenção. Em áreas onde foi introduzida como forrageira, mas com posterior transformação dessas terras em lavouras, a planta passa a se constituir como uma importante infestante, muito agressiva e de difícil controle (QUEIROZ et al., 2014).

Segundo Bianco et al. (2005), a invasão de capim-braquiária em áreas de produção ocasiona graves problemas quando compete pelos recursos do ambiente, tais como água, luz e nutrientes, atuando como hospedeiras de pragas e doenças comuns à

cultura e interferindo nas práticas de colheita. No estado de São Paulo, a sua presença nos canaviais infestados consegue reduzir a vida útil para um máximo de 2 ou 3 cortes (LORENZI, 2000). Além dos problemas de competição com outras culturas, essa espécie também pode apresentar efeito alelopático, como observado em culturas de eucalipto, algodão, milho, arroz, soja e trigo (SOUZA et al., 2003; SOUZA et al., 2006; TIMOSSI et al., 2006).

Como cultura, é considerada uma excelente forrageira, com grande produção de massa foliar de boa qualidade, com resistência ao pastejo intensivo e ao pisoteio. É uma espécie utilizada para a proteção do solo contra erosão (KISSMAN, 1997). A produtividade das gramíneas forrageiras decorre da contínua emissão de folhas e perfilhos, importante para a restauração da área foliar após o corte ou pastejo, o que garante a perenidade dessas plantas (FAGUNDES et al., 2006). Essa espécie apresenta metabolismo do tipo C4, e exibe alterações em suas características morfológicas e químicas, associadas ao desenvolvimento, à maturidade fisiológica e senescência natural da planta forrageira (SANTOS et al., 2004).

O capim-braquiária é uma planta perene, ereta ou decumbente, com folhas densamente pilosas em ambas as faces. Se reproduz por meio de sementes, e vegetativamente, através de rizomas e estolões (MARQUES, 2009). A maioria das espécies do gênero *Brachiaria*, incluindo a *B. decumbens*, reproduzem-se por apomixia, indicando que o embrião se desenvolve a partir de divisões mitóticas de uma célula somática, originando sementes férteis sem haver a união do núcleo reprodutivo do grão de pólen com a oosfera, resultando em uma progênie constituída de indivíduos que são clones da planta-mãe (VALLE; SAVIDAN, 1996), dificultando, assim, o aumento da variabilidade genética desse gênero (GOULART et al., 2007).

4.2 Herbicida glyphosate

O glyphosate, introduzido no mercado em 1974 na forma de sal de isopropilamina, com amplo espectro de controle, não seletivo e recomendado para aplicação em pós emergência, é atualmente o herbicida mais utilizado no mundo (DUKE; POWLES, 2008). Desde então, sua popularidade e seu uso vêm crescendo por aspectos relacionados à segurança toxicológica e ambiental, facilidade de manuseio, modo de ação, redução de

custos, eficácia e capacidade de translocação em plantas, tornando-se a principal opção para o controle de plantas daninhas, nos diferentes sistemas de produção agrícola (HALTER, 2009).

O glyphosate (N-phosphonomethylglycine) é amplamente utilizado para o controle de plantas daninhas em culturas anuais e perenes, possuindo a capacidade de se ligar rapidamente às partículas do solo e biodegradação, assim como baixa toxicidade a mamíferos, aves e peixes (KRUSE; TREZZI, 2000; NEUMANN et al., 2006; AHSAN et al., 2008; PRESTON; WAKELIN, 2008). É aplicado em pós emergência das plantas e absorvido principalmente pelas folhas, classificado como não seletivo (exceto para as culturas geneticamente modificadas) e possui ação sistêmica, sendo translocado principalmente via floema (GALLI, 2009).

A síntese do glyphosate ocorre a partir de um hidrogênio amínico do aminoácido glicina, por um radical éster fosfônico, o N- (fosfometil) glicina. É pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas (LUCHINI, 2009), sendo considerado um ácido fraco.

Atua através da inibição enzimática da rota do ácido chiquímico, bloqueando a atividade da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) (KIRKWOOD; MCKAY, 1994), resultando na inibição da biossíntese e redução da disponibilidade dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais para o crescimento e sobrevivência das plantas (LUCHINI, 2009), sendo o único herbicida comercial que bloqueia essa enzima. Pode ser fabricado em diferentes formulações, como sal isopropilamina, dimetilamina, amônio e potássico.

Além de reduzir a síntese de proteínas, esse herbicida diminui a atividade da enzima ribulose-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) e do ácido 3-fosfoglicérico, reduzindo a síntese de clorofila e interferindo na organização do aparelho fotossintético, aumenta a peroxidação de lipídeos (MARÍA et al., 2005; AHSAN et al., 2008) e estimula a produção de etileno, além de elevar a concentração do ácido indolacético (AIA) (KAPPES et al., 2012).

As propriedades físico-químicas conferem a esse herbicida comportamento distinto pelos seus atributos aparentemente antagônicos: alta solubilidade em água ($S_w = 11,6 \text{ g L}^{-1}$) e elevado potencial de sorção nos solos ($K_{oc} = 300 \text{ a } 20.100 \text{ L kg}^{-1}$). Devido à forte sorção aos colóides do solo, o glyphosate possui elevada taxa de

dissipação, ou seja, baixa persistência, sendo pouco provável a contaminação de águas subterrâneas (REGITANO, 2009).

Esse comportamento diferenciado se deve, principalmente, aos três grupos funcionais ionizáveis existentes, sendo dois de caráter ácido, como o fosfônico ($\text{-H}_2\text{PO}_3$) e carboxílico (-COOH), e um de caráter básico, a amina (-NH). Todos juntos em uma molécula considerada pequena (fórmula molecular = $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$ e peso molecular = $169,1 \text{ g mol}^{-1}$) (REGITANO, 2009). A molécula herbicida pode apresentar diversos mecanismos de ligação nos solos, podendo ligar-se covalentemente (por trocas de ligantes) ou por meio de forças eletrostáticas à fração oxídica, principalmente aos óxidos de ferro e alumínio, ou ainda, ser sorvida eletrostaticamente aos minerais de argila e matéria orgânica (PRATA; LAVORENTI, 2002).

Em plantas, é metabolizado apenas em pequenas extensões a ácido aminometilfosfônico (AMPA) (REGITANO, 2009). No ambiente, a principal rota de decomposição do glyphosate é a degradação no solo (FRANZ et al., 1997), por meio de uma grande variedade de microrganismos que utilizam o produto como fonte de energia e fósforo (por processos aeróbicos e anaeróbicos), que o decompõem através de duas rotas catabólicas, produzindo AMPA e sarcosina (DICK; QUINN, 1995). O AMPA é mais persistente no solo do que a molécula de glyphosate, portanto, sua degradação geralmente é mais lenta, possivelmente porque o AMPA pode adsorver mais facilmente às partículas do solo (COX, 1998).

A molécula do glyphosate tem meia vida média de 32 dias (GIESY et al., 2000), no entanto o tempo para dissipação varia com o tipo de solo e depende, principalmente, da taxa de formação de resíduos ligados e de biodegradação, como também do histórico de aplicação do produto.

4.2.1 Modo de ação do glyphosate

As etapas fundamentais que devem ocorrer para que o herbicida exerça eficiente controle das plantas daninhas são: contato com a planta; penetração (via apoplasto, reversível e sem gasto energético); absorção (via simplasto, irreversível e com gasto energético); translocação (entre órgãos, tecidos, células e organelas); metabolismo e outras formas de ativação ou inativação; e interação com o sítio de ação até o

desencadeamento de eventos que efetivamente levem as plantas à paralisação do seu crescimento ou à morte (VELINI et al., 2009).

O glyphosate penetra na planta preferencialmente pelas folhas, sendo translocado principalmente pelo floema, em um processo bifásico, com rápida penetração inicial, por meio de poros aquosos presentes na cutícula (WANG; LIU, 2007), seguida por absorção simplástica lenta. Esse movimento é influenciado pelas características da planta, condições ambientais, concentração do herbicida, surfactante utilizado e método de aplicação (DENIS; DELROT, 1993; MONQUERO et al., 2004).

Uma vez que o herbicida entra na planta através da cutícula e membrana plasmática dos tecidos fotossintetizantes, é necessário que ocorra a translocação, através de tecidos vasculares, para os sítios-alvo do herbicida (SATICHIVI et al., 2000).

Por ser móvel no floema, o glyphosate é rapidamente translocado para todas as partes da planta, ocorrendo das folhas fotossinteticamente ativas em direção às partes das plantas que utilizam os açúcares para crescimento, manutenção, metabolismo ou armazenamento, como raízes, tubérculos, rizomas e folhas jovens, mas tende a acumular-se nas regiões meristemáticas (MONQUERO et al., 2004; YAMADA; CASTRO, 2007).

Como o glyphosate se movimenta através do simplasto, aplicações do produto em regiões de fonte (folhas maduras) possibilitam a translocação do herbicida para as regiões de dreno (de crescimento) no restante da planta, juntamente com os fotoassimilados (PETERSON et al., 1978).

A quantidade de fotoassimilados translocados sofre alterações durante o ciclo de vida da planta. Assim, sua translocação será facilitada por condições que favoreçam a fotossíntese (DELLACIOPPA et al., 1986). O herbicida pode também penetrar na planta por meio de outras rotas. Estudos demonstraram que formulações solúveis em óleo permitiram que o glyphosate penetrasse pela casca de espécies arbóreas (YAMADA; CASTRO, 2007).

Portanto a absorção do glyphosate deve ocorrer em cada célula que possui a enzima alvo (MORIN et al., 1997), ocorrendo por absorção passiva não facilitada ou por proteínas transportadoras de fosfato, denominadas PHT (phosphate transporter), presentes na membrana plasmática (MERVOSH; BALKE, 1991; DENIS; DELROT, 1993).

O glyphosate é o único composto capaz de inibir a atividade da enzima EPSPs (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase) (SPURRIER, 1973; GROSSBARD; ATKINSON, 1985; FRANZ et al., 1997), afetando a rota do ácido

chiquímico, responsável pela síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina, os quais são precursores de outros compostos, como lignina, alcaloides, flavonoides e ácidos benzoicos (TAN et al., 2006; REDDY et al., 2008), fundamentais para o desenvolvimento das plantas.

A inibição da EPSPs além de interromper a produção de aminoácidos aromáticos e seus precursores, interfere na entrada de carbono na rota (JENSEN, 1986), pelo aumento da atividade da enzima DAHPS, que catalisa a condensação de eritrose-4-fosfato com fosfoenolpiruvato (PEP), considerada a enzima reguladora da rota do ácido chiquímico (DEVINE et al., 1993).

O efeito mais rápido e drástico da aplicação, ou pela deriva de glyphosate em plantas sensíveis, é o acúmulo de ácido chiquímico (AMRHEIN et al., 1980; DUKE et al., 2003; MARÍA et al., 2006; MATALLO et al., 2009; REDDY et al., 2010), porém pode ocorrer o acúmulo de ácido quínico (ORCARAY et al., 2010; GOMES, 2011), ácido desidrochiquímico (GOMES, 2011) e alguns ácidos hidroxibenzóicos em folhas e outros órgãos, como ácidos protocatecuico e gálico (LYDON; DUKE, 1988; BECERRIL et al., 1989; HERNANDEZ et al., 1999).

Entretanto, alterações na atividade da enzima EPSPs podem alterar, de modo significativo, as concentrações do ácido indolacético (AIA), um importante regulador vegetal. A interferência do glyphosate na síntese do AIA pode ocorrer da aplicação do herbicida como maturador em cana-de-açúcar, exercendo um efeito secundário, com quebra da dominância apical e brotação de gemas laterais (VELINI et al., 2012).

4.2.1.1 Mecanismo de ação: rota do ácido chiquímico

A rota do ácido chiquímico faz parte do metabolismo apenas de plantas e microrganismos e é ausente em mamíferos. Essa rota tem como produtos principais os compostos fenólicos, que chegam a representar até 35% da biomassa vegetal (BOUDET et al., 1985).

Estima-se que cerca de 20% de todo o fluxo de carbono fixado pelas plantas pode ser direcionado para a rota do ácido chiquímico, sob condições normais de desenvolvimento (HASLAM, 1993). Em plantas, acredita-se que essa rota está confinada nos plastídeos (HERRMANN, 1995; WEBER et al., 2005). Ela é a principal via metabólica

comum na produção dos aminoácidos aromáticos. Esses aminoácidos não são somente utilizados para síntese proteica e enzimática, mas funcionam como precursores de um grande número de metabólitos secundários (HERRMANN, 1995).

A rota do ácido chiquímico consiste em sete passos metabólicos, começando com a condensação de dois intermediários do metabolismo de carboidratos: o fosfoenolpiruvato (PEP), da glicólise, e eritrose 4-fosfato, da via pentose-fosfato, formando o 3-deoxi-d-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP), reação catalisada pela enzima homodimérica 3-deoxi-d-arabino-heptulose-7-fosfato sintase (DAHPS), que é ativada pelo triptofano e Mn^{2+} (BUCHANAN et al., 2000).

A segunda reação da rota é a eliminação do fosfato pela DAHP gerando o 3-desidroquinato (DHQ), que é catalisada pela DHQ sintase (DHQS). O próximo passo é a desidratação do DHQ a 3-desidrochiquimato (DHS) catalisada pela DHQ desidratase. Na sequência, ocorre a redução da DHS a chiquimato, catalisada pela chiquimato-desidrogenase (ou chiquimato $NADP^+$ oxidoreductase) (HERRMANN; WEAVER, 1999).

O quinto passo da rota consiste na fosforilação de chiquimato a chiquimato-3-fosfato (S3P), catalisada pela enzima chiquimato quinase. Em seguida ocorre a entrada do segundo PEP, que é condensado com o S3P para formar o 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato (EPSP) e fosfato inorgânico. Essa reação reversível é catalisada pela EPSP sintase (HERRMANN; WEAVER, 1999), a qual constitui o único alvo molecular do herbicida glyphosate (STEINRUCKEN; AMRHEIN, 1980). O sétimo e último passo da rota é a eliminação do fosfato pela EPSP para formar o corismato, catalisada pela corismato sintase (BALASUBRAMANIAN et al., 1990; HAWKES et al., 1990).

Cada um dos aminoácidos aromáticos dá origem a diversas famílias de compostos envolvidos na regulação do crescimento ou na defesa das plantas, como os taninos condensados, antocianinas, vitamina E, ácido indolacético (AIA), ácido salicílico, lignina, flavonas, isoflavonas, fenilpropanoides e cumarinas, fundamentais para o crescimento e desenvolvimento vegetal (VELINI et al., 2009).

O sítio de ação do glyphosate é a enzima EPSPs (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase), que catalisa a ligação dos compostos chiquimato-3-fosfato (S3P) com fosfoenolpiruvato (PEP), formando 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSP) e fósforo inorgânico (Pi) (PETERSON et al., 1996; KOGER et al., 2005; MARÍA et al., 2005; REDDY et al., 2008).

Alguns autores consideram que existe uma estreita sobreposição dos sítios de ligação do PEP e do glyphosate na enzima EPSPs, uma vez que o glyphosate é um inibidor não competitivo com o S3P e competitivo com o PEP, indicando que o mesmo se liga ao complexo EPSPs-S3P (MOUSDALE; COGGINS, 1991; VAUGHN; DUKE, 1991; DILL, 2005). Inicialmente ocorre a ligação da enzima EPSPs ao S3P, com posterior ligação do PEP nesse complexo (HESS, 1993).

A sequência de etapas ocorre principalmente pela afinidade do glyphosate com o complexo EPSPs-S3P que é 75 vezes maior do que a do PEP, enquanto que a velocidade de dissociação do glyphosate do sítio de ação é 2000 vezes menor do que a do PEP (REAM et al., 1992).

A inibição da enzima EPSPs leva ao acúmulo de altos níveis de chiquimato nos vacúolos, o que é intensificado pela perda de controle do fluxo de carbono na rota (SINGH; SHANER, 1998; ALVEZ, 2000; BRESNAHAN et al., 2003).

Os eventos pós-inibição da EPSPs pelo glyphosate, que levam as plantas à morte, não estão claramente estabelecidos. A morte das plantas deve ser associada a três efeitos: a) falha na produção de um extenso conjunto de compostos derivados da rota; b) desregulação do fluxo de carbono (ou a interferência na alocação do carbono) e c) redução da síntese proteica em função da redução das concentrações de aminoácidos aromáticos (VELINI et al., 2009).

Os sintomas se desenvolvem lentamente, em alguns dias ou até semanas. As folhas tornam-se amareladas, cloróticas e depois amarronzadas, seguido de necrose e morte das plantas. Ocorre também enrugamento ou malformações (especialmente em áreas de rebrota), necrose de meristema, rizomas e estolões (BAYLIS, 2000).

4.3 Curva de dose-resposta

Uma das técnicas mais comuns para a avaliação de eficácia de um herbicida é por meio da utilização de bioensaios, como o experimento de curva de dose-resposta. Geralmente, esse tipo de experimento é conduzido para estimar o potencial de um herbicida após sua aplicação sobre um organismo vivo.

A relação existente entre a dose do herbicida e a resposta da planta é de fundamental importância no entendimento de sua eficácia juntamente com o seu

mecanismo de ação. Compreender essa relação é essencial para o planejamento e interpretação dos trabalhos em campo, casa de vegetação ou em laboratório (SOUZA et al., 2000).

Em plantas, são diversas as respostas das variáveis avaliadas pela curva de dose-resposta, sejam elas morfológicas ou fisiológicas. Cada uma dessas repostas pode ser utilizada para estimar o nível de resistência de uma planta ou a quantidade de herbicida que cause certo nível de redução no crescimento ou controle (LACERDA; VITORIA FILHO, 2004; BURGOS et al., 2013). Porém o maior problema na avaliação desse tipo de experimento é a obtenção de modelos que melhor o representem, sendo a maior parte das curvas de dose-resposta não-lineares.

Quando a massa seca da planta é graficamente plotada contra as doses do herbicida, apresenta normalmente conformação sigmoide simétrica, tendo como limite superior da curva representado pela resposta da testemunha e o limite inferior pela resposta da planta às altas doses do herbicida, podendo essa ser zero. Ocasionalmente, plantas tratadas com doses muito baixas apresentam crescimento que excede à testemunha, fenômeno conhecido como hormesis (LACERDA; VITORIA FILHO, 2004).

Quando aplicado em baixa doses, o glyphosate pode favorecer a ocorrência do chamado efeito hormesis, podendo estimular o crescimento de plantas (SCHANBENBERGER et al., 1999; WAGNER et al., 2003; CEDERGREEN et al., 2007; GODOY, 2007; CARBONARI et al., 2007a; CARBONARI et al., 2007b).

4.4 Efeito hormesis

O efeito estimulatório de baixas doses de uma substância considerada tóxica sobre uma característica biológica, porém com inibição em altas doses é conhecido como hormesis. Do grego “hormo” significa “excitar” e foi originalmente definido por demonstrar o comportamento bifásico, no qual uma característica biológica é estimulada por subdoses ou baixas doses de um composto, porém inibida por altas doses do mesmo (CALABRESE; BALDWIN, 2000; CALABRESE; BALDWIN, 2001). Do ponto de vista biológico, pode ser definido como uma estratégia do organismo para a destinação ótima de seus recursos para garantir a manutenção da homeostase (CALABRESE; BALDWIN, 2002a).

O termo hormesis foi usado pela primeira vez por Southam e Erlich (1943) para descrever o efeito de um composto na casca de carvalho, o qual promoveu o crescimento de fungos em baixas doses, mas inibido fortemente em altas doses (DUKE et al., 2006). É o caso de medicamentos utilizados por seus efeitos benéficos, assim como os defensivos agrícolas, normalmente usados como substâncias tóxicas no combate à pragas e doenças.

Hormesis tem sido encontrado em todos os grupos de organismos, desde bactérias e fungos a plantas superiores e animais (CALABRESE, 2005). No entanto, não existem muitos estudos sobre seu efeito em plantas, assim como não existem informações claras quanto aos mecanismos de ação estimulante e benéfica de substâncias inicialmente consideradas tóxicas, implícitos nesse processo.

Este efeito é caracterizado por apresentar uma curva bifásica, ocorrendo quer através da resposta estimulatória direta a baixas doses ou através da resposta compensatória ao desequilíbrio na homeostase. Assim a ocorrência de hormesis sobre uma característica específica pode ser considerada como a resposta homeostática que atua na manutenção constante do metabolismo às mudanças do ambiente (FORBES, 2000). Ocorre independente da espécie, estágio de desenvolvimento e estresses físico-químicos. Geralmente a aplicabilidade desse fenômeno sugere ampla variedade de ocorrência (CALABRESE; BALDWIN, 2002b).

Resultados de pesquisas referentes ao efeito hormético foram verificados em plantas sobretudo com o uso de herbicidas. A resposta estimulatória pode ser medida por meio do crescimento, variando em peso, altura ou área foliar, ou em mudanças fisiológicas, como teor de proteínas e outros compostos. Muito embora, uma resposta estimulatória não possui a mesma característica de outra, por exemplo, alguns herbicidas podem estimular o crescimento das raízes em baixas doses, mas não promovem o efeito de estímulo sobre o crescimento de caules em outras doses (WIEDMAN; APPLEBY, 1972; BELZ; DUKE, 2014).

As respostas biológicas que o efeito hormesis pode provocar são diferentes, dependendo do produto químico aplicado, da planta que está recebendo o composto, e como ele atua na morfologia e fisiologia dessa planta. Alguns desses mecanismos causados por hormesis podem representar tentativas fisiológicas da planta, na intenção de compensar o estresse químico.

Desse modo, a máxima resposta estimulatória geralmente não excede mais que duas vezes o valor da testemunha ou controle. Geralmente, gira em torno de 30 a 60% a mais que os controles (CALABRESE; BALDWIN, 2002b; CALABRESE; BALDWIN, 2003).

Na literatura são citados como valores de máximo estímulo de crescimento para herbicidas entre 20 e 30% acima do controle em condições controladas e entre 10 e 25% em condições de campo (CEDERGREEN et al., 2007; BELZ et al., 2011).

No entanto, não são todos os herbicidas que possuem a capacidade de estimular o crescimento. Trabalhos realizados com alface (*Lactuca sativa*) em condições controladas, demonstraram que alguns compostos não demonstram respostas de estímulos (DUKE et al., 2006; BELZ; CEDERGREEN, 2010; BELZ et al., 2011).

Talvez o maior problema associado ao efeito hormesis por herbicidas seja o fato desse variar em plantas, se as mesmas forem expostas a diversos fatores de estresse, como desequilíbrio nutricional, variação de temperatura e competição entre plantas, especialmente em condições de campo (BELZ et al., 2011).

A hipótese bastante discutida sobre o efeito hormesis considera esse como um processo de auto compensação em resposta a exposição à pequenos períodos de estresse, facilitada pela alocação das fontes de reserva, que originalmente eram destinadas ao crescimento e desenvolvimento da planta (PARSONS, 2003; CALABRESE et al., 2007; BELZ; CEDERGREEN, 2010).

Se o estresse se mantém por determinado tempo, a auto compensação pode ser revertida, mostrando crescimento inicial rápido seguido por redução (STEBBING, 2002). No entanto, existem poucos estudos que avaliam mais de uma característica, com o propósito de investigar como ocorre a alocação das fontes de reserva em plantas.

Segundo Cedergreen (2008), o efeito hormesis não se mantém ao longo do tempo. Em seus estudos para avaliar os efeitos do glyphosate em plantas de cevada (*Hordeum vulgare*), demonstrou que o mesmo se manteve por aproximadamente seis semanas. Após esse período, nenhum estímulo significativo foi encontrado.

A aplicação de herbicidas com o objetivo de melhorar a qualidade da cultura, tem sido proposta, por exemplo, para aumentar o teor de sacarose em cana-de-açúcar pela aplicação de glyphosate e outros herbicidas (McDONALD et al., 2000). Assim

como, herbicidas inibidores de protoporfirinogênio oxidase (Protox) atuam de modo a impulsionar as defesas das plantas contra patógenos e doenças (NELSON et al., 2002).

Além disso, subdoses de herbicidas podem melhorar o rendimento das culturas, aumentando biomassa e produtividade (CEDERGREEN, 2008; FURLANI JR et al., 2009). Porém o uso para promover o crescimento em plantas e outros benefícios não é realizado comercialmente, com exceção do glyphosate como maturador em cana-de-açúcar e herbicidas auxínicos.

Os efeitos benéficos em resposta a subdoses podem variar em função de a) diferentes complexos químicos (CALABRESE; BALDWIN, 1998; CALABRESE; BALDWIN, 2000; BARCELO; POSCHENRIEDER, 2002), b) estresse oxidativo na biologia do envelhecimento (FINKEL; HOLBROOK, 2000), c) radiação (SAGAN, 1991; FEINENDEGEN; NEUMANN, 2005) e d) estresse (CYPSEY; JOHNSON, 2002). Entretanto, outros estudos incluem ainda assimilação de CO₂ (BRANHAM, 1929) e longevidade (CYPSEY; JOHNSON, 2002).

Hormesis não é necessariamente benéfico ou prejudicial na agricultura, em outras palavras, o tratamento da cultura com subdoses de herbicida para a mudança fenotípica desejável pode ser de extrema importância (DUKE et al., 2006).

O estímulo de subdoses promovido pelo glyphosate tem sido relatado nos últimos anos. De acordo com Velini et al. (2006), aplicações de subdoses desse herbicida sobre culturas indicaram, em ambientes protegidos, estímulos de crescimento.

Segundo Silva et al. (2015b), em plantas tratadas com subdoses de glyphosate, houve a elevação na fixação de carbono e condutância estomática em resposta ao aumento na quantidade de estômatos no mesófilo foliar. Esse aumento do número de estômatos na epiderme é regulado principalmente por hormônios vegetais responsáveis pelo crescimento das plantas, sendo uma possível explicação para o estímulo de crescimento (FLEXAS et al., 2008).

O efeito estimulante pode ocorrer também como consequência dos movimentos laterais e verticais das barras de pulverização, influenciando a deposição do herbicida na planta (GAZZIERO et al., 2006; SOUZA et al., 2007).

De acordo com Velini et al. (2008), foram observados aumentos significativos na massa seca total e da parte aérea de soja convencional em doses de glyphosate que variaram de 1,8 a 18 g e.a. ha⁻¹. Em milho, os resultados foram semelhantes, porém na faixa de doses que variaram de 1,8 a 36 g e.a. ha⁻¹.

Valores de estímulos para raiz e parte aérea foram encontrados em doses de 3,6 e 7,2 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate quando utilizadas em pré-tratamentos, os quais indicaram que em condições de campo, a exposição da planta ao glyphosate por deriva pode alterar a resposta a uma segunda exposição a esse herbicida (CEDERGREEN et al., 2009; SILVA et al., 2015a).

No entanto, outros mecanismos não hormonais também podem ser importantes para obter a resposta hormética. Assim, pode-se destacar o mecanismo com que o glyphosate atua nas plantas, que está relacionado à inibição da via do ácido chiquímico, sendo a fonte dos precursores a lignina (SCHMIDT, 1997). Para alguns herbicidas, a utilização de baixas doses pode inibir preferencialmente a síntese de lignina, fazendo com que as paredes celulares fiquem mais elásticas e permaneçam por um período maior durante o desenvolvimento. Isso deve resultar em maior crescimento longitudinal (DUKE et al., 2006).

Aumentos nos teores de chiquimato foram mantidos após o primeiro sinal de injúria em plantas de arroz, indicando assim, que esse teor poderia servir como parâmetro fisiológico utilizado para identificar a deposição de glyphosate por deriva (KOGER et al., 2005). Porém, alguns autores discordam, uma vez que o chiquimato é muito sensível a qualquer tipo de exposição ao herbicida (VELINI et al., 2008).

O glyphosate também pode estimular a fotossíntese em doses baixas (CEDERGREEN; OLESEN, 2010). Assim, sugere-se o parâmetro de transporte fotossintético de elétrons (ETR) como sendo medidor não destrutivo para avaliar plantas que apresentaram estímulo pelo herbicida (SILVA et al., 2015a).

Segundo Cedergreen e Olesen (2010), verificou-se que o efeito hormesis em alguns casos está relacionado com a inibição parcial da enzima EPSPs. A falta de estímulo de crescimento em qualquer dose do herbicida aplicada sobre a soja resistente ao glyphosate, a qual é insensível a essa enzima e cuja rota do ácido chiquímico não é afetada pelo mesmo, suporta a hipótese.

O glyphosate tem sido o herbicida mais utilizado em larga escala no mundo inteiro nos últimos anos, porém ainda existem informações limitadas quanto aos efeitos das baixas doses nas plantas, tanto em campo como em laboratório. Portanto, entender como essas doses afetam o crescimento e fisiologia das plantas é de grande importância. É fundamental aprimorar o conhecimento sobre a dinâmica dos herbicidas, em sistemas de produção e adquirir informações sobre seus efeitos em plantas não alvos.

O contingente de informações relacionadas ao comportamento das plantas após a aplicação do glyphosate ainda é escasso. A ocorrência de hormesis em plantas cultivadas como a espécie *B. decumbens*, uma importante cultura forrageira, poderia assumir papel interessante nos atuais sistemas de produção. Porém é necessário direcionar os estudos quanto a esse efeito também em plantas daninhas, uma vez que as mesmas possuem maior plasticidade fenotípica no campo em relação às culturas e podem receber doses subletais de herbicidas por deriva de áreas vizinhas ou por erros durante a aplicação.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Visando verificar as respostas de plantas de *Brachiaria decumbens* à aplicação do herbicida glyphosate, foram realizados dois estudos. No primeiro estudo, foram realizados três experimentos, nos quais as plantas foram submetidas à aplicação de diferentes doses de glyphosate. No segundo estudo, foram realizados quatro experimentos a fim de estudar a resposta biológica das plantas por meio da aplicação de uma subdose do herbicida glyphosate.

Todos os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, do Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, campus de Botucatu/SP.

Em todos os experimentos, foram utilizados vasos plásticos de capacidade de 1,7 litros, contendo 500 g de substrato composto de turfa de Sphagnum 70%, palha de arroz torrefada 20%, perlita 10%, macro e micronutrientes, com pH 5,8 ($\pm 0,5$), nos quais foram semeados aproximadamente 1,25 g de sementes de *B. decumbens*. Os vasos foram irrigados pela superfície até o momento da emergência das primeiras plantas, o que ocorreu cinco dias após a semeadura (DAS). Após esse período permaneceram em bandejas com água, repostas em dias alternados, e conforme necessidade, sendo a irrigação realizada por capilaridade até o encerramento dos experimentos. Adotou-se esse procedimento para a manutenção constante e padronizada da irrigação em todos os vasos (Figura 1).



Figura 1. Disposição dos vasos de *B. decumbens* em bandejas para irrigação.

As aplicações dos tratamentos foram realizadas com um pulverizador estacionário, em sala fechada, equipado com uma barra de pulverização com 2,0 m de largura, com quatro pontas XR 110.02 VS, espaçadas em 0,5 m entre si e posicionadas a 0,5 m de altura em relação à superfície das plantas. O sistema foi operado com velocidade de deslocamento de 3,6 km h⁻¹, com consumo de calda correspondente ao volume de 200 L ha⁻¹, sob pressão constante de 1,5 bar, pressurizado por ar comprimido (Figura 2).



Figura 2. Pulverizador estacionário utilizado para a aplicação dos tratamentos.

5.1 Estudo de dose-resposta de glyphosate em *Brachiaria decumbens*

Nesse estudo foram realizados três experimentos. O primeiro experimento ocorreu entre os meses de janeiro e fevereiro, no qual as plantas de *B. decumbens* foram submetidas à pulverização de nove tratamentos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis repetições, conforme Tabela 1. Para tal, utilizou-se o herbicida glyphosate, produto comercial Roundup Original® (360 g equivalente ácido L⁻¹). As doses foram definidas com base na dose recomendada para o controle de *B. decumbens* (720 g e.a. ha⁻¹) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Tabela 1. Tratamentos utilizados no experimento 1 do estudo de dose-resposta de glyphosate em plantas de *B. decumbens*.

Tratamento	Produto	Dose g e.a. ha ⁻¹	Dose L p.c. ha ⁻¹
1	Testemunha	0	0
2		22,5	0,0625
3		45	0,125
4		90	0,25
5		180	0,5
6	Glyphosate	360	1,0
7		720	2,0
8		1440	4,0
9		2880	8,0

Com base nos resultados do experimento anterior, para os experimentos seguintes avaliou-se a dose-resposta de plantas de *B. decumbens* submetidas a diferentes doses do herbicida glyphosate. Os experimentos dois e três foram conduzidos entre os meses de julho/agosto e setembro/outubro, respectivamente, em delineamento inteiramente casualizado, com onze tratamentos e seis repetições, utilizando o produto comercial Roundup Original® (360 g e.a. L⁻¹), conforme Tabela 2.

Tabela 2. Tratamentos utilizados nos experimentos 2 e 3 do estudo de dose-resposta de glyphosate em plantas de *B. decumbens*.

Tratamento	Produto	Dose g e.a. ha ⁻¹	Dose L p.c. ha ⁻¹
1	Testemunha	0	0
2		2,8125	0,00781
3		5,625	0,01562
4		11,25	0,03125
5		22,5	0,0625
6	Glyphosate	45	0,125
7		90	0,25
8		180	0,5
9		360	1,0
10		720	2,0
11		1440	4,0

5.2 Estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis em *Brachiaria decumbens*

Foram realizados quatro experimentos em diferentes épocas, os quais foram divididos em: experimentos 1 e 2, durante os meses de novembro e dezembro; experimentos 3 e 4, entre os meses de abril e maio. Para esse estudo, utilizou-se os mesmos procedimentos para semeadura, condução e aplicação dos tratamentos descritos anteriormente.

Os tratamentos foram compostos por uma testemunha e uma subdose do herbicida glyphosate, produto comercial Roundup Original[®] (360 g e.a. L⁻¹), em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições, conforme Tabela 3.

Tabela 3. Tratamentos utilizados nos experimentos do estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis em plantas de *B. decumbens*.

Tratamento	Produto	Dose g e.a. ha ⁻¹	Dose L p.c. ha ⁻¹
1	Testemunha	0	0
2	Glyphosate	11,25	0,03125

5.3 Avaliações dos estudos

Em todos os experimentos, aos 30 DAS foi realizada a aplicação dos tratamentos conforme descrito anteriormente. Nesse momento, foram selecionados seis vasos sem aplicação para os experimentos do primeiro estudo e oito vasos para os experimentos do segundo estudo e realizada a coleta de oito plantas por vaso para determinação da biomassa inicial dos experimentos.

Para isso, as plantas coletadas foram pesadas em balança de precisão (0,0001g) determinando-se a biomassa fresca. Em seguida foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas para secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingirem massa constante. Em seguida realizou-se a pesagem e determinação da biomassa seca.

Nos experimentos do primeiro estudo foram realizadas avaliações de fitointoxicação aos 0, 7, 14 e 21 dias após a aplicação (DAA), adotando-se escala de notas variando de 0 a 100, na qual “0” corresponde à ausência total de injúrias e “100” à morte total das plantas (SBCPD, 1995). Em cada um dos períodos avaliados nos experimentos do primeiro estudo, coletou-se oito plantas por repetição de cada tratamento para determinação da massa fresca e seca, conforme descrito anteriormente.

Para gerar as curvas do comportamento das plantas, considerou-se a massa fresca e seca total, somando-se todos os períodos coletados, além das plantas restantes dos vasos ao término dos experimentos, que ocorreu aos 21 DAA.

5.4 Análise dos dados

Os dados obtidos no estudo de dose-resposta, foram submetidos à análise de variância, tendo suas médias comparadas pelo teste t ($p \leq 0,05$). Foi ajustado o modelo de regressão não-linear logístico descritos por Brain e Cousens (1989) e adaptados por Velini et al. (2008), conforme a equação 1:

$$y = \frac{k}{1 + e^{bgx^b}} + d$$

em que k , b , g e d são os parâmetros da equação. O parâmetro “ k ” corresponde à resposta média da testemunha, o “ b ” determina como a variável decresce com a dose, o “ g ” é $-\log_e(ED_{50})$ que determina a dose para alcançar 50% do efeito, e o “ d ” a assíntota máxima do modelo.

Em conjunto a esse, ajustou-se o modelo adaptado, baseado em trabalhos anteriores sobre hormesis e curvas de dose-resposta. O modelo está descrito na equação 2:

$$y = \frac{k + fx}{1 + e^{bgx^b}} + d$$

em que o parâmetro “ f ” indica a taxa de estímulo em doses próximas a zero, e os demais são correspondentes ao descrito anteriormente.

Os modelos descritos diferem em apenas um coeficiente que multiplica a variável independente “ x ”, permitindo calcular a redução na soma dos quadrados dos resíduos, incluindo o coeficiente “ f ” com um valor diferente de zero. A diferença entre a soma dos quadrados dos resíduos dos modelos foi testada para $p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$ usando o F calculado como se segue:

$$F = \frac{SQ_{\text{equação 2}} - SQ_{\text{equação 1}}}{QMR}$$

em que SQ é a soma de quadrados e QMR corresponde ao quadrado médio do resíduo. Sendo o valor de F significativo, a hipótese $f = 0$ foi rejeitada, ou seja, a ocorrência de estímulo de crescimento foi aceita e optou-se pela utilização do modelo logístico com o fator adicional “ f ”, conforme descrito por Velini et al. (2008).

Quando o valor F não foi significativo, a hipótese de $f = 0$ foi aceita e por isso concluiu-se que não houve nenhum estímulo em doses baixas e o modelo da equação 1 foi ajustado aos dados.

As avaliações de fitointoxicação das plantas pela aplicação de glyphosate obtiveram correlação significativa e por isso, foi ajustado o modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros adaptado:

$$y = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x-x_0}{b}\right)}}$$

em que “a” corresponde a assíntota máxima do modelo, o “x₀” corresponde ao I₅₀, que indica a concentração do herbicida responsável pela inibição de 50% do crescimento das plantas. A concavidade da curva é correspondente ao parâmetro “b”.

No estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis, optou-se por agrupar os dados dos experimentos 2 e 3 do estudo 1 e os quatro experimentos do estudo 2, nos tratamentos testemunha e dose 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, totalizando seis experimentos, sendo ajustado o modelo de Gompertz, desenvolvido por Gompertz (1825), seguindo procedimentos adaptados por Velini (1995):

$$F = e^{[a - e^{(-b - c * X)}]}$$

em que a, b e c correspondem aos parâmetros da equação. A assíntota máxima do modelo é representada pela expressão “e^a”, o deslocamento da curva ao longo do eixo x pelo parâmetro “b”, e a inclinação ou concavidade da curva em relação à frequência acumulada, pelo parâmetro “c”. Para melhor visualização, optou-se por apresentar a frequência não acumulada dos dados, que corresponde à primeira derivada do modelo de acordo com a equação:

$$F = c * e^{(a - b - c * X - e^{(-b - c * X)})}$$

Também com base no modelo de Gompertz, foram determinadas as medidas de posição (moda, média e mediana) dos dados analisados. A precisão do ajuste dos dados no modelo de Gompertz foi avaliada pelos coeficientes de determinação (R²) das equações.

As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, SAS Institute, version 9.1.3., Carry, North Carolina, USA), sendo os gráficos elaborados pelo Sigmaplot (SYSTAT SOFTWARE, versão 12.0, San Jose).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Estudo de dose-resposta de glyphosate em *Brachiaria decumbens*

6.1.1 Experimento 1

As médias obtidas para massa fresca e massa seca das plantas de *B. decumbens* em função das doses utilizadas, os coeficientes de determinação e os parâmetros do modelo logístico ajustado para os dados de massa fresca e massa seca estão apresentados na Tabela 4.

A comparação entre os tratamentos aplicados indicou que houve diferença significativa em função da dose, tanto para os valores de massa fresca quanto para massa seca. Os valores de massa fresca e massa seca das plantas de *B. decumbens* apresentaram bom ajuste com os valores de R^2 entre 0,9952 e 0,9962, respectivamente.

Tabela 4. Médias dos tratamentos de massa fresca (g) e seca (g) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) e os parâmetros das equações de regressão obtidas pelo ajuste do modelo logístico do experimento 1.

Doses de glyphosate g e.a. ha ⁻¹	Média	
	MF	MS
0	48,85	8,21
22,5	28,34	3,91
45	15,31	2,39
90	1,90	0,78
180	0,78	0,52
360	0,77	0,56
720	0,60	0,45
1440	0,73	0,56
2880	0,58	0,43
Coefficiente de variação (%)	41,94	28,93
Valores de F:		
Tratamentos ou doses	85,31**	125,13**
Hipóteses $f \neq 0$	1,44 ^{NS}	0,93 ^{NS}
Regressão	226,45**	334,34**
Modelo	Equação 1	Equação 1
R²	0.9952	0.9962
Parâmetros:		
	g = -3,3112	g = -3,0185
	b = 2,0013	b = 1,6311
	k = 48,4928	k = 7,7757
	d = 0,1857	d = 0,4234

NS: Não significativo; (**): $p \leq 0,01$

O comportamento das curvas de dose-resposta das plantas de *B. decumbens* testadas com a aplicação de glyphosate encontra-se na Figura 3. Os maiores valores encontrados de massa fresca e seca foram alcançados nas plantas sem aplicação.

O modelo logístico com fator adicional para as duas variáveis não foi significativo, sendo a hipótese de $f = 0$ aceita, ou seja, não houve estímulo. Desse modo optou-se por utilizar o modelo de regressão não-linear logístico ajustado.

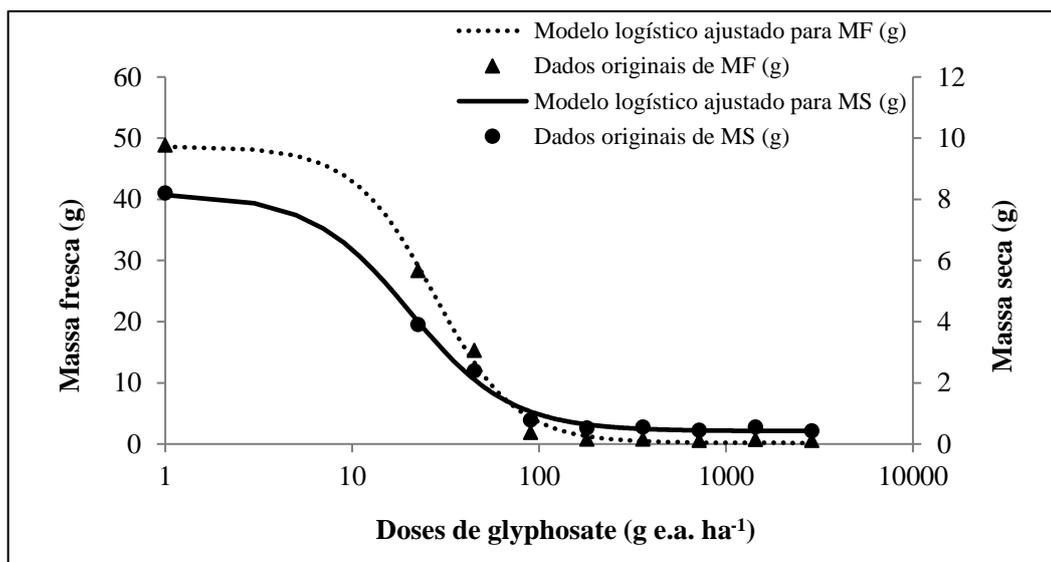


Figura 3: Modelo de regressão não-linear logístico ajustado para as variáveis massa fresca (g) e massa seca (g) de plantas de *B. decumbens* aos 21 DAA em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 1.

Os modelos ajustados permitiram verificar que a dose de 90 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate reduziu drasticamente a massa fresca e seca das plantas em relação à testemunha, indicando assim que as plantas foram controladas em doses abaixo da recomendada em campo para a espécie, de 360 a 720 g e.a. ha⁻¹. A partir dessa dose houve redução gradativa no crescimento das plantas com o incremento das doses de glyphosate, ocasionando fitointoxicação alta, próxima a 100% (Tabela 5).

Lacerda e Victoria Filho (2004) encontraram igualmente reduções de biomassa fresca importantes em *Bidens pilosa* com a aplicação de apenas 90 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. No entanto, em trabalhos realizados com *B. brizantha*, houve redução expressiva na massa seca das plantas somente a partir da dose de 360 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (SANTOS et al., 2007). Comportamento contrário ocorreu em plantas de *Conyza sumatrensis*, na qual essa mesma dose promoveu estímulo de altura (GOMES, 2014).

Tabela 5. Médias dos tratamentos para nota de fitointoxicação (%) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 1.

Tratamento	Dose (g e.a. ha ⁻¹)	Nota (%)
1	0	0
2	22,5	11,67
3	45	45,83
4	90	87,50
5	180	95,50
6	360	100,0
7	720	100,0
8	1440	100,0
9	2880	100,0

Nesse estudo as médias das notas de fitointoxicação foram ajustadas pelo modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros com os dados originais de fitointoxicação (%) em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) (Figura 4). Foi possível verificar que doses acima de 45 g e.a. ha⁻¹ foram suficientes para reduzir em 50% o crescimento das plantas, sendo verificados sintomas de intoxicação causados pelo herbicida. Enquanto que as médias de fitointoxicação próximas de 100% corresponderam às doses acima de 360 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, indicando a morte total das plantas (Figura 5).

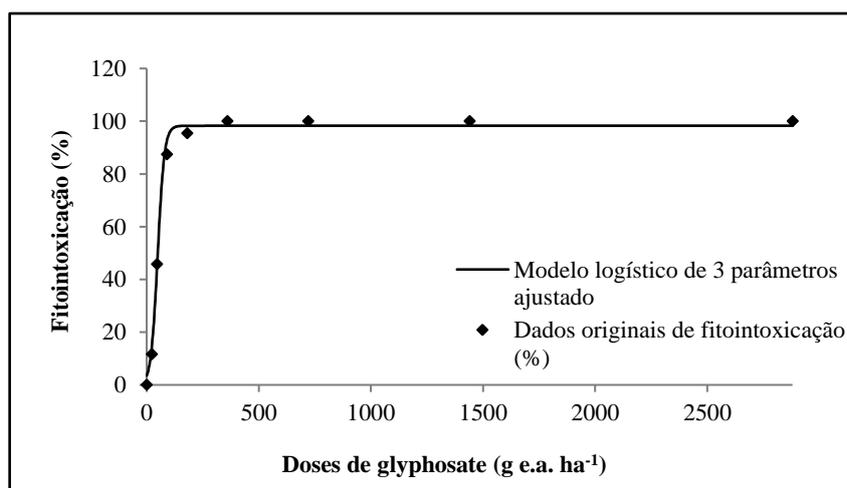


Figura 4: Modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros ajustado para a variável fitointoxicação (%) de plantas de *B. decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 1. $Y = 98,2991 / (1 + \exp^{-(x-48,7749)/14,7959})$, $R^2 = 0,9973$.



Figura 5. Avaliação visual de fitointoxicação aos 21 DAA de plantas de *B. decumbens* do experimento 1 do estudo de dose-resposta.

6.1.2 Experimento 2

Na Tabela 6 estão apresentados os valores das médias dos tratamentos para massa fresca e massa seca em função das doses de glyphosate, os coeficientes de determinação e os parâmetros do modelo logístico com fator adicional ajustado.

A análise estatística mostrou que houve diferença significativa entre os tratamentos, tanto para massa fresca como para massa seca. No experimento 2 do estudo de dose-resposta de plantas de *B. decumbens*, os ajustes dos modelos apresentaram $R^2 = 0,9668$ e $0,9586$ para massa fresca e seca, respectivamente.

O modelo logístico com fator adicional para as duas variáveis foi significativo. A hipótese de $f = 0$ foi rejeitada, ou seja, a ocorrência de hormesis em doses baixas foi aceita, quando comparada às plantas que não receberam aplicação.

Tabela 6. Médias dos tratamentos de massa fresca (g) e seca (g) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) e os parâmetros das equações de regressão obtidas pelo ajuste do modelo logístico do experimento 2.

Doses de glyphosate g e.a. ha ⁻¹	Média	
	MF	MS
0	58,85	9,74
2,8125	65,34	11,02
5,625	65,50	10,71
11,25	81,16	12,66
22,50	39,53	6,58
45	30,19	5,89
90	6,79	2,66
180	6,09	2,71
360	6,90	3,23
720	5,67	2,74
1440	5,51	2,77
Coefficiente de variação (%)	26,41	25,76
Valores de F:		
Tratamentos ou doses	65,52**	32,27**
Hipóteses $f \neq 0$	19,11**	10,72**
Regressão	159,03**	81,20**
Modelo	Equação 2	Equação 2
R²	0.9668	0.9586
Parâmetros:		
	g = -2,8366	g = -2,7806
	b = 2,6281	b = 2,8275
	k = 50,5179	k = 6,6424
	d = 5,8953	d = 2,9009
	f = 3,4530	f = 0,4646

NS: Não significativo; (**): $p \leq 0,01$

O valor máximo de massa fresca das plantas foi verificado na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (Figura 6). Esse valor correspondeu ao aumento de 37,90% em relação à testemunha. Contudo, notou-se que o glyphosate evidenciou seu

efeito herbicida, com paralisação no crescimento das plantas em doses acima desse valor, ocasionando decréscimo nos valores de massa fresca.

Nas avaliações de massa seca, o valor máximo também foi verificado na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ (Figura 6). Esse valor correspondeu ao aumento de 29,97% em relação à testemunha. Na Figura 7 pode-se observar que a partir da dose de 22,5 g e.a. ha⁻¹ o crescimento foi fortemente inibido pelo herbicida.

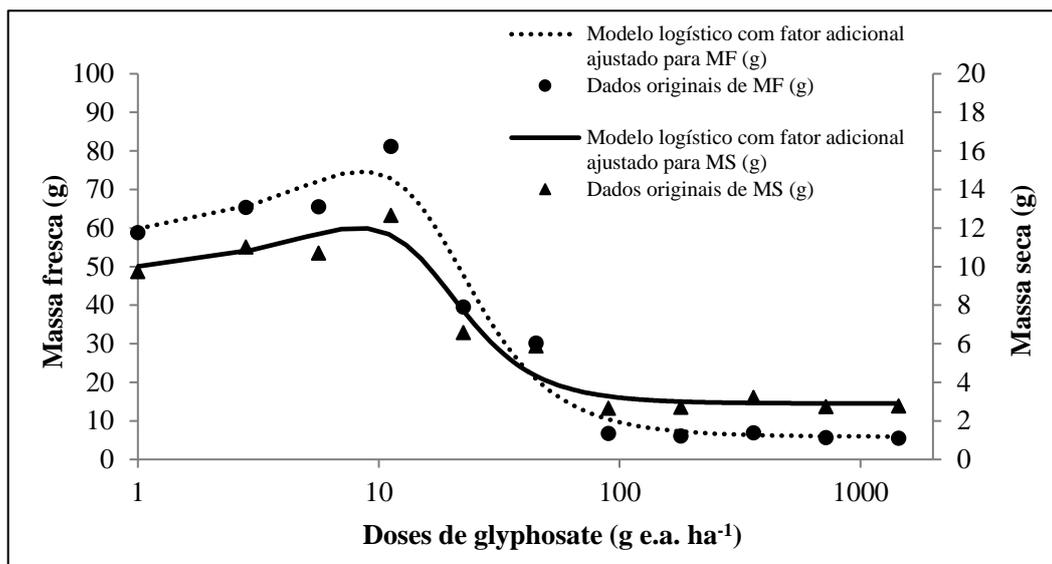


Figura 6: Modelo de regressão não-linear logístico com fator adicional ajustado para as variáveis massa fresca (g) e massa seca (g) de plantas de *B. decumbens* aos 21 DAA em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 2.

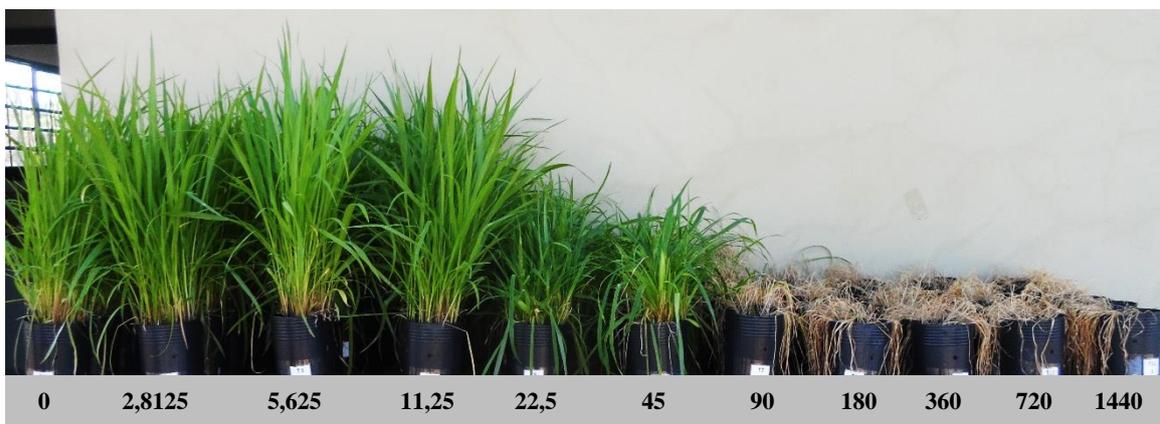


Figura 7. Avaliação visual de fitointoxicação aos 21 DAA de plantas de *B. decumbens* do experimento 2 do estudo de dose-resposta.

Resultados semelhantes com estímulos em plantas foram encontrados em estudos com diferentes espécies. Velini et al. (2008) mostraram que nas subdoses entre 1,8 a 3,6 g e.a. ha⁻¹ estimularam o crescimento em milho, eucalipto, pinus, soja convencional e *Commelina benghalensis*, mas variando a dose ótima entre as espécies.

Em trabalhos realizados em café, foram encontrados estímulos de crescimento em baixas doses de glyphosate após a exposição ao produto. Os valores máximos encontrados foram 21%, 18%, 28%, 39%, 24%, 31% e 27% em altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, massa fresca do caule, massa fresca da folha, além de aumentos na biomassa fresca total das plantas (CARVALHO et al., 2013).

Da mesma forma, Cedergreen (2008) testou em plantas de cevada de 10 a 15 doses de diversos herbicidas e observou que glyphosate e metsulfuron-methyl estimularam o crescimento da biomassa em aproximadamente 25% quando aplicados em doses correspondentes de 5 a 10% a dose recomendada.

Contudo, mesmo permitindo benefícios ao crescimento, subdoses de glyphosate não são recomendadas para culturas como estimuladores de crescimento, pois seu efeito pode variar consideravelmente, dependendo de fatores, incluindo fatores climáticos, variedades das plantas, estágio fenológico e formulação do produto (VELINI et al., 2010; BELZ; DUKE, 2014).

Ao contrário dos resultados obtidos anteriormente, a aplicação de subdoses de glyphosate entre 0,45 e 3,15 g e.a. ha⁻¹ pode trazer reduções expressivas na biomassa, como foi avaliado em plantas de *Bidens pilosa* (SILVA et al., 2015b). O decréscimo na biomassa pode estar relacionado com a interrupção do processo de mitose e ruptura dos plastídeos, restringindo o crescimento (CUNHA, 2004). O mesmo efeito foi encontrado similarmente por Melhorança Filho et al. (2010) para plantas de soja convencional.

Para esse experimento, foram realizadas avaliações de fitointoxicação, sendo as médias ajustadas pelo modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros. Na Tabela 7 são apresentadas as notas de fitointoxicação das plantas de *B. decumbens* em função das doses de glyphosate.

Tabela 7. Médias dos tratamentos para nota de fitointoxicação (%) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 2.

Tratamento	Dose (g e.a. ha ⁻¹)	Nota (%)
1	0	0
2	2,8125	0
3	5,625	0
4	11,25	0
5	22,50	52,5
6	45	66,67
7	90	95,67
8	180	99,17
9	360	100
10	720	100
11	1440	100

As plantas de *B. decumbens* apresentaram boa tolerância à aplicação de subdoses do herbicida, pois não causaram nenhum tipo de fitointoxicação, visto que só foi possível avaliar os sintomas a partir da dose 22,5 g e.a. ha⁻¹, alcançando o nível de 50% de controle (Figura 8), podendo correlacionar a mesma dose com a redução na massa fresca e massa seca.

As plantas tratadas com glyphosate entre as doses de 22,5 e 90 g e.a. ha⁻¹ apresentaram sintomas como amarelecimento das folhas, tornando-se cloróticas, seguidas de necrose. Enquanto que a dose de 180 g e.a. ha⁻¹ foi suficiente para cessar completamente o desenvolvimento da planta, resultando na sua morte.

Igualmente, Kappes et al. (2012) observaram que com o incremento da dose de glyphosate em estádios iniciais de desenvolvimento de plantas de crotalária, o mesmo provocou efeitos prejudiciais às plantas, causando a redução na altura.

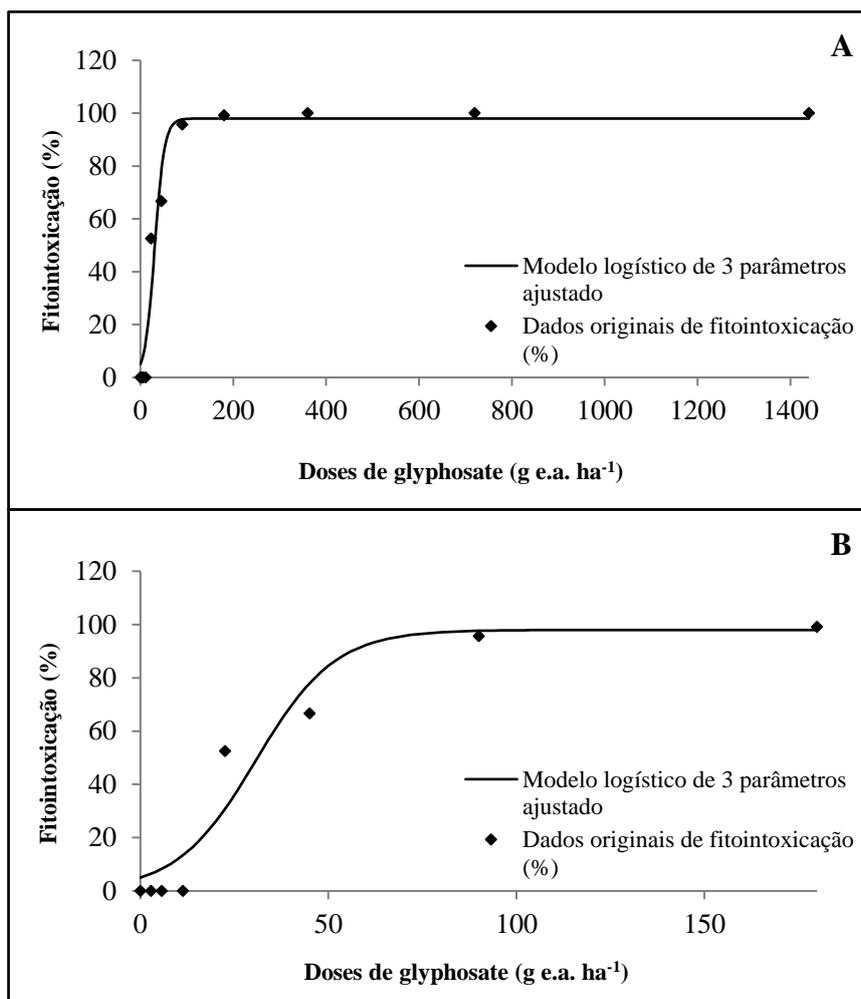


Figura 8: (A) Modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros ajustado para a variável fitointoxicação (%) de plantas de *B. decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 2. $Y = 97,9781 / (1 + \exp^{-(x-30,7211)/10,5248})$, $R^2 = 0,9786$. (B) Detalhe para as oito primeiras doses do modelo ajustado.

6.1.3 Experimento 3

Os valores das médias dos tratamentos para massa fresca e seca em função das doses de glyphosate, os coeficientes de determinação e os parâmetros do modelo logístico com fator adicional ajustado para os dados de massa fresca e massa seca estão apresentados na Tabela 8. A comparação entre os tratamentos indicou que eles são diferentes significativamente, tanto para os dados de massa fresca como para massa seca. Nesse

experimento, os modelos logísticos apresentaram $R^2 = 0,9998$ e $0,9960$ para massa fresca e massa seca, indicando que os mesmos tiveram um bom ajuste.

Tabela 8. Médias dos tratamentos de massa fresca (g) e seca (g) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) e os parâmetros das equações de regressão obtidas pelo ajuste do modelo logístico do experimento 3.

Doses de glyphosate g e.a. ha ⁻¹	Média	
	MF	MS
0	117,64	21,69
2,8125	118,10	22,82
5,625	131,88	24,83
11,25	143,67	26,85
22,50	118,09	22,24
45	82,35	15,20
90	35,59	7,70
180	12,50	5,22
360	11,13	4,79
720	7,54	3,63
1440	4,36	2,22
Coefficiente de variação (%)	16,05	21,06
Valores de F:		
Tratamentos ou doses	148,61**	60,18**
Hipóteses $f \neq 0$	17,42**	11,98**
Regressão	371,38**	154,34**
Modelo	Equação 2	Equação 2
R²	0.9998	0.9960
Parâmetros:		
	g = -3,3483	g = -3,1667
	b = 2,1766	b = 2,1066
	k = 111,2	k = 18,4047
	d = 3,4819	d = 2,8462
	f = 3,6375	f = 0,8630

NS: Não significativo; (**): $p \leq 0,01$

Nos resultados apresentados, a hipótese de $f = 0$ foi rejeitada, ou seja, a ocorrência de hormesis em baixas doses foi aceita, tendo como valor máximo de massa fresca das plantas verificado na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. Esse valor correspondeu ao aumento de 22,12% em relação às plantas não tratadas (Figura 9). O modelo logístico com fator adicional foi significativo para a variável de massa seca. Assim, o valor máximo alcançado foi na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, valor que correspondeu ao aumento de 23,78% em relação à testemunha (Figura 9).

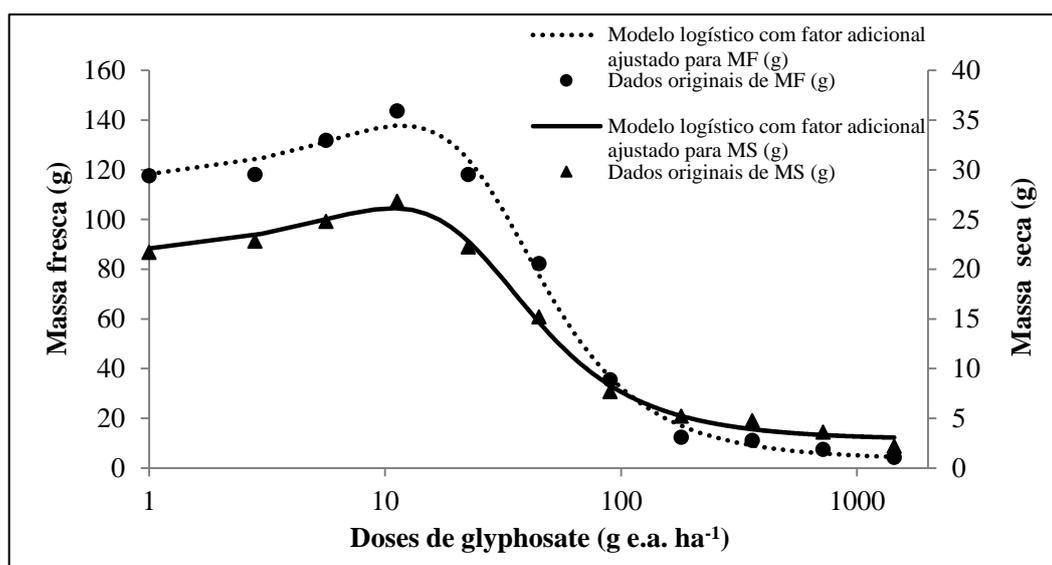


Figura 9: Modelo de regressão não-linear logístico com fator adicional ajustado para as variáveis massa fresca (g) e massa seca (g) de plantas de *B. decumbens* aos 21 DAA em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 3.

Da mesma forma como no experimento 2, a partir da dose de 22,5 g e.a. ha⁻¹ o crescimento das plantas foi fortemente inibido pelo herbicida (Figura 10).

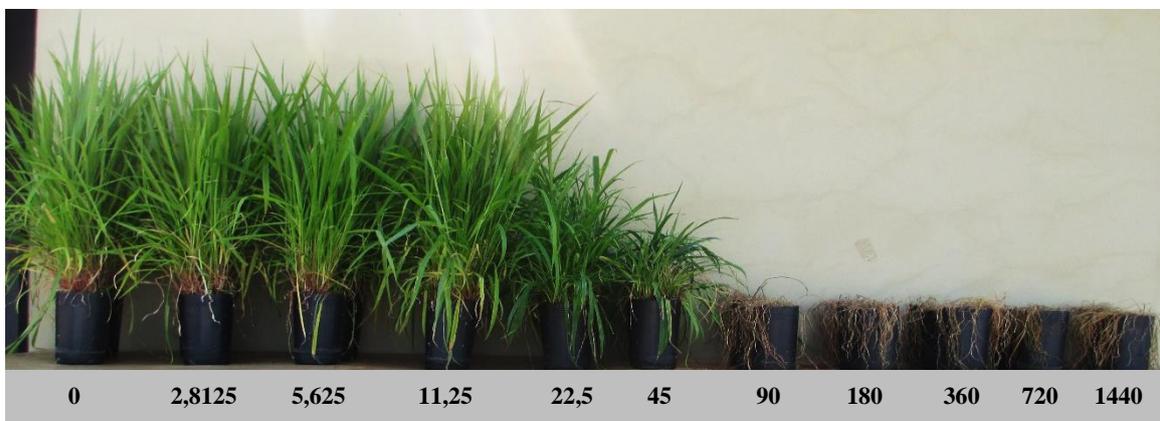


Figura 10. Avaliação visual de fitointoxicação aos 21 DAA de plantas de *B. decumbens* do experimento 3 do estudo de dose-resposta.

O glyphosate necessita de intenso gradiente de concentrações para que a fase inicial de penetração na cutícula ocorra rapidamente, podendo influenciar a absorção do produto pela planta (CASELEY; COUPLAND, 1985). Desse modo, o herbicida quando em subdoses, pode atuar como estimulante de crescimento, não causando efeitos prejudiciais às plantas (MELHORANÇA FILHO et al., 2010).

Alguns autores demonstraram que a faixa de doses em que o glyphosate não atua em plantas é bastante estreita, podendo ser apenas 0 a 1,8 g e.a. ha⁻¹. Acima dessa dose há uma segunda faixa de doses em que podem ocorrer estímulos de crescimento e, uma terceira faixa (em geral acima de 7,2 a 36 g e.a. ha⁻¹), em que se é verificado os efeitos inibitórios sobre plantas (VELINI et al., 2009).

A subdose de 10,5 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate também proporcionou incremento na produção de massa seca de *B. brizantha* de 31,8% em relação ao controle. Porém, em avaliações mais tardias, a subdose de 12,62 g e.a. ha⁻¹ promoveu aumento de 21,8% na produção de massa seca (NASCENTES et al., 2015).

Da mesma forma, estímulos de massa seca foram encontrados em plantas de soja, cana-de-açúcar e eucalipto pela aplicação de baixas doses de glyphosate, variando de 1,8 a 17 g e.a. ha⁻¹ (SILVA et al., 2015a).

Visto que a síntese de lignina é preferencialmente inibida por baixas doses de glyphosate, a parede celular ainda permanece elástica por determinado tempo, permitindo expansão celular maior e assim, promovendo aumentos no crescimento. Porém esse mecanismo não poderia explicar os efeitos estimulantes sobre a massa seca, como nesse experimento (CARVALHO et al., 2013).

O efeito estimulante geralmente é observado para uma única variável em certo período, não ocorrendo necessariamente em diferentes momentos ou variáveis. As características consideradas na maioria dos estudos são massa seca, massa fresca, comprimento de folha e raiz, altura de planta e taxa de crescimento (BELZ; DUKE, 2104).

Entretanto, estímulos de crescimento por baixas doses de glyphosate podem trazer implicações não somente às espécies não-alvo, causado pela deriva de herbicidas aplicados no campo, mas para as plantas daninhas que se desenvolvem abaixo das plantas geneticamente modificadas, as quais receberão doses baixas do herbicida estimulando potencialmente o crescimento.

O estímulo no crescimento é relativamente pequeno e é dependente de variações no controle do crescimento das plantas (CEDERGREEN, 2008). Alocação de

biomassa para outras partes das plantas pode ocorrer em plantas tratadas com todos os herbicidas, contudo essa não é a causa de hormesis.

As informações obtidas nas avaliações de fitointoxicação possibilitaram identificar que a aplicação da dose de 45 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate não foi suficiente para inibir 50% do crescimento das plantas (Tabela 9).

Tabela 9. Médias dos tratamentos para nota de fitointoxicação (%) de plantas de *Brachiaria decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 3.

Tratamento	Dose (g e.a. ha ⁻¹)	Nota (%)
1	0	0
2	2,8125	0
3	5,625	0
4	11,25	0
5	22,50	3,33
6	45	44,17
7	90	70
8	180	98
9	360	100
10	720	100
11	1440	100

O modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros com os dados originais de fitointoxicação em função das doses de glyphosate estão apresentados na Figura 11. Foi possível observar que com o incremento das doses de glyphosate a partir de 180 g e.a. ha⁻¹, encontraram-se as maiores notas de fitointoxicação nas plantas de *B. decumbens*, resultando na morte das mesmas.

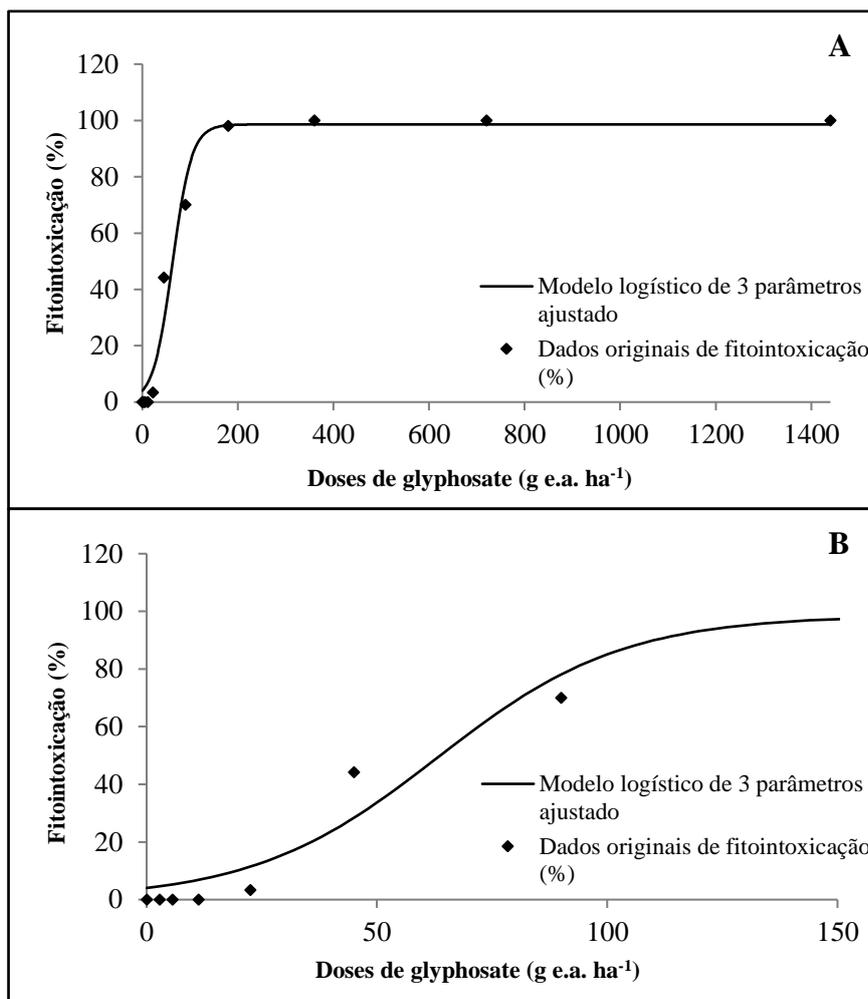


Figura 11: (A) Modelo de regressão não-linear logístico de três parâmetros ajustado para a variável fitointoxicação (%) de plantas de *B. decumbens* em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹) do experimento 3. $Y = 98,5862 / (1 + \exp^{-(x-63,19)/20,0387})$, $R^2 = 0,9887$. (B) Detalhe para as sete primeiras doses do modelo ajustado.

6.2 Estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis em *Brachiaria decumbens*

Esse estudo teve por objetivo avaliar a resposta das plantas de *B. decumbens* à aplicação da subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, sendo essa subdose a qual promoveu estímulo de biomassa nos experimentos anteriores. Para isso, optou-se por agrupar os dados dos tratamentos de testemunha e dose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, dos experimentos 2 e 3 do primeiro estudo e dos quatro experimentos do segundo estudo, totalizando seis experimentos.

Na Tabela 10 são apresentadas as médias dos valores de massa fresca e massa seca expressa em porcentagem da testemunha e em porcentagem da média em função das doses de glyphosate para os seis experimentos avaliados.

Tabela 10. Médias dos tratamentos obtidas para os valores de massa fresca e seca de plantas de *Brachiaria decumbens* em % da testemunha e % da média das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Tratamento	Dose g e.a. ha ⁻¹	Experimento	Média		Média	
			% da testemunha		% da média	
			MF	MS	MF	MS
1	0	1	100	100	100	100
		2	100	100	100	100
		3	100	100	100	100
		4	100	100	100	100
		5	100	100	100	100
		6	100	100	100	100
2	11,25	1	113,0	112,05	100	100
		2	85,69	86,65	100	100
		3	104,40	94,50	100	100
		4	84,85	73,87	100	100
		5	137,92	129,95	100	100
		6	122,12	123,82	100	100

Os valores para as medidas de posição e os coeficientes de determinação para os tratamentos testemunha (T1) e dose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ (T2) obtidas a partir da utilização do modelo de Gompertz são apresentados na Tabela 11.

Para as variáveis estudadas, os coeficientes de determinação foram superiores a 0,99, indicando a precisão dos ajustes efetuados entre as frequências não acumuladas (expressa em porcentagem) para massa fresca em % da testemunha e % da média analisadas pelo modelo.

Tabela 11. Estimativas dos parâmetros do modelo de Gompertz para a correlação de massa fresca de plantas de *Brachiaria decumbens* % da testemunha e % da média das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Modelo		% da testemunha		% da média	
		T1	T2	T1	T2
Estimativas dos parâmetros	b	-12,1377	-4,4065	-12,1377	-9,4911
	c	0,1257	0,0468	0,1257	0,0992
Média		100	106,0	100	100
Mediana		99,48	101,99	99,48	99,37
Moda		96,56	94,16	96,56	95,68
R ²		0,9951	0,9970	0,9951	0,9962

Pelos dados apresentados, verificou-se que a distribuição das frequências não acumuladas é assimétrica para as duas variáveis, sendo os valores de média, mediana e moda diferentes entre si. Nota-se que para os tratamentos, a assimetria é positiva, pois os valores de média e de mediana são superiores ao valor modal (valor com maior frequência na amostra), ou seja, estão à direita da moda.

Os resultados obtidos pelo modelo, encontram-se nas Figuras 12 e 13. No gráfico de frequência acumulada foram incluídos os dados originais de massa fresca da testemunha e das plantas tratadas, indicando a precisão do modelo ajustado. A concavidade das curvas demonstrou a uniformidade das amostras, uma vez que quanto mais plana a curva, maior é a frequência de valores extremos, caracterizando maior variabilidade, como visto para a subdose aplicada.

Com esses resultados, foi possível verificar que houve maior variabilidade nas plantas tratadas em relação à testemunha, tendo em vista a diversidade dos valores de massa fresca (% da testemunha) das plantas, que variaram de 40 a 180 para as plantas que receberam a aplicação (Figura 12). Portanto, pode-se inferir que a dose que promoveu estímulo de crescimento nas plantas também promoveu inibição de crescimento.

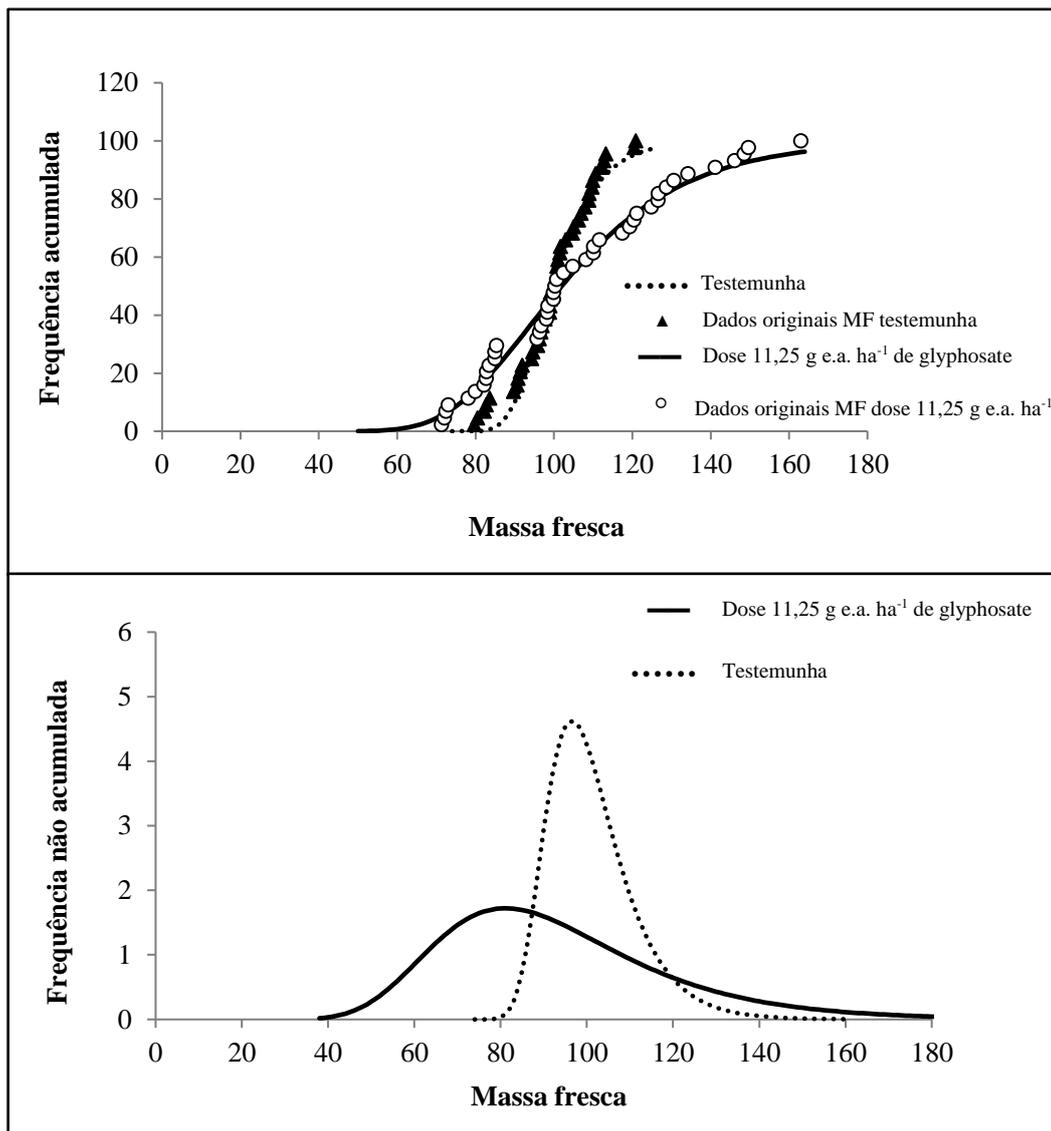


Figura 12: Frequência acumulada e frequência não acumulada das plantas de *B. decumbens*, que corresponde à primeira derivada do modelo de Gompertz para a dispersão do valor de massa fresca (% da testemunha) em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Na Figura 13 estão apresentados os dados das frequências acumuladas e não acumuladas em função da massa fresca (% da média) das plantas de *B. decumbens*. A assimetria para os tratamentos é positiva, ou seja, os valores de média e mediana são maiores que o valor modal, estando, portanto, à direita da moda.

Para as curvas de frequências acumuladas estão apresentados os dados originais de massa fresca (% da média) para indicar a precisão do modelo.

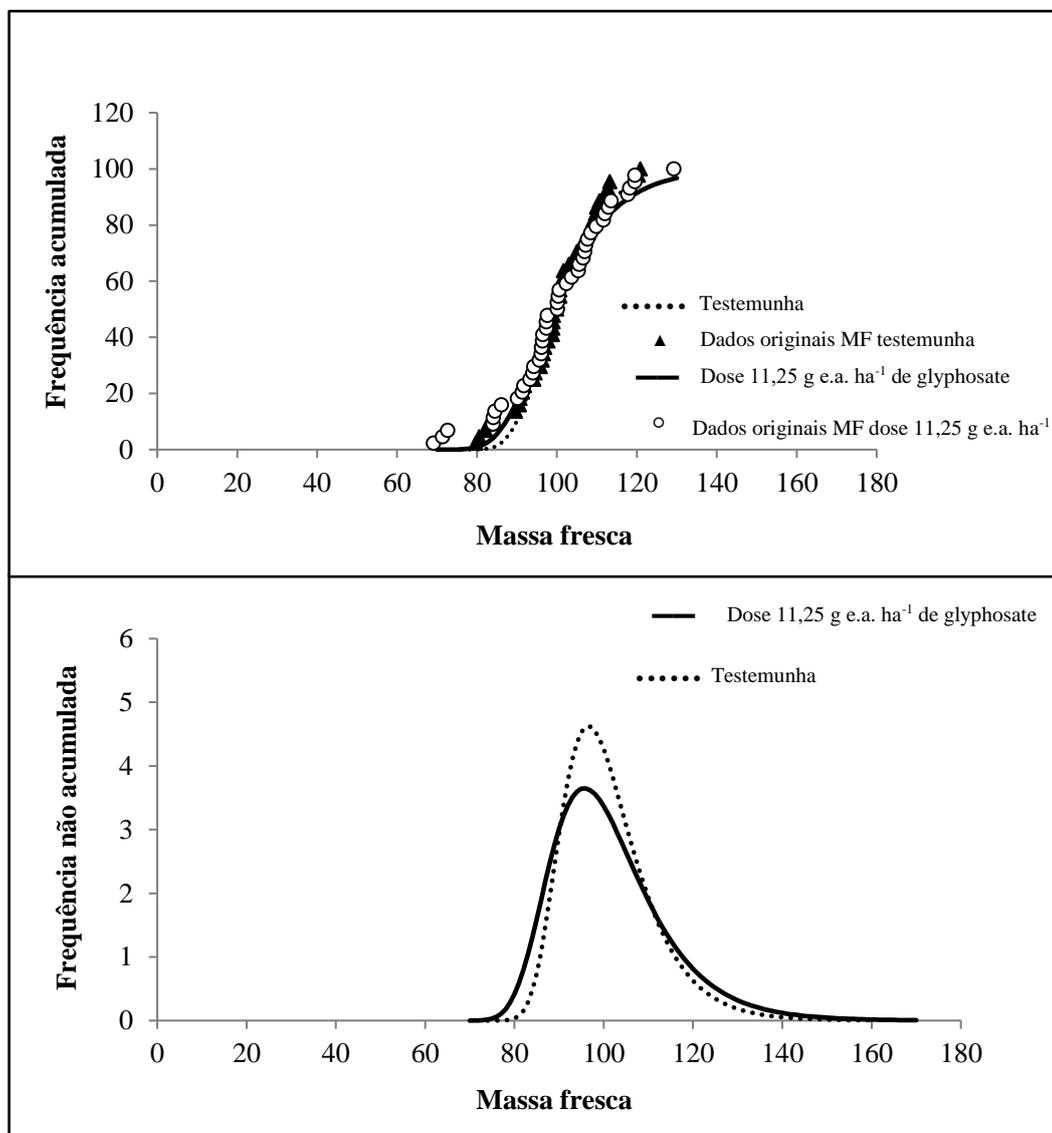


Figura 13: Frequência acumulada e frequência não acumulada das plantas de *B. decumbens*, que corresponde à primeira derivada do modelo de Gompertz para a dispersão do valor de massa fresca (% da média) das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Como a assimetria é positiva, as curvas de regressão têm tendência a subir rapidamente e descer lentamente (ARALDI et al., 2013). Os valores de massa fresca (% da média) apresentaram comportamento mais homogêneo em comparação aos resultados anteriores, com concavidades mais similares entre as curvas de testemunha e da subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, ainda que para as plantas tratadas exista maior variabilidade.

O intervalo de doses que promovem o estímulo e a amplitude de respostas variam entre espécies, podendo, no entanto, variar nos diferentes estádios de desenvolvimento dentro da mesma espécie (MESCHEDE et al., 2008; CARVALHO et al., 2013).

Na avaliação de distribuição de frequências não acumuladas para massa seca das plantas de *B. decumbens*, as mesmas apresentaram distribuição assimétrica. As medidas de posição média, mediana e moda são diferentes entre os tratamentos testemunha (T1) e dose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (T2), sendo superiores ao valor modal, portanto, essa distribuição é assimétrica positiva (Tabela 12).

Para as variáveis estudadas, os coeficientes de determinação foram superiores a 0,99, indicando a precisão dos ajustes efetuados entre as frequências não acumuladas (expressa em porcentagem) e massa seca (% da testemunha e % da média) ajustadas pelo modelo de Gompertz.

Tabela 12. Estimativas dos parâmetros do modelo de Gompertz para a correlação de massa seca de plantas de *Brachiaria decumbens* % da testemunha e % da média das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Modelo		% da testemunha		% da média	
		T1	T2	T1	T2
Estimativas dos parâmetros	b	-9,2840	-3,9679	-9,2840	-8,6994
	c	0,0975	0,0446	0,0975	0,0917
Média		100	101,35	100	100
Mediana		98,98	97,19	98,98	98,87
Moda		95,22	88,97	95,22	94,87
R ²		0,9952	0,9979	0,9952	0,9959

No gráfico de frequência acumulada foram incluídos os dados originais de massa seca da testemunha e das plantas tratadas, indicando a precisão do modelo ajustado. Através das curvas de frequência, foi possível identificar que houve maior variabilidade entre os valores de massa seca em % da testemunha do tratamento com a subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate em relação à testemunha (Figura 14).

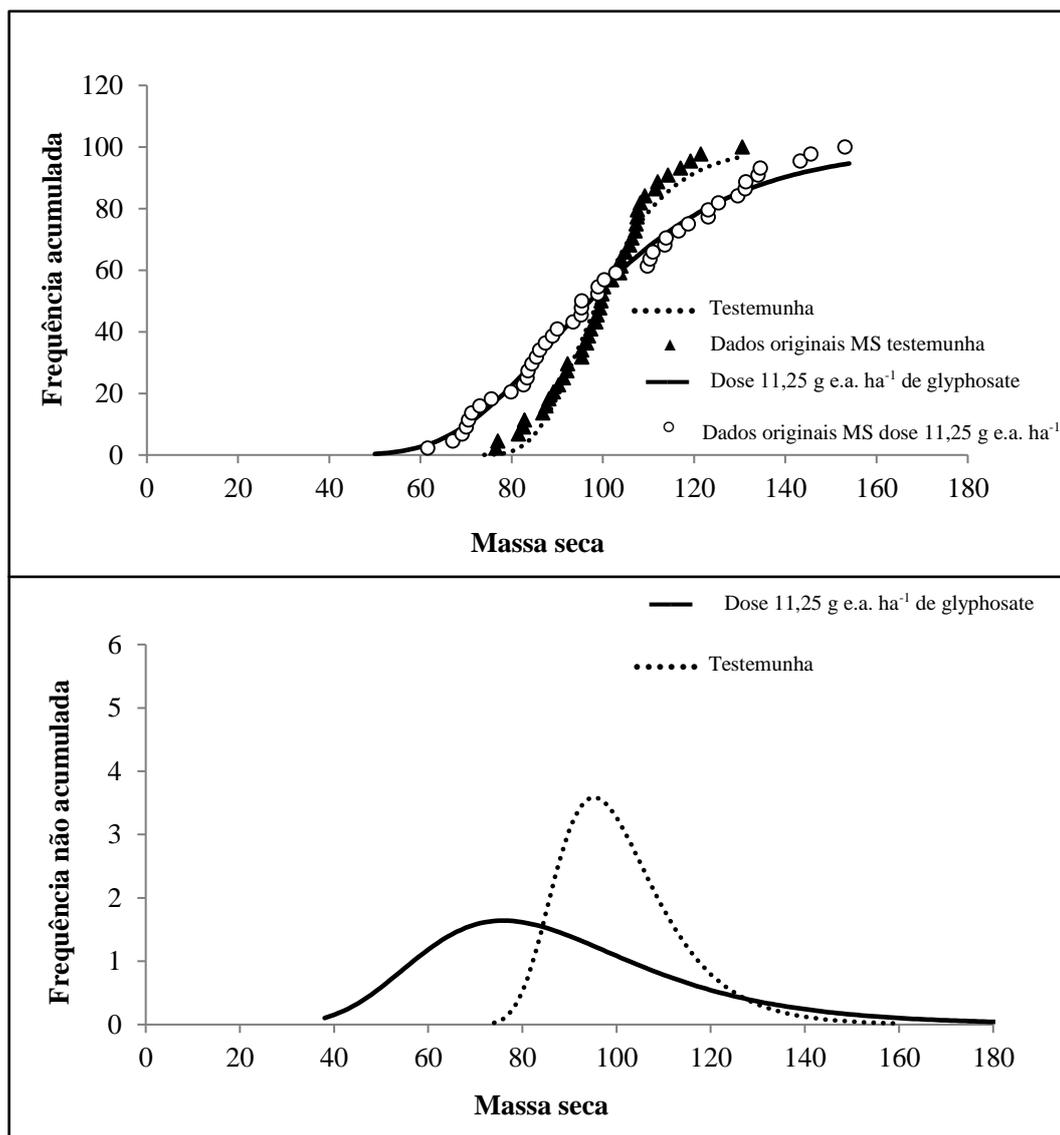


Figura 14: Frequência acumulada e frequência não acumulada das plantas de *B. decumbens*, que corresponde à primeira derivada do modelo de Gompertz para a dispersão do valor de massa seca (% da testemunha) em função das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Nota-se, conforme o modelo ajustado, a dispersão das médias de massa seca à aplicação dos tratamentos, tendo em vista a diversidade desses valores obtidos para as plantas avaliadas, que variaram de 40 a 180 de massa seca (% da testemunha). A aplicação da mesma dose pode provocar diferentes respostas nas plantas. Dessa forma, os dados ajustados permitiram inferir que a dose aplicada no experimento, além de promover estímulo de crescimento nas plantas, também promoveu inibição.

Na Figura 15 são apresentados os dados das frequências acumuladas e frequências não acumuladas em função da massa seca (% da média) das plantas de *B. decumbens*. A assimetria para os tratamentos é positiva, ou seja, os valores de média e mediana são maiores que o valor modal, estando, portanto, à direita da moda.

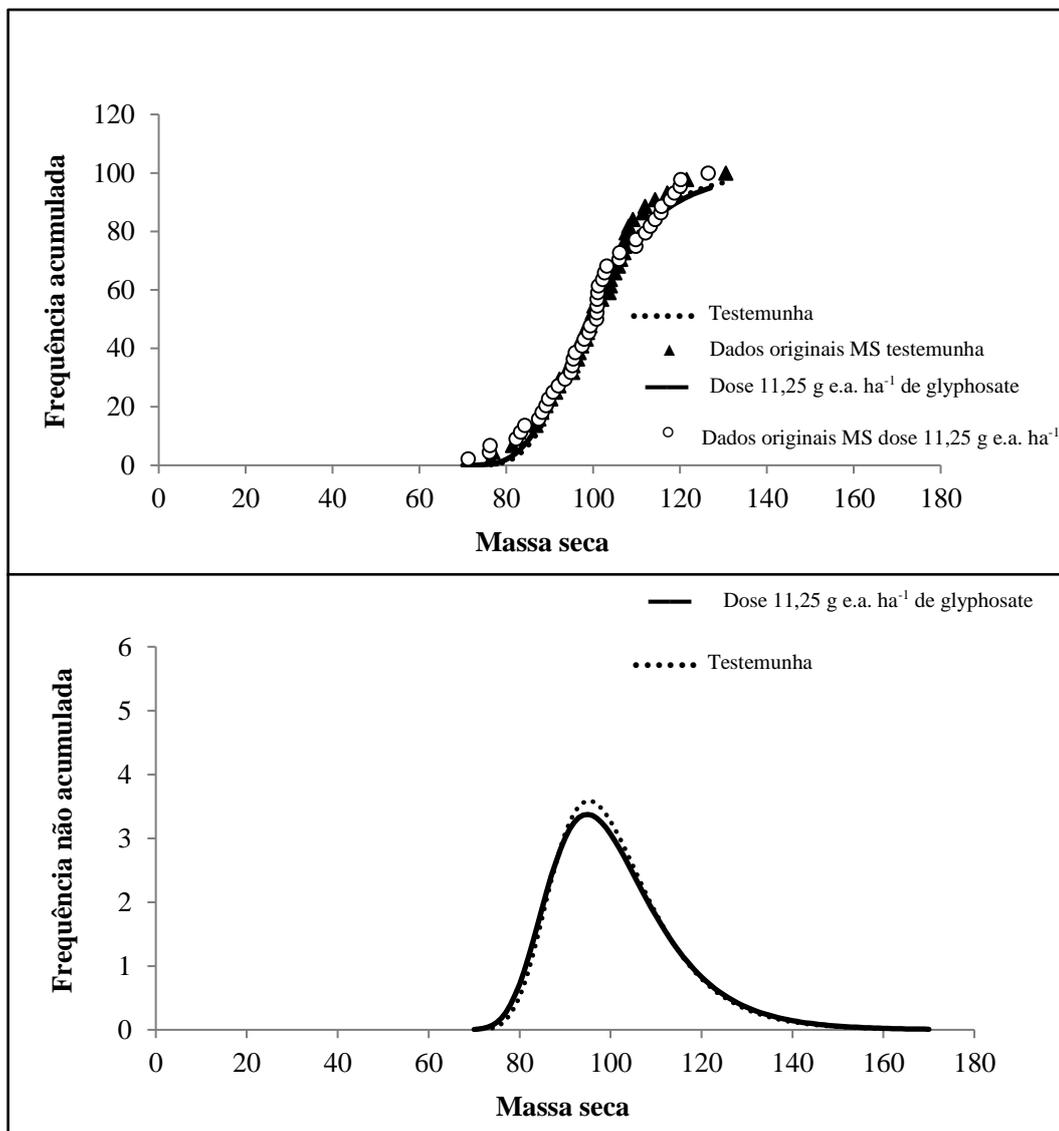


Figura 15: Frequência acumulada e frequência não acumulada das plantas de *B. decumbens* que corresponde à primeira derivada do modelo de Gompertz para a dispersão do valor de massa seca (% da média) das doses de glyphosate (g e.a. ha⁻¹).

Os dados de massa seca (% da média) apresentaram comportamento mais homogêneo que os resultados anteriores, com concavidades mais similares entre as

curvas de frequência não acumulada de testemunha e subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, em relação às curvas das frequências não acumuladas para massa seca. No entanto, para as plantas que receberam a aplicação ainda possui maior variabilidade quanto às plantas sem aplicação, mesmo sendo pouco significativa.

Carbonari et al. (2007b) constataram que a subdose de 3,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate estimulou o crescimento, promovendo maior número de ramos laterais em eucalipto, reafirmando que a subdose ideal de glyphosate varia de acordo com a cultura. Comportamento similar foi encontrado nesse estudo, no qual as plantas que receberam a aplicação da subdose de glyphosate apresentaram maior perfilhamento que as plantas que não receberam a aplicação. Essa observação é interessante, porém não foi realizada a avaliação. De qualquer modo, para pesquisas futuras é uma informação que deve levar-se em consideração para avaliar outras respostas das plantas ao efeito hormesis.

Para o aumento da biomassa, que varia entre 10 e 25 % dentro de uma semana ou mais, as plantas devem aumentar também as taxas de fotossíntese ou diminuir as taxas de respiração em resposta às baixas doses de glyphosate. O mecanismo fisiológico implícito nessa mudança aparente do crescimento é atualmente desconhecido (CEDERGREEN; OLESEN, 2010).

As plantas do gênero *Brachiaria* por se reproduzirem por apomixia, geram indivíduos que são clones da planta-mãe. Devido a essa característica, são plantas consideradas geneticamente estáveis, dificultando o aumento da variabilidade entre elas. No entanto, o estudo mostrou que apesar dessa característica ser predominante, ainda existe variabilidade acentuada no comportamento das plantas.

Portanto, mesmo em condições controladas, as respostas das plantas ao efeito hormesis apresentam variação. O estágio de crescimento da planta e estado fisiológico à exposição às baixas doses podem afetar significativamente a qualidade e quantidade das características das respostas ao efeito (BELZ; DUKE, 2014).

7 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os estudos, pode-se concluir:

As plantas de *B. decumbens* foram controladas na faixa de doses entre 45 e 90 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate.

As doses de 22,5 e 45 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate reduziram o crescimento das plantas de *B. decumbens*.

A aplicação de baixas doses de glyphosate promoveu o aumento na biomassa das plantas de *B. decumbens*, sendo os valores máximos de massa fresca e massa seca verificados na subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate.

No estudo de subdose de glyphosate com efeito hormesis a aplicação da subdose de 11,25 g e.a. ha⁻¹ promoveu tanto estímulo quanto inibição de crescimento, demonstrando haver variabilidade de resposta das plantas à essa subdose.

8 REFERÊNCIAS

AHSAN, N. et al. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 1062-1070, 2008.

ALVEZ, L. W. R.; SILVA, J. B.; SOUZA, I. F. Efeito da aplicação de subdoses dos herbicidas glyphosate e oxyfluorfen, simulando deriva sobre a cultura do milho (*Zea Mays* L.). **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 24, n. 4, p. 887-897, 2000.

AMRHEIN, N. et al. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate II. Interference of glyphosate with chorismate formation *in vivo* and *in vitro*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 66, n. 5, p. 830- 834, 1980.

ARALDI, R. et al. Variação do tamanho de sementes de plantas daninhas e sua influência nos padrões de emergência das plântulas. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 117-126, 2013.

BALASUBRAMANIAN, S.; ABELL, C.; COGGINS, J. R. Observation of an isotope effect in the chorismate synthase reaction. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 112, n. 23, p. 8581-8583, 1990.

BARCELO, J.; POSCHENRIEDER, C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 48, n. 1, p. 75-92, 2002.

BAYLIS, A. D. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. **Pest Management Science**, v. 56, n. 4, p. 299-308, 2000.

BECERRIL, J. M.; DUKE, S. O.; LYDON, J. Glyphosate effect on shikimate pathway products in leaves and flowers of velvetleaf. **Phytochemistry**, v. 28, n. 3, p. 695-699, 1989.

BELZ, R. G.; CEDERGREEN, N. Parthenin hormesis in plants depends on growth conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 69, n. 3, p. 293-301, 2010.

BELZ, R. G.; CEDERGREEN, N.; DUKE, S. O. Herbicide hormesis—can it be useful in crop production? **Weed Research**, v. 51, n. 4, p. 321-332, 2011.

BELZ, R. G.; DUKE, S. O. Herbicides and plant hormesis. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 698-707, 2014.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 41 p.

BIANCO, S.; TONHÃO, M. A. R.; PITELLI, R. A. Crescimento e nutrição mineral de capim-braquiária. **Planta Daninha**, v. 23, n. 3, p. 423-428, 2005.

BOUDET, A. M.; GRAZIANA, A.; RANJEVA, R. Recent advances in the regulation of the prearomatic pathway. In: VAN SUMERE, C. F.; LEA, P. J. (Eds.). **Annual proceedings of the Phytochemical Society of Europe**, Oxford: Clarendon Press, 1985. v. 25, p. 135-159.

BRAIN, P.; COUSENS R. An equation to describe dose–responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Research**, v. 29, n. 2, p. 93–96, 1989.

BRANHAM, S. E. The effects of certain chemical compounds upon the course of gas production by baker's yeast. **Journal of bacteriology**, v. 18, n. 4, p. 247-264, 1929.

BRESNAHAN, G. A. et al. Glyphosate applied preharvest induces shikimic acid accumulation in hard red spring wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 14, p. 4004-4007, 2003.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. 3 ed. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

BURGOS, N. R. et al. Review: confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. **Weed Science**, v. 61, n. 1, p. 4–20, 2013.

CALABRESE, E. J. et al. Biological stress response terminology: integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose–response framework. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 222, n. 1, p. 122-128, 2007.

CALABRESE, E. J. Paradigm lost, paradigm found: The reemergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. Geneva, **Environmental Pollution**, v. 138, n. 3, p. 378-411, 2005.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis: the dose- response revolution. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 175-197, 2003.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Applications of hormesis in toxicology, risk assessment and chemotherapeutics. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 7, p. 331-337, 2002b.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. **Human & experimental toxicology**, v. 21, n. 2, p. 91-97, 2002a.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 31, p. 353-424, 2001.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. The marginalization of hormesis. **Human & experimental toxicology**, v. 19, n. 1, p. 32-40, 2000.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis as a biological hypothesis. **Environmental Health Perspectives**, v. 106, n. Suppl 1, p. 357-362, 1998.

CARBONARI, C. A.; MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D. Acúmulo de fósforo em plantas de eucalipto submetidas a aplicação de diferentes doses de glyphosate. In: I Simpósio Internacional sobre Glyphosate, 2007, Botucatu. **Anais...**, Botucatu, SP, 2007a. p. 71-73.

CARBONARI, C. A.; MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D. Efeito da aplicação de glyphosate no crescimento inicial de mudas de eucalipto submetidas a dois níveis de adubação fosfatada. In: I Simpósio Internacional sobre Glyphosate, 2007, Botucatu. **Anais...**, Botucatu, SP, 2007b. p. 68-70.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S. O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 2, p. 813-822, 2013.

CASELEY, J. C.; COUPLAND, D. Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake movement and acidity. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. A. (Ed.). **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. p. 92-123.

CEDERGREEN, N. et al. Chemical stress can increase crop yield. **Field Crops Research**, v. 114, n. 1, p. 54-57, 2009.

CEDERGREEN, N. et al. The occurrence of hormesis in plants and algae. **Dose-response**, v. 5, n. 2, p. 150-162, 2007.

CEDERGREEN, N. Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? **Environmental Pollution**, v. 156, n. 3, p. 1099-1104, 2008.

CEDERGREEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 140-148, 2010.

COX, C. Glyphosate (Roundup). **Journal of Pesticide Reform**, Fall, v. 18, n. 3, p. 10-15, 1998.

CUNHA, C. S. M. **Comparação de métodos na detecção de sementes de soja geneticamente modificada, tolerante ao glifosato**. 2004. 24f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

CYPSER, J. R.; JOHNSON, T. E. Multiple stressors in *Caenorhabditis elegans* induce stress hormesis and extended longevity. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 57, n. 3, p. B109-B114, 2002.

DELLACIOPPA, G. et al. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. **Proceedings of National Academy of Sciences USA**, v. 83, n. 18, p. 6973-6877, 1986.

DENIS, M. H.; DELROT, S. Carrier-mediate uptake of glyphosate in broad bean (*Vicia faba*) via a phosphate transporter. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 87, n. 4, p. 569-575, 1993.

DEVINE, M. D.; BANDENN, J. D.; MCKERSIE, B. D. Temperature effects on glyphosate absorption, translocation and distribution quackgrass (*Agropyron repens*). **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 4, p. 461-464, 1993.

DICK, R. E.; QUINN, J. P. Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 43, n. 3, p. 545-550, 1995.

DILL, G. M. Glyphosate-resistant crops: history, status and future. **Pest Management Science**, New York, v. 61, n. 3, p. 219-224, 2005.

DUKE, S. O. et al. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? **Outlooks on Pest Management**, v. 17, n. 1, p. 29-33, 2006.

DUKE, S. O. et al. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 51, n. 1, p. 340-344, 2003.

DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 319-325, 2008.

FAGUNDES, J. L. et al. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliadas nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 21-29, 2006.

FEINENDEGEN, L. E.; NEUMANN, R. D. Physics must join with biology in better assessing risk from low-dose irradiation. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 117, n. 4, p. 346-356, 2005.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant, Cell & Environment**, v. 31, n. 5, p. 602-621, 2008.

FORBES, V. E. Is hormesis an evolutionary expectation?. **Functional Ecology**, v. 14, n. 1, p. 12-24, 2000.

FRANZ, J. E.; MAO, M. K.; SIKORSKI, J. A. Uptake, transport and metabolism of glyphosate in plants. In: **Glyphosate: a unique global herbicide**. Washington: American Chemical Society, 1997. p. 143-181.

FURLANI JUNIOR, E. et al. Efeito de subdoses de glyphosate na produtividade do algodoeiro. In: VII Congresso brasileiro do algodão, 2009, Foz do Iguaçu. **Anais do VII Congresso brasileiro do algodão**. Campina Grande, MS: EMBRAPA, 2009. p. 1295-1300.

GALLI, A. J. B. A molécula glyphosate e a agricultura brasileira. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 17-19.

GAZZIERO, D. L. P. et al. Glyphosate deposition for weed control in transgenic soybean. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 173–181, 2006.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. **Reviews of Environmental Contamination Toxicology**, v. 167, p. 35-120, 2000.

GODOY, M. C. **Efeitos do glyphosate sobre o crescimento e absorção do fósforo pela soja**. 2007. 42 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura). Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (*Conyza spp.*) resistentes ao glyphosate**. 2014. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

GOMES, G. L. G. C. **Alterações metabólicas de plantas de milho submetidas à aplicação de glyphosate e fosfito**. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 115, p. 513-583, 1825.

GOULART, J. C. et al. Número cromossômico de acessos de *Brachiaria*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4, 2006, São Lourenço. **Resumo...** Lavras: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.

GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. **The Herbicide Glyphosate**. London: Butterworth, 1985. 490p.

HALTER, S. História do herbicida agrícola glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate**. 1 ed. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 11-16. 2009.

HASLAM, E. **Shikimic acid: metabolism and metabolites**. Chinchester, UK: John Wiley, 1993. 392 p.

HAWKES, T. R. et al. Chorismate synthase, presteady-state kinetics of phosphate release from 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate. **Biochemical Journal**, London, v. 265, n. 3, p. 899-902, 1990.

HERNANDEZ, A.; GARCÍA-PLAZAOLA, J. I.; BECERRIL, J. M. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merr.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 7, p. 2920-2925, 1999.

HERRMANN, K. M. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 7, p. 907-919, 1995.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, n. 1, p. 473-503, 1999.

HESS, F. D. Herbicide effects on plant structure, physiology, and biochemistry. In: ALTMAN, J. **Pesticide interactions in crop production beneficial and deleterious effects**. London: CRC Press, 1993, 579 p.

JENSEN, R. A. The shikimate arogenate pathway- link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 66, n. 1, p. 164-168, 1986.

KAPPES, C. et al. Resposta da crotalária a épocas e subdoses de aplicação de glifosato. **Bioscience Journal**, p. 373-383, 2012.

KIRKWOOD, R. C.; MCKAY, I. Accumulation and elimination of herbicides in select crop and weed species. **Pesticide Science**, New York, v. 42, p. 241-249, 1994.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: Basf Brasileira, 1997. p. 415- 420.

KOGER, C. H. et al. Rice (*Oryza sativa*) response to drift rates of glyphosate. **Pest Management Science**, v. 61, n. 12, p. 1161-1167, 2005.

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

LACERDA, A. L. S.; VICTORIA FILHO, R. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glyphosate. **Bragantia**, v. 63, n. 1, p. 73-79, 2004.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000. 624 p.

LUCHINI, L. C. Considerações sobre algumas propriedades físico-químicas do glyphosate. In: VELINI, E.D. et al. **Glyphosate**. 1 ed. Botucatu: FEPAF, 2009. v. 1, p. 21-30.

LYDON, J.; DUKE, S. O. Glyphosate induction of elevated levels of hydroxybenzoic acids in higher plants. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 813- 818, 1988.

MARAFON, A. C. **Análise quantitativa de crescimento em cana-de-açúcar: uma introdução ao procedimento prático**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2012. 29 p.

MARÍA, N. et al. New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: role of shikimate accumulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 54, n. 7, p. 2621-2628, 2006.

MARÍA, N.; FELIPE, M. R.; FERNANDEZ-PASCUAL, M. Alterations induced by glyphosate on lupin photosynthetic apparatus and nodule ultrastructure and some oxygen diffusion related proteins. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 43, n. 10-11, p. 985-996, 2005.

MARQUES, R. P. **Características anatômicas foliares e controle químico em pós-emergência de *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria plantaginea***. 2009. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

MATALLO et al. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. SPE, p. 987-994, 2009.

McDONALD, L. M.; MORGAN, T.; KINGSTON, G. Chemical ripeners: na opportunity for the Australian sugar industry. In: **Proceedings of the 2000 Conference of the Australian Society of Sugar Cane Technologists held at Bundaberg, Queensland, Australia, 2 May to 5 May 2000**, Sugarcane Technology, v. 22, p. 290-295, 2000.

MELHORANÇA FILHO, A. L. et al. Efeito de glyphosate sobre características produtivas em cultivares de soja transgênica e convencional. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 322-333, 2010.

MERVOSH, T. L.; BALKE, N. E. Effects of calcium, magnesium and phosphate on glyphosate absorption by cultured plant cells. **Weed Science**, Champaign, v. 39, n. 3, p. 347-353, 1991.

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A. Baixas doses de glyphosate e seus efeitos no crescimento de *Commelina benghalensis*. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 7, n. 2, p. 53-58, 2008.

MONQUERO, P. A. et al. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MONTEIRO, L. C. et al. *Brachiaria decumbens* intraspecific hybrids: characterization and selection for seed production. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 1, p. 62-67, 2016.

MORIN, F. et al. Glyphosate uptake in *Catharanthus roseus* cells: role of a phosphate transporter. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 58, n. 1, p. 13-22, 1997.

MOUSDALE, D. M.; COGGINS, J. R. Amino acid synthesis. In: KIKWOODD, R.C. **Target Sites for herbicide actions**. Glasgow: University of Strathclyde, 1991, p. 29-56.

NASCENTES, R. F. et al. Hormesis de glyphosate em *Brachiaria brizanta* cv. Marandu. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas. ISSN**, v. 2178, p. 7662, 2015.

NELSON, K. A.; RENNER, K. A.; HAMMERSCHMIDT, R. Effects of protoporphyrinogen oxidase inhibitors on soybean (*Glycine max* L.) response, *Sclerotinia sclerotiorum* disease development, and phytoalexin production by soybean. **Weed Technology**, v. 16, n. 2, p. 353-359, 2002.

NEUMANN, G. et al. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **Journal Plant Disease Protection**, v. 20, p. 963-970, 2006.

ORCARAY, L. et al. The possible role of quinate in the mode of action of glyphosate and acetolactate synthase inhibitors. **Pest Management Science**, New York, v. 66, n. 3, p. 262-269, 2010.

PARSONS, P. A. Metabolic efficiency in response to environmental agents predicts hormesis and invalidates the linear No-Threshold Premise: Ionizing radiation as a case study. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 33, n. 3-4, p. 443-449, 2003.

PETERSON, C. A.; DE WILDT, P. P. O.; EDGINGTON, C. V. A rationale for the ambimobile translocation of the nematicide oxyamyl in plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 1978.

PETERSON, M. I. et al. New simplified inhibitors of EPSP synthase: The importance of ring size for recognition at the shikimate 3-phosphate site. **Bioorganic. & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 6, n. 23, p. 2853-2858, 1996.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Retenção e mobilidade de defensivos agrícolas no solo. In: ALLEONI, L. R. F.; REGITANO, J. B. (Ed.) **Apostila do simpósio sobre dinâmica de defensivos agrícolas no solo: aspectos práticos e ambientais**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2002. p. 57-69.

PRESTON, C.; WAKELIN, A. M. Resistance to glyphosate from altered herbicide translocation patterns. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 372-376, 2008.

QUEIROZ, J. R. G. et al. Eficiência da aplicação da mistura de glyphosate com saflufenacil sobre plantas de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2014.

REAM, J. E. et al. EPSP synthase: binding studies using isothermal titration microcalorimetry and equilibrium dialysis and their implications for ligand recognition and kinetic mechanism. **Biochemistry**, v. 31, n. 24, p. 5528-5534, 1992.

REDDY, K. N. et al. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, n. 6, p. 2125- 2130, 2008.

REDDY, K. N.; BELLALLOUI, N.; ZABLOTOWICZ, R. M. Glyphosate effect on shikimate, nitrate reductase activity, yield, and seed composition in corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 58, n. 6, p. 3646-3650, 2010.

REGITANO, J. B.; CASTRO, N. R. A. Sorção e dessorção do glyphosate no solo. In: VELINI, E.D. et al. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 153-178.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina: Ed dos autores, 2011. 84 p.

SAGAN, L. A. Radiation hormesis: evidence for radiation stimulation and speculation regarding mechanisms. **International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry**, v. 37, n. 2, p. 313-317, 1991.

SANTOS, E. D. G. et al. Avaliação de pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf. 1. Características químico-bromatológicas da forragem durante a seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 203-213, 2004.

SANTOS, M. V. et al. Controle de *Brachiaria brizantha*, com uso do glyphosate, na formação de pastagem de Tifton 85 (*Cynodon* spp.). **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 149-155, 2007.

SATICHIVI, N. M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, Champaign, v. 48, n. 6, p. 675-679, 2000.

SCHANBENBERGER, O.; KELLS, J. J.; PENNER, D. Statistical tests for hormesis and effective dosage in herbicide dose-response. **Agronomy Journal**, Madison, v. 91, p. 713-721, 1999.

SCHMIDT, R. R. HRAC Classification of herbicides according to mode of action. In: **1997 Brighton Crop Protection Conference: Weeds. Proceedings of na International Conference, Brighton, UK, 17-20 November, 1997**. British Crop Protection Council, 1997. p. 1133-1140.

SILVA, F. M. L. et al. Low doses of glyphosate change the responses of soyabean to subsequent glyphosate treatments. **Weed Research**, v. 56, p. 124-136, 2015a.

SILVA, R. et al. Interferência de subdoses de glyphosate nas trocas gasosas em picão-preto e trapoeraba. **Global Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 31-39, 2015b.

SINGH, B. K.; SHANER, D. L. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. **Weed Technology**, Champaign, v. 12, n. 3, p. 527-530, 1998.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS (SBCPD). **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina, PR, 1995. 42 p.

SOUTHAM, C. M.; EHRLICH, J. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. **Phytopathology**, v. 33, p. 517-524, 1943.

SOUZA, A. P. et al. Uso da equação logística no estudo de dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. **Planta Daninha**, v. 18, n. 1, p. 17-28, 2000.

SOUZA, L. S. et al. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v. 24, p. 657-668, 2006.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIOMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha** v. 21, n. 3, p. 343- 354, 2003.

SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PALLADINI, L. A. Methodological aspects for spray analysis by punctual deposit determination. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 195-202, 2007.

SPURRIER, E. C. Glyphosate: a new broad spectrum herbicide. **PANS Pest Articles & News Summaries**, v. 19, n. 4, p.607-612, 1973.

STEBBING, A. R. D. Tolerance and hormesis – increased resistance to copper in hydroids linked to hormesis. **Marine Environmental Research**, v. 54, n. 3, p. 805-809, 2002.

STEINRUCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid 3- phosphate synthase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 94, n. 4, p. 1207-1212, 1980.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, v. 30, n. 2, p. 195-204, 2006.

TIMOSSI, P. C.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Eficácia de glyphosate em plantas de cobertura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 475-480, 2006.

VALLE, C. B.; SAVIDAN, Y. H. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J. W; MAASS, B. L; VALLE, C. B.; KUMBLE, V. (Eds.). **Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement**, Cali: CIAT; Campo Grande: EMBRAPA-CNPQC, 1996. p. 147-163.

VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Biochemical basis of herbicide resistance. In: **Herbicide Resistance- Brassinosteroids, gibberellins, plant growth regulators**. Springer Berlin Heidelberg, 1991. v. 7, p. 141-169.

VELINI, E. D. et al. Características e usos do glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate: uso sustentável**. Botucatu: FEPAF, 2012. 213 p.

VELINI, E. D. et al. Growth regulation and other secondary effects of herbicides. **Weed Science**, v. 58, n. 3, p. 351-354, 2010.

VELINI, E. D. et al. Modo de ação de glyphosate. In: VELINI, E.D. et al. **Glyphosate**. 1 ed. Botucatu: FEPAF, 2009. v. 1, p. 113-134.

VELINI, E. D. et al. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 489-496, 2008.

VELINI, E. D. et al. Subdose de Glyphosate estimulam o crescimento de plantas daninhas e cultivadas. In: **Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**. 2006, Brasília. Resumos. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 2006. p. 210.

VELINI, E. D. **Estudos e desenvolvimento de métodos experimentais e amostrais adaptados à matologia**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 250 p. 1995.

WAGNER, R.; KOGAN, M.; PARADA, A. M. Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). **Weed Biology and Management**, Kyoto, v. 3, p. 228-232, 2003.

WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides: present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 87, n. 1, p. 1-8, 2007.

WEBER, A. P. M.; SCHWACKE, R.; FLUGGE, U. I. Solute transporters of the plastid envelope membrane. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 56, p. 133-164, 2005.

WIEDMAN, S. J.; APPLEBY, A.P. Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. **Weed Research**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 65-74, 1972.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup® and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 31, n. 2, p. 117-65, 2000.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **Informações Agronômicas**, n. 119, p. 1-32, 2007.