UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

RENATO NUNES COSTA

HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CAFÉ: RESPOSTAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Botucatu

2020

RENATO NUNES COSTA

HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CAFÉ: RESPOSTAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

Botucatu

2020

C837h

Costa, Renato Nunes
Hormesis de glyphosate em café: respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas / Renato Nunes Costa. -- Botucatu, 2020
101 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu
Orientador: Caio Antonio Carbonari

1. Efeito hormético. 2. Subdoses. 3. Estímulo de crescimento. 4. Fotossíntese. 5. Ácido chiquímico. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

FCA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
UNESP | BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CAFÉ: RESPOSTAS MORFOLÓGICAS, FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

AUTOR: RENATO NUNES COSTA
ORIENTADOR: CAIO ANTONIO CARBONARI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI (Participaçao Virtual)
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI (Participaçao Virtual)
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP

Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA (Participaçao Virtual)
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. RAFAEL MUNHOZ PEDROSO (Participaçao Virtual)
Produção Vegetal / Escola Superior de Agricultura

Dr. MARCELO ROCHA CORRÊA (Participaçao Virtual)
. / TechField Assessoria & Consultoria Agrícola e Ambiental

Botucatu, 17 de dezembro de 2020

Aos meus amados pais Ana Lucia Nunes e Eduardo

Ribeiro Costa e irmãos Saulo e Valéria

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em cada momento da minha vida me dando força e coragem para enfrentar as dificuldades.

Aos meus pais Ana e Eduardo e aos irmãos Saulo e Valeria, pelo apoio incondicional;

Aos professores Caio Antonio Carbonari e Edivaldo Domingues Velini pela orientação, atenção, contribuição, e incentivo para a realização deste trabalho e pelo conhecimento, confiança e oportunidades compartilhadas durante este período;

Aos amigos do NUPAM em especial, Bruno, Fábio, Natalia, Vinicius e Victor pelos momentos de descontração e pela contribuição efetiva para a conclusão deste trabalho.

Aos amigos e funcionários do laboratório NUPAM, José Roberto, José Guilherme e Marcelo Siono por toda a ajuda durante este período.

Ao Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM) por toda estrutura e condições de trabalho proporcionadas durante estes anos de estudo.

A Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA – UNESP Botucatu), ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Agricultura e a todos os docentes que fizeram parte desta formação;

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil, pela bolsa de estudos concedida. Código de Financiamento 001.

Aos membros da banca pelas contribuições de extrema importância para o aperfeiçoamento deste trabalho;

Aos amigos Charles, Carlos, Dayane, Eduardo, Fernando, Irineu, Jamyson, Jania, João Carlos, Lucas, Luís, Marcela, Márcio, Osvaldir, Pedro, Vitor e Wilson pelo apoio e momentos de descontração;

E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

RESUMO

Na cafeicultura, a utilização do glyphosate constitui uma das principais ferramentas no manejo de plantas daninhas, porém o contato direto com o produto, a depender da taxa de exposição, pode comprometer o crescimento e rendimento da cultura. O glyphosate é um herbicida não seletivo de ação sistêmica, que ao inibir a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) compromete a produção de aminoácidos aromáticos essenciais e, consequentemente, o crescimento e desenvolvimento vegetal, porém em baixas doses pode promover o estímulo de parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos das plantas, o que pode ser entendido como hormesis. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito hormético do glyphosate na morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café. Mudas de café (*Coffea arabica* cv Catuaí Vermelho IAC-144) foram transplantadas em vasos de 6 L, preenchidos com a mistura de solo e substrato. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualisado com cinco repetições e as plantas foram submetidas a dez doses de glyphosate: 0; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1}. As avaliações foram realizadas por meio de variáveis morfológicas: altura, número de folhas, acúmulo de biomassa e outros parâmetros que caracterizaram o crescimento das plantas e a dinâmica foliar; variáveis fisiológicas: análise de trocas gasosas e fluorescência da clorofila; análises bioquímicas: teor interno de glyphosate e compostos produzidos na rota do ácido chiquímico. O efeito hormético do glyphosate na morfologia de plantas de café se deu pelas variáveis altura de planta, número de folhas, área foliar, massa seca foliar, caule e total, taxa de crescimento absoluta, índice de área foliar, duração de área foliar, taxa emissão e expansão foliar que foram estimuladas pela aplicação de subdoses. As doses de 14,5 a 30 g e.a. ha^{-1}, acarretam os maiores estímulos, que por sua vez variou de 10,2 a 26,2%. Nas análises fisiológicas os maiores estímulos (14,7 a 58,7%) foram observados sobre a assimilação de CO_2, transpiração, condutância estomática, eficiência de carboxilação, eficiência intrínseca do uso da água, taxa de transporte de elétrons e eficiência fotoquímica do PSII em doses que variaram de 4,4 a 55 g e.a. ha^{-1}. Sobre as análises bioquímicas, a aplicação de subdoses de glyphosate acarretou aumento significativo na concentração do ácido quínico, ácido salicílico, ácido caféico e ácido cumárico, com estímulo máximo entre as doses de 3 a 140 g e.a. ha^{-1} a depender do composto avaliado e da época de avaliação. Desta forma, a aplicação

em baixas doses de glyphosate apresenta implicações positivas sobre a morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café.

Palavras-chave: Efeito hormético. Subdoses. Estímulo de crescimento. Fotossíntese. Ácido chiquímico.

ABSTRACT

In coffee farming, the use of glyphosate is one of the main tools in the management of weeds, however direct contact with the product, depending on the exposure rate, can compromise the growth and yield of the crop. The glyphosate is a non-selective herbicide with systemic action, which by inhibiting the enzyme 5-enolpyruvylchiquimate-3-phosphate synthase (EPSPs) compromises the production of essential aromatic amino acids and, consequently, plant growth and development, however in low doses can promote the stimulation of morphological, physiological and biochemical parameters of plants, which can be understood as hormesis. Thus, the objective was to evaluate the hormetic effect of glyphosate on the morphology, physiology and biochemistry of coffee plants. Coffee seedlings (Coffea arabica cv Catuaí Vermelho IAC-144) were transplanted in 6 L pots, filled with the mixture of soil and substrate. The treatments were arranged in a completely randomized design with five replications and the plants were subjected to ten doses of glyphosate: 0; 11.25; 22.5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 and 2880 g ae ha-1. The evaluations were carried out by means of morphological variables: height, number of leaves, accumulation of biomass and other features that characterized the growth of plants and leaf dynamics; physiological variables: analysis of gas exchange and chlorophyll fluorescence; biochemical analysis: compounds produced in the route of the shikimic acid. The hometic effect of glyphosate on coffee plants morphology was due to the variables plant height, number of leaves, leaf area, leaf dry mass, stem and total, absolute growth rate, leaf area index, leaf area duration, emission rate and leaf expansion that were stimulated by the application of underdoses. The doses of 14.5 to 30 g ae ha-1, resulted in the greatest stimuli, which ranged from 10.2 to 26.2%. In the physiological analyzes, the greatest stimuli (14.7 to 58.7%) were observed on CO2 assimilation, transpiration, stomatal conductance, carboxylation efficiency, intrinsic efficiency of water use, electron transport rate and photochemical efficiency of PSII in doses ranging from 4.4 to 55 g ae ha-1. Regarding biochemical analyzes, the application of underdoses of glyphosate resulted in a significant increase in the concentration of quinic, salicylic, caffeic and cumáric acids, with maximum stimulation between doses of 3 to 140 g ae ha-1 depending on the compound evaluated and the time of evaluation. Thus, the application in low doses of glyphosate has positive implications for the morphology and physiology of coffee plants.

Keywords: Hometic effect. Underdoses. Growth stimulus. Photosynthesis. Shikimic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rota do ácido chiquímico e produção de aminoácidos aromáticos e alguns compostos fenólicos* 27
Figura 2 - Aplicação de glyphosate sobre as plantas de café com pulverizador automatizado em ambiente fechado 36
Figura 3 - Temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação diária durante a condução dos três experimentos 37
Figura 4 – Procedimentos para determinação dos teores interno de glyphosate e dos compostos relacionados a rota do ácido chiquímico em plantas de café 42
Figura 5 – Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC) acoplado ao espectrômetro de massas (Triple Quad 4500, AB Sciex) 43
Figura 6 - Plantas de café aos 42 dias após a aplicação de glyphosate* 46
Figura 7 – Porcentagem de injúria de plantas de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate 47
Figura 8 - Número de folhas de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 49
Figura 9 - Altura de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 50
Figura 10 - Massa seca da folha, caule e total e área foliar de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate 53
Figura 11 – Taxa de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR), razão de área foliar (RAF), taxa de assimilação líquida (TAL), índice de área foliar (IAF), duração de área foliar (DAF), taxa de emissão foliar (TEMF) e taxa de expansão foliar (TEXF) de plantas de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate 57
Figura 12 – Assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de CO_2 (Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 60
Figura 13 - Eficiência de carboxilação (A/Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 63

Figura 14 - Eficiência efetiva (EEUA) e intrínseca (EIUA) do uso de água em plantas de café expostas a diferentes doses de glyphosate aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) 65
Figura 15 – Taxa de transporte de elétrons (ETR) de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 68
Figura 16 - Eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}) de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate..... 69
Figura 17 - Relação entre a taxa de transporte de elétrons (ETR) e a assimilação líquida de CO_2 (A) (ETR/A) em plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 71
Figura 18 – Concentração de glyphosate e ácido chiquímico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação de diferentes doses de glyphosate 73
Figura 19 - Concentração dos ácidos chiquímico, quínico, salicílico, caféico e cumárico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 77
Figura 20 - Concentração dos ácidos ferúlico, benzoico e clorogênico em plantas de café aos 7, 21 42 dias após aplicação de diferentes doses de glyphosate..... 81
Figura 21 - Concentração dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Época de transplante e aplicação, estádio de desenvolvimento das plantas e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação dos experimentos 1, 2 e 3. 36

Tabela 2 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para número de folhas e altura de planta de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 48

Tabela 3 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para massa seca da folha (MSF), caule (MSC) e total (MST) e área foliar café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate. 52

Tabela 4 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para taxa de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR), razão de área foliar (RAF), taxa de assimilação líquida (TAL), índice de área foliar (IAF), duração de área foliar (DAF), taxa de emissão foliar (TEMF) e taxa de expansão foliar (TEXF) de planta de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate 55

Tabela 5 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de CO_2 (Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 59

Tabela 6 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para a eficiência de carboxilação de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate 63

Tabela 7 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para eficiência efetiva (EEUA) e intrínseca (EIUA) do uso da água aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 64

Tabela 8 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para a taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate..... 67

Tabela 9 - Valores de F e coeficiente de variação (CV) para a relação ETR/A em plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate..... 70

Tabela 10 - Valores de F e coeficiente de variação (CV) para a concentração de glyphosate e ácido chiquímico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate..... 72

Tabela 11 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para concentração dos ácidos quínico, salicílico, caféico e cumárico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 75

Tabela 12 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para concentração dos ácidos ferúlico, benzoico e clorogênico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 80

Tabela 13 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate 82

Tabela 14 - Resumo do efeito hormético de glyphosate na morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café..... 86

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....21
2.1 A cultura do café.....21
2.1.1 Interferência das plantas daninhas na cultura do café e o uso do glyphosate em seu controle.....22
2.2 O herbicida glyphosate.....23
2.3 Hormesis de herbicidas em plantas.....30
2.3.1 O glyphosate no contexto da hormesis.....32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....35
3.1 Análises morfológicas e de crescimneto.....38
3.2 Análises fisiológicas.....40
3.3 Análises bioquímicas.....41
3.4 Análises dos dados.....43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....46
4.1 Análises morfológicas e de crescimento.....46
4.2 Análises fisiológicas.....58
4.3 Análises bioquímicas.....72
5 CONCLUSÕES.....87
REFERÊNCIAS.....89
APÊNDICES.....97
Apêndice A – Cromatogramas do glyphosate, ácido chiquímico, ácido quínico, ácido salicílico, ácido ferúlico e ácido cumárico gerados na concentração de 37,5 ng ml^{-1}.....97
Apêndice B - Cromatogramas do ácido benzoico, ácido caféico, ácido clorogênico, fenilalanina, tirosina e triptofano gerados na concentração de 37,5 ng ml^{-1}.....98
Apêndice C - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo) entre os experimentos realizados em duplicata para as variáveis número de folha e altura aos 7, 14, 21, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) do glyphosate99
Apêndice D - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo) entre os experimentos realizados em duplicata para as variáveis de análise de crescimento aos 42 dias após a aplicação do glyphosate...99

Apêndice E - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo), entre os experimentos realizados em duplicata, para as variáveis de trocas gasosas, eficiência do uso da água e rota alternativa de elétrons aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (daa) do glyphosate. 100
Apêndice F - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo), entre os experimentos realizados em duplicata, para as variáveis taxa de transporte de elétrons (etr) e eficiência fotoquímica do fotossistema II (ΦPSII) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (daa) do glyphosate. 101

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café, e para alcançar o máximo potencial produtivo da cultura se faz necessário a adoção de boas práticas agronômicas, o que leva o manejo de plantas daninhas como umas das práticas culturais a serem trabalhadas, pois a competição por recursos do meio (água, luz, nutrientes, espaço) é relatada como a causa direta da redução de produtividade das culturas. Neste contexto, a utilização de glyphosate é uma das principais ferramentas no manejo de plantas daninhas em café, que devido a não seletividade para a cultura a aplicação deve ser de forma dirigida, evitando o contato da cultura com o produto.

O glyphosate é um herbicida não seletivo de ação sistêmica, que atua na via do ácido chiquímico, inibindo a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como fenilalanina, tirosina e triptofano, que são precursores de outros compostos, como lignina, alcaloides, flavonoides e ácidos benzoicos, indispensáveis para a síntese de proteínas e o crescimento das plantas.

Este herbicida é utilizado no controle de plantas daninhas anuais e perenes em pré-plantio de culturas e em pós-emergência em aplicações dirigidas e área total. A aplicação de glyphosate em pós-emergência ganhou mais destaque com a adoção da biotecnologia, por meio da inserção de culturas transgênicas, permitindo o uso em área total. Porém a aplicação pós-emergente em culturas sensíveis ao herbicida é largamente utilizada por produtores e recomendada na bula do produto através da aplicação dirigida, com destaque para culturas perenes como o café. Com esta modalidade de aplicação requer mais conhecimento e maior cuidado com a tecnologia de aplicação, para evitar o contato do produto com a cultura, que a depender da concentração que seja absorvida e pelo nível de sensibilidade da planta pode levar a altos níveis de injúrias.

Além da ampla utilização do glyphosate como controle de diferentes espécies de plantas daninhas, nas mais variadas culturas, o mesmo ainda apresenta efeitos secundários, que podem potencializar o crescimento das plantas, esse resultado é denominado hormesis, o qual consiste em um efeito bifásico em que na aplicação de subdoses ocorre o estímulo de variáveis relacionadas ao crescimento e desenvolvimento vegetal, e em doses maiores ocorre diminuição da variável avaliada. Neste sentido, o uso do herbicida pode modificar características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas da planta.

A exposição das plantas a subdoses de herbicidas está relacionada com falhas na aplicação, como a deriva, e até mesmo a aplicação proposital do herbicida. No entanto, a aplicação do glyphosate como efeito estimulante não é recomendada, e os mecanismos que estão envolvidos com o efeito hormético do herbicida ainda não são amplamente conhecidos, o que leva vários pesquisadores estudarem a ação estimulante e benéfica de diversas substâncias inicialmente consideradas como tóxicas. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito hormético de glyphosate na morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Café

O cafeeiro (*Coffea arabica*) tem origem no Continente Africano, nas regiões altas da Etiópia e surge espontaneamente nos sub-bosques. Caracteriza-se pela sua boa adaptabilidade a regiões de clima tropical de altitude, com alta adaptação fisiológica, morfológica e bioquímica sobre diferentes variações ambientais o que permite seu cultivo a pleno sol ou sob sombreamento (ALVARENGA et al., 2004; DAMATTA, 2004; DAMATTA et al., 2007). O café é uma planta de ciclo fotossintético C3, apresenta baixa irradiância de saturação, e em função disto, a eficiência no crescimento e no desenvolvimento do cafeeiro pode estar relacionada com a habilidade de adaptação das plantas e as condições de intensidade luminosa do ambiente (BRAUN et al., 2007; FAHL; CARELLI, 1994).

O café pertence ao grupo de plantas Fanerógamas, classe Angiosperma, subclasse Dicotiledônea, ordem Rubiales, família das Rubiaceas, e gênero *Coffea* (MATIELLO et al., 2005). A planta de café apresenta porte arbustivo, com folhas opostas e elípticas. As flores são pequenas, brancas ou bicolores, porém pode variar de amarelado a rosa claro dependendo de algumas espécies. Nas axilas das folhas são formadas as gemas florais, em que os frutos são geralmente vermelhos quando maduros e apresentam duas sementes. De porte arbustivo ou arbóreo o cafeeiro apresenta caule lenhoso, lignificado e reto, crescimento de ramos com dimorfismo relacionado à direção (MATIELLO et al., 2005).

O gênero *Coffea* é o único de valor comercial (CASTRO; KLUGE; SESTARI, 2008). Aproximadamente 25 espécies são importantes, contudo, apenas duas são exploradas economicamente, *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (conilon) com aproximadamente 80% e 20% da produção mundial, respectivamente (CONAB, 2020).

Em termos socioeconômico, atualmente o Brasil é o maior produtor mundial de café (arábica + conilon), seguido de Vietnã, Colômbia e Indonésia. A área total cultivada no país com café totaliza 2,16 milhões hectares, na safra 2020. Desse total, 277,2 mil hectares (13,1%) estão em formação e 1,88 milhão de hectares (86,9%) em produção. A área plantada do café arábica no país soma 1,5 milhão de hectares, o que corresponde a 80% da área existente com lavouras de café, enquanto para o café

conilon a área restante é 369,6 mil hectares (20%). Os estados com maior área (formação+produção) são: Minas Gerais (56,7%), Espirito Santo (19,8%), São Paulo (9,9%), Bahia (6,4%) e Rondônia (3,4%) (CONAB, 2020). Em termos de produção, estima-se para a safra 2020 uma produção de 61,6 milhões de sacas beneficiadas, sendo 47,4 milhões de café arábica (77%) e 14,2 milhões de conilon (23%). Os estados com maior produção são: MG (54%), ES (22 %), SP (10%), BA (5%) e RO (3%). Espera-se para esta safra, produtividade média nacional de 32,7 sac/ha (CONAB, 2020).

2.1.1 Interferência das plantas daninhas na cultura do café e o uso do glyphosate em seu controle

O potencial de competição das plantas daninhas com as plantas de café é elevado, sobretudo durante a fase de implantação da cultura, pois a capacidade das plantas invasoras em absorver água e nutrientes é muito maior comparativamente (DIAS; ALVES; DIAS, 2004; FRANÇA et al., 2010a; RONCHI; FERREIRA; SILVA, 2014; TOLEDO; MORAES; BARROS, 1996). Assim, a recomendação é manter, sobretudo, a linha de plantio livre de plantas daninhas, a fim de evitar a interferência, que pode prejudicar seriamente a produção e a qualidade do café (RODRIGUES et al., 2003; RONCHI; FERREIRA; SILVA, 2014; RONCHI; SILVA, 2006).

Diversos trabalhos relacionam perdas no crescimento do cafeeiro quando em competição com plantas daninhas. Neste sentido, Ronchi et al. (2003) verificaram interferência severa no conteúdo relativo de macro e micronutrientes na parte aérea de plantas de café quando em competição com *Bidens pilosa*. Também, plantas de café que conviveram com o capim marmelada (*Urochloa plantaginea*) tiveram suas características de crescimento reduzidas, como altura, índice de área foliar e diâmetro do coleto, principalmente em maiores densidades desta planta (FIALHO et al., 2011). Dessa forma, a interferência das plantas daninhas resulta em diminuição do teor de nutrientes nas folhas, menor crescimento e, consequentemente, menor produção do cafeeiro (DIAS; ALVES; LEMES, 2008; FIALHO et al., 2011; RONCHI et al., 2003).

O controle de plantas daninha deve ser realizado a custos equilibrados e eficientes. Estudos relatam que o custo com controle de plantas daninhas gira em torno de 4% do custo total de produção, considerado um valor que não onera o

sistema de produção, pois essa baixa participação não reflete os danos causados pelo manejo ineficiente das plantas daninhas (RONCHI; FERREIRA; SILVA, 2014).

O manejo integrado de plantas daninhas é a forma mais eficaz de manter a produtividade das culturas sobre influencia dessas plantas. Neste contexto, o controle químico insere-se como uma das principais ferramentas de manejo, em que o controle de plantas daninhas com herbicida seletivo aplicado em pré ou pós-emergência das plantas daninhas, ou por herbicida não-seletivo aplicado de forma dirigida é de baixo custo além de permitir rapidez de operação. Em função do pequeno número de herbicidas registrados e seletivos às plantas de café, cafeicultores empregam herbicidas não-seletivos aplicados em jato-dirigido, sobre as plantas daninhas, a fim de evitar o contato do produto com a cultura, neste contexto o glyphosate é utilizado em larga escala (FRANÇA et al., 2010b, 2013).

Apesar de aplicação dirigida proporcionar maior segurança em aplicação de produtos não seletivos, é comum ocorrer intoxicações de plantas de café após a aplicação em jato-dirigido de glyphosate, devido o contato do produto com as plantas não alvo. Os sintomas de lesão por glyphosate podem afetar negativamente plantas de café e persistem por muitos meses, dependendo da dosagem e pontos de exposição nas plantas (NELSON, 2008). Assim, a exposição de plantas de café ao herbicida glyphosate, sobretudo na forma de deriva, causa clorose e estreitamento do limbo foliar, redução no acúmulo de nutrientes, paralização de crescimento das plantas e baixa produção de grãos (CASTANHEIRA et al., 2019; FRANÇA et al., 2010b, 2013; NELSON, 2008; SCHRÜBBERS et al., 2014).

2.2 O herbicida glyphosate

O glyphosate (N-fosfonometil glicina) foi originalmente sintetizado em 1964 como potencial quelante industrial, a partir de um hidrogênio amínico do aminoácido glicina, por um radical de éster fosfonico, o N (fosfonometil) glicina. Seu uso como herbicida foi descrito apenas em 1971 (LUCHINI, 2009; YAMADA; CASTRO, 2007). Como herbicida, atua nas plantas inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase (EPSPs) e atualmente é o mais utilizado no mudo, tornando-se o principal produto em pós-emergência, o mesmo apresenta comportamento sistêmico, não seletivo e de amplo espectro, para controle de plantas daninhas anuais e perenes, empregado em sistemas de plantio direto, culturas transgênicas e culturas de cobertura (CRUZ-

HIPOLITO et al., 2009; DUKE, 2017). Uma das principais características deste herbicida é sua rápida translocação na planta, devido sua ação sistêmica é absorvido pelas folhas e translocado via floema para os tecidos meristemáticos da planta, além de reunir características que também o tornam seguro em termos toxicológicos e ambientais (VELINI et al., 2012a).

Como características físico-químicas, o glyphosate apresenta a seguinte fórmula molecular: $C_3H_8NO_5P$ (m.m. = 169,1 g mol^{-1}) e, na forma de sal de isopropilamônio, apresenta-se acrescido do grupo $(CH_3)_2CHNH_3^+$ (m.m. = 228,2 g mol^{-1}) (AMARANTE JUNIOR et al., 2002; LUCHINI, 2009). Quanto a volatilidade, o glyphosate apresenta pressão de vapor a 20 °C de 0,0131 mPa, constate de Henry a 25 °C de 2,7 x 10^{-7} Pa m^3 mol^{-1} e ponto de fusão de 189,5 °C, o que o torna pouco volátil (LEWIS et al., 2016). A solubilidade do glyphosate em água é alta com 10500 mg L^{-1} a 20 °C e praticamente nula em solventes orgânicos como metanol (10 mg L^{-1}) e acetona (0,6 mg L^{-1}), o mesmo ainda apresenta elevada adsorção no solo (Kd= 209,4 mLg^{-1}) e um coeficiente de partição octanol/água muito baixo (Kow= 6,34 x 10^{-4}, em pH 7 e 20 °C), o que indica baixa mobilidade e baixo pontencial para bioacumulação (LEWIS et al., 2016). Mesmo sendo altamente solúvel, os riscos de contaminação de águas subterrâneas são baixos como consequência da forte sorção e da rápida dissipação nos solos (VELINI et al., 2012b).

Ao ser aplicado e entrar em contato com o solo, o glyphosate é rapidamente degradado por microrganismos, através de duas rotas catabólicas, em que a principal via de degradação ocorre pela clivagem da ligação C-N e a conversão em ácido aminometilfosfônico (AMPA) (principal metabólito), e como rota alternativa tem a produção do metabólito intermediário sacarina pela clivagem da ligação C-P (DICK; QUINN, 1995; ZHAN et al., 2018). A biodegradação do glyphosate gira em média de 47 dias (CENTENO, 2009) e ocorre de forma aeróbica e anaeróbica, em que a degradação anaeróbica apresenta-se como a mais eficiente, visto que a meia vida é de aproximadamente de 22 dias, enquanto na via aeróbica a meia vida é de 96,4 dias (LUCHINI, 2009).

Apesar da variedade de microrganismos que degradam o glyphosate, não se tem grandes informações sobre os aspectos genéticos e bioquímicos de enzimas degradantes (ZHAN et al., 2018). Os resultados publicados sobre metabolismo de glyphosate são divididos em dois grupos: aqueles que não encontraram metabolismo e aqueles estudos nos quais foram detectados metabólitos (principalmente o AMPA),

no entanto a não detecção de metabólitos em extratos de plantas não significa que não houve metabolismo (MONQUERO et al., 2004).

O modo de ação de um herbicida corresponde ao conjunto de eventos desde o contato da molécula com a planta até a morte ou paralização do crescimento. Este processo inicia-se com o contato do produto com a planta e segue-se pelas etapas de penetração, absorção, movimentação, metabolização, interação com o sítio de ação e desencadeamento de eventos que efetivamente levam as plantas à paralização do crescimento ou à morte (VELINI et al., 2012b).

Devido à alta solubilidade do glyphosate, a penetração nas folhas pode ser comprometida a depender da formação e quantidade de constituintes hidrofóbicos presentes, como tecidos suberizados e deposição de cutina (RODRIGUES, 2009), com isso a maior eficácia do glyphosate está relacionada à natureza mais hidrofílica dos constituintes foliares (CHACHALIS; REDDY; ELMORE, 2001) e a adição de agentes auxiliares (surfactantes) na formulação do produto que facilite essa penetração. Uma vez que o glyphosate penetra na planta através da cutícula e membrana plasmática dos tecidos fotossintetizantes, ele deve ser translocado através dos tecidos vasculares até o sítio de ação do herbicida (SATCHIVI et al., 2000). Neste sentido, a absorção do glyphosate é um processo bifásico que envolve uma rápida penetração inicial, seguida por uma absorção simplástica lenta, este processo está condicionado a idade da planta, condições ambientais e concentração do herbicida na calda e do surfactante (MONQUERO et al., 2004).

O transporte do glyphosate pelo floema percorre o mesmo caminho dos fotoassimilados, ou seja, movem-se das folhas em direção aos pontos de crescimento e tecidos de reserva (RODRIGUES, 2009). E por sua entrada na célula ser mediada por proteínas de transporte de fosfato (MERVOSH; BALKE, 1991), a eficácia que o herbicida é absorvido e translocado pode ser alterada, sugerindo que plantas ou genótipos que expressem maior quantidade de genes associados à proteína de transporte de fosfato terão maior absorção e translocação do glyphosate (VELINI et al., 2012b).

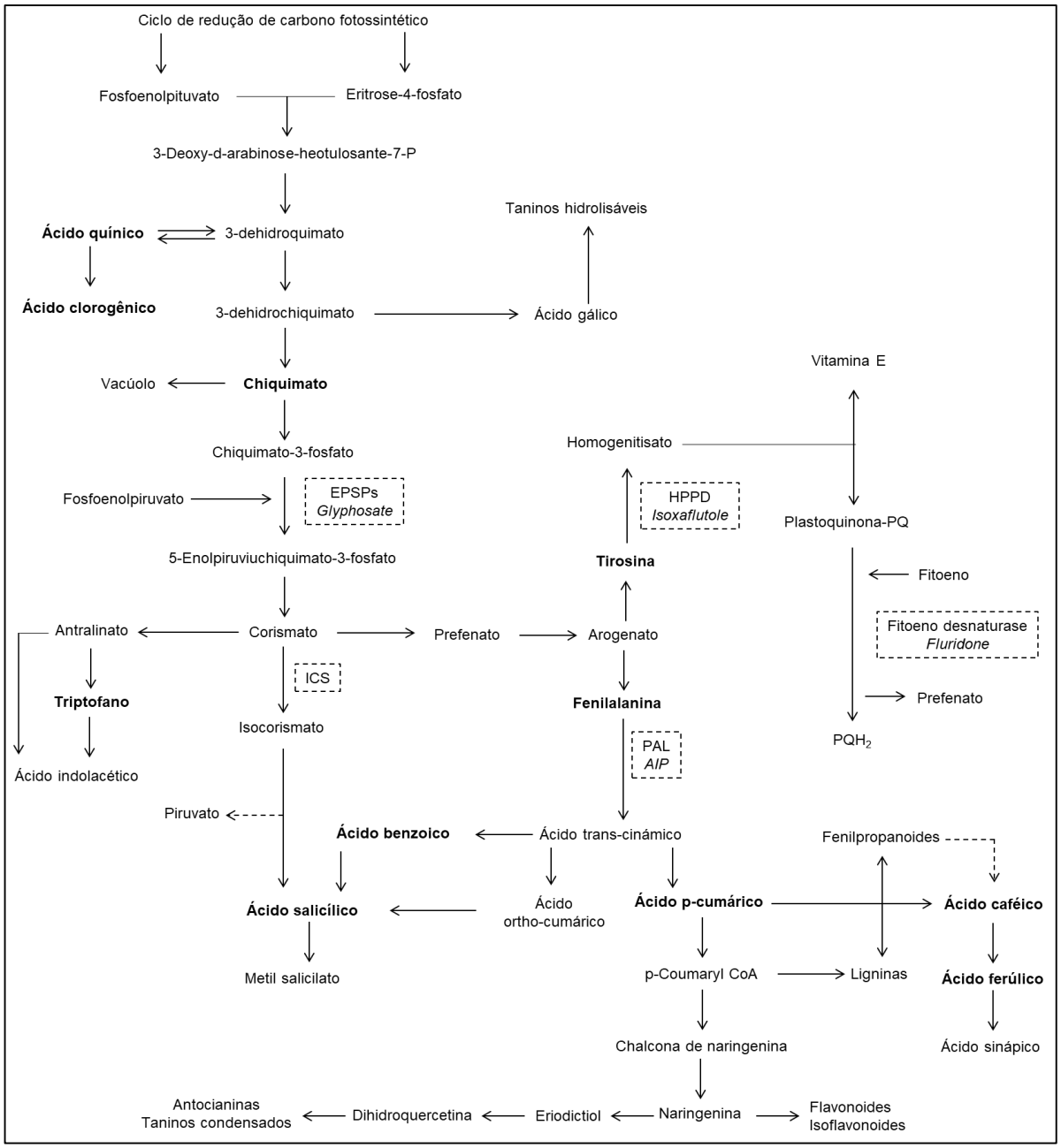
Quanto ao mecanismo de ação do glyphosate, Jaworski (1972) sugeriu que a ação fitotóxica é devida a uma interferência na biossíntese da fenilalanina, em particular, com o metabolismo do ácido corísmico, um metabólito chave na biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano). Como mecanismo de ação alternativo, Duke e Hoagland (1978), ao observarem níveis elevados de

metabólitos fenólicos secundários e também da enzima chave da biossíntese fenólica (fenilalanina amônia-liase, PAL, EC 4.3.1.5) nas raízes de milho tratadas com glyphosate, concluíram que a ação fitotóxica pode ser devido ao estímulo da biossíntese de compostos fenólicos inibidores do crescimento. Neste sentido, Steinrücken e Amrhein (1980) definiram o exato mecanismo de ação do glyphosate como a inibição específica da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), confirmando os achados de Jaworski (1972). Posteriormente, sugeriu-se que parte dos efeitos fitotóxicos do glyphosate pode ser devido ao acúmulo de ácido chiquímico e ácido chiquímico-3-fosfato como resultado da inibição da EPSPs (MARÍA et al., 2006).

Como já mencionado, a inibição da EPSPs pela ação do glyphosate afeta a rota metabólica do ácido chiquímico, a qual produz os três aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. Além disso, essa rota é responsável pela formação dos compostos fenólicos, que podem representar até 35% da biomassa vegetal (BOUDET; GRAZIANA; RANJEVA, 1985). A via do ácido chiquímico inclui uma longa cadeia de reações (Figura 1) subdividida, clássica e resumidamente, em dois segmentos: no primeiro caracteriza-se pela via do pré-corismato que se inicia com os intermediários do metabolismo dos carboidratos eritrose 4-fosfato e fosfoenolpiruvato e leva ao corismato em sete etapas enzimáticas; o segundo segmento, leva do corismato aos três aminoácidos aromáticos (BOUDET, 2012; BOUDET; GRAZIANA; RANJEVA, 1985).

De forma mais detalhada, a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) catalisa a reação na qual chiquimato-3- fosfato (S3P) reage com fosfoenolpiruvato (PEP), formando 5-enolpiruvilchiquimato-3- fosfato (EPSP) e fósforo inorgânico (Pi). Essa reação ocorre em duas etapas, iniciando pela ligação da enzima EPSPs ao S3P, formando o complexo EPSPs-S3P; em seguida, o PEP liga-se a esse complexo, permitindo o prosseguimento da reação, finalizando com a produção de EPSP; quando a planta é exposta ao produto herbicida, o glyphosate não irá se ligar a enzima EPSPs livre, mas sim ao complexo EPSPs-S3P, impedindo que ocorra a sua interação com PEP, ao formar o complexo inativo EPSPs-S3P-glyphosate e com isso obstruindo a rota do ácido chiquímico e interrompendo a produção de três aminoácidos de cadeia aromática (FRANZ et al., 1997)

Figura 1 - Rota do ácido chiquímico e produção de aminoácidos aromáticos e alguns compostos fenólicos*



*Esquema extraído de Velini et al. (2012) com algumas adaptações (KUMAR et al., 2015; ZABALZA et al., 2017). Os compostos em destaque, referem-se aos trabalhados nesta pesquisa.

Os aminoácidos aromáticos são precursores de diversos compostos essenciais para o desenvolvimento e crescimento das plantas. A fenilalanina, além de auxiliar na biossíntese de proteínas, também é utilizada como substrato para a via dos fenilpropanoides que produzem outros numerosos produtos secundários das plantas, tais como antocianinas, lignina, promotores e inibidores de crescimento e compostos fenólicos. O triptofano é o precursor do ácido indolacético, hormônio necessário para

expansão celular, manutenção da dominância apical e muitos outros processos regulatórios. A tirosina é um precursor da vitamina E, alcaloides, pigmentos e quinonas (VELINI et al., 2012b)

Não está claro como ocorre a regulação da rota do ácido chiquímico, afetada pela aplicação do glyphosate nas plantas, e se os sistemas de controle nas várias espécies de plantas e microrganismos são similares, no entanto, as poucas informações disponíveis indicam que não (VELINI et al., 2012b), visto que alguns autores relatam aumento de compostos produzidos nesta via após a aplicação do herbicida (FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2016; FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2017; GAZOLA, 2017; GOMES; VELINI; CARBONARI, 2015; GRAVENA et al., 2009; MAROLI et al., 2015; PETERSEN et al., 2007; SILVA et al., 2015; ZULET et al., 2013).

Assim, o acúmulo de ácido chiquímico causado pela inibição da EPSPs e a desregulação da rota pode resultar no aumento de certos ácidos hidroxibenzoicos que aparentemente derivam diretamente do ácido chiquímico (TAIZ et al., 2017; VELINI et al., 2012b). Todos os compostos intermediários do tronco principal da via do ácido chiquímico são potenciais pontos de ramificação, levando a outras vias metabólicas (BENTLEY, 1990), como é o caso do 3-desidroquinato que pode ser convertido em ácido quínico, que por sua vez é precursor do ácido clorogênico, produto da condensação do ácido quínico (produto inicial da via do ácido chiquímico) e ácido caféico (intermediário final do metabolismo dos fenilpropanoides (Figura 1) (HERRMANN; WEAVER, 1999).

O aminoácido fenilalanina é a molécula que inicia a via de síntese dos fenilpropanóides, que por sua vez gera produtos que conferem maior tolerância a uma ampla gama de estresses e também podem fornecer uma rota alternativa para o uso de fótons sob condições de acúmulo de carboidratos e/ou absorção de luz em excesso (GRACE; LOGAN, 2000; VELINI et al., 2012b). Uma segunda característica importante dessa via é que, como intermediários fosforilados são usados na síntese de produtos aromáticos, o fosfato é liberado dentro do cloroplasto antes que os produtos sejam exportados para o citosol. Isso representa uma distinção importante entre o caminho normal dos intermediários fotossintéticos de carbono no caminho para a síntese de sacarose e a síntese de produtos aromáticos como os fenólicos (GRACE; LOGAN, 2000).

Um composto fenólico de grande importância é o ácido salicílico (AS), a relação do glyphosate com a síntese desse composto vem sendo bastante discutida, em

função do mesmo induzir a resistência a patógenos. O ácido salicílico é o principal composto sinalizador envolvido no acionamento de genes de resistência a patógenos biotróficos (VELINI et al., 2012b).

Atualmente, são conhecidas duas rotas para a síntese do ácido salicílico, uma via catalisada por fenilalanina amônia liase (PAL) e outra catalisada por isocorismato sintase (ICS). Curiosamente, as vias mediadas por PAL e ICS usam como metabólito primário o corismato, um produto da via do ácido chiquímico para sintetizar o ácido salicílico (Figura 1). A síntese do AS através da via mediada por PAL segue duas rotas possíveis: uma via é através da conversão do ácido trans-cinâmico em ácido ortho-cumárico em AS, enquanto a outra via do ácido trans-cinâmico é através da produção de ácido benzoico, que então é convertido cataliticamente em AS, pelo ácido benzoico 2-hidroxilase (BA2H) (Figura1) (KUMAR et al., 2015).

Os sintomas ocasionados pelo glyphosate em plantas suscetíveis desenvolvem-se lentamente e a morte da planta pode demorar dias e até semanas. Os sintomas típicos de intoxicação das plantas pelo herbicida são a paralisação do crescimento, o amarelecimento dos meristemas e das folhas jovens, a necrose e a morte das plantas. No entanto, os eventos pós-inibição da EPSPs pelo glyphosate e que levam as plantas à morte, não são claramente estabelecidos. Assim, a morte das plantas pode ser associada a três efeitos: falha na produção de um extenso conjunto de compostos derivados da rota; desregulação do fluxo de carbono ou a interferência na alocação do carbono, e redução da síntese proteica em função da redução das concentrações de aminoácidos aromáticos (VELINI et al., 2012b).

Como já relatado, a ação direta do glyphosate é sobre a síntese dos aminoácidos aromáticos, por meio da inibição da enzima EPSPs sintase. No entanto, a toxicidade do glyphosate pode estar relacionada aos seus efeitos secundários ou indiretos em outros processos fisiológicos como a nutrição mineral, a fotossíntese, a síntese hormonal e ao estado oxidativo das plantas, em que a alteração desses processos pode estar diretamente ligada aos efeitos deletérios no crescimento e produção das plantas (GOMES et al., 2014). O estresse oxidativo, mais especificamente a peroxidação lipídica, induzida pelo glyphosate, é conhecido por danificar gravemente a integridade celular, o que pode levar à morte celular. Além disso, o aumento da produção de ROS pode interferir negativamente nos processos fotossintéticos, por exemplo, diminuindo o conteúdo de clorofila, a eficiência fotoquímica e o metabolismo de carbono, levando à redução no crescimento da planta (GOMES et al., 2014).

Ao estudar as implicações de subdoses de glyphosate sobre o estímulo no crescimento de plantas, Cedergreen e Olesen (2010) relatam que o aumento na fotossíntese pode estar fortemente relacionado com o aumento da atividade da rubisco, a regeneração da RuBP ou a taxa de uso da triose fosfato. Herbicidas que inibem a síntese de aminoácidos ou lipídios têm influência indireta sobre a fotossíntese por ter efeito sobre o metabolismo do carbono e na estabilidade das membranas dos tilacóides e pode, consequentemente, alterar a atividade fotoquímica do PSII e PSI. (KALAJI et al., 2017).

A ligação do glyphosate à EPSPs no citosol induz o desvio desregulado de eritrose-4-fosfato (E4P) para a via do ácido chiquímico e, portanto, ocorre a redução da ribulose bifosfato (RBP), que por sua vez compromete o funcionamento da cadeia de elétrons fotossintéticos, além de acarretar a fotoinibição do PSII (CHRISTENSEN; TEICHER; STREIBIG, 2003; CORUZZI; LAST, 2000). Alterações no fluxo de elétrons pela aplicação de glyphosate também pode estar relacionada com o funcionamento da plastoquinona, uma vez que a inibição da EPSPs dificulta a produção de ácido homogentísico, um metabólito necessário para a redução da plastoquinona que por sua vez é responsável por mediar o fluxo de elétrons de PSII para o complexo do citocromo B6-f. Além disso, a redução da plastoquinona é necessária para a ativação dos carotenoides recentemente sintetizados (CHRISTENSEN; TEICHER; STREIBIG, 2003; CORUZZI; LAST, 2000).

2.3 Hormesis de herbicidas em plantas

Hormesis ou efeito hormético é o efeito estimulador de um nível subtóxico de uma toxina, que é geralmente encontrado em uma estreita faixa de dose, antes do início dos efeitos negativos da substância. Deste modo, a hormesis é representada por uma curva bifásica de dose-resposta, onde ocorrerá estímulo e inibição de determinada característica em diferentes doses de uma mesma substância (AGATHOKLEOUS; CALABRESE, 2019; BELZ; DUKE, 2014, 2017; CALABRESE, 2005; CALABRESE; BALDWIN, 1997; DUKE et al., 2006; VELINI et al., 2008). Este comportamento é relatado em diferentes organismos para as mais diversas substâncias e agentes estressantes.

O estudo do comportamento bifásico tornou-se mais difícil devido ao uso de uma ampla gama de termos para descrever o que geralmente parece ser um

relacionamento biologicamente semelhante para uma resposta à determinada dose (CALABRESE, 2017). Apesar do comportamento já ser observado desde o final do século XIX (CALABRESE, 2017), o termo hormesis foi utilizado primeiramente pelos pesquisadores Southam e Erlich (1943), ao observarem que um composto retirado da casca de carvalho promovia o crescimento fúngico em baixas doses e inibia em doses mais altas. Com estes resultados e com os preceitos pregados por Paracelsus (1493-1541), que defendia que a ação nociva de determinada substância sobre algum alvo dependia da dose empregada, os pesquisadores definiram o termo hormeis a partir da palavra grega hormo, que significa excitar.

Além da falta de definição de um termo para este efeito bifásico, a validação ou falta de um modelo que explicasse com exatidão o comportamento dessas respostas em baixas doses dificultou o entendimento inicial do comportamento hormético de várias substâncias. No início do século XX as avaliações do comportamento de substâncias eram realizadas por meio de modelos lineares e limiares e desconsiderou-se os modelos horméticos para explicar o que ocorria em zonas de baixas doses. Já em meados do século XX observou-se por meio de análises de dados já registrados que os modelos até então empregados não explicavam este comportamento e que os modelos horméticos poderiam exemplificar melhor esses resultados em diferentes substâncias químicas, incluindo os pesticidas (CALABRESE, 2017). Com a utilização de modelos mais específicos, permite-se melhor compreensão dos resultados gerados a partir de curvas de dose-respostas mais completas, garantindo a detecção da hormesis e suas implicações, a exemplo do máximo estímulo gerado, da concentração que produz esse efeito e da faixa de concentração que produz uma resposta estimulatória (CALABRESE, 2005; DUKE et al., 2006).

No campo dos agroquímicos, especificamente os herbicidas, a maioria dos estudos de dose-resposta não são realizados em detalhes suficientes para medir a hormesis, pois as doses horméticas, por estarem muito abaixo da dose recomendada para o manejo de plantas daninhas, raramente são usadas. Neste sentindo, pode ter havido experimentos em que a hormesis não foi encontrada, nem relatada ou mesmo desconsiderada como dados secundários (BELZ; DUKE, 2014).

Mesmo não sendo o propósito de aplicar herbicidas para estimular o crescimento vegetal, há a probabilidade destas plantas entrarem em contato com doses que podem causar o efeito hormético (STRANDBERG et al., 2017; VELINI et al., 2017).

Essas doses podem atingir plantas alvo e não alvo através da deriva dos herbicidas, aplicação irregular, diluição do produto, absorção de baixas doses pelo solo, contato foliar entre plantas tratadas e não tratadas, interceptação da calda de aplicação por plantas mais altas e aplicação proposital.

A exposição das plantas a baixas doses de herbicidas não é o único fator que influencia no efeito hormético desses produtos, pois, além do tipo de produto e da dose utilizada, parâmetros inerentes a planta e ao ambiente também possuem efeitos direto sobre a ocorrência deste fenômeno (BELZ; DUKE, 2014; VELINI et al., 2008). Alguns pesquisadores têm observado interferência direta do estádio de crescimento das plantas sobre a ocorrência da hormesis. Em plantas de *Commelina benghalensis* o máximo de estímulo para massa seca da parte aérea (195%) com aplicação de glyphosate foi observado quando o herbicida foi aplicado em plantas mais jovens (VELINI et al., 2008). Já em plantas de café o efeito hormético do glyphosate foi pronunciado com a aplicação realizada em plantas mais velhas (CARVALHO; ALVES; DUKE, 2013). Em feijoeiro o estímulo de crescimento e aumento de produtividade foi observado quando o glyphosate foi aplicado em dois estádios de crescimento da planta (SILVA et al., 2016).

Quanto aos parâmetros ambientais, a concentração de CO_2, a taxa de radiação e a disponibilidade hídrica ao longo do crescimento das plantas também têm interferido na ocorrência ou não do efeito hormético dos herbicidas. Na presença de maior concentração de CO_2 (800 ppm) e maior taxa de radiação fotossinteticamente ativa (187 PAR) plantas de *Lemna minor* apresentaram maior incremento de área foliar em subdoses de glyphosaste (BELZ; DUKE, 2014). Em plantas de feijão expostas a baixas doses de glyphosate sob menor disponibilidade hídrica, Silva et al. (2016) observaram maior tolerância ao estresse hídrico, visto que em maior disponibilidade hídrica a presença do glyphosate não acarretou em maiores rendimentos, quando comparado com plantas não expostas ao herbicida sob o mesmo manejo hídrico.

No entanto, pouca consideração é dada ao que poderiam ser as implicações agronômicas, ambientais, ecológicas e evolutivas da hormesis de herbicidas.

2.3.1 O glyphosate no contexto da hormesis

Apesar do aumento no número de estudos relacionados a exposição das plantas a baixas doses de glyphosate, ainda não se sabe exatamente quais mecanismos

estão envolvidos no efeito hormético do herbicida, no entanto há indícios que este comportamento esteja ligado ao sítio de ação do glyphosate, ou seja, está relacionado à inibição parcial da EPSPS por baixas doses de glyphosate (VELINI et al. 2008, CEDERGREEN; OLESEN 2010), uma vez que Velini et al. (2008) constaram estímulo de crescimento em soja convencional e não observaram efeito hormético em soja resistente à glyphosate.

Em levantamento bibliográfico realizado por Brito et al. (2017) foi possível concluir que a aplicação de glyphosate sobre plantas suscetíveis em baixas doses pode estimular o crescimento da planta, aumentar a taxa de transporte de elétrons, a assimilação de CO_2, a condutância estomática e a taxa de transpiração, além de induzir o acúmulo de ácido chiquímico, aumentar e acelerar a floração, modificar a expressão do gene, aumentar o rendimento das culturas e melhorar a qualidade da biomassa. No entanto, esses mesmos autores relataram que a maior parte dos estudos explicam este fenômeno através de variáveis morfológicas.

Assim, em diversas espécies de plantas cultivadas já há relatos da hormesis do glyphosate sobre crescimento, acúmulo de biomassa e/ou área foliar, a exemplo de soja (SILVA et al., 2015; VELINI et al., 2008), milho (VELINI et al., 2008), eucalipto (NASCENTES et al., 2018; VELINI et al., 2008), pinus (VELINI et al., 2008), cana-de-açúcar (NASCENTES et al., 2018; PINCELLI-SOUZA et al., 2020; SILVA et al., 2009), café (CARVALHO; ALVES; DUKE, 2013), grão-de-bico (EL-SHAHAWY; SHARARA, 2011), fava (ABBAS et al., 2015) e braquiária (MORAES et al., 2020).

A interação de baixas doses de glyphosate com a fisiologia das plantas é relatada em plantas de soja, pelo aumento da taxa de transporte de elétrons (SILVA et al., 2015; VELINI et al., 2008), em cana-de-açúcar e eucalipto pela maior eficiência na assimilação de CO_2, aumento de transpiração e condutância estomática (NASCENTES et al., 2018) e em cevada, também, pelo aumento da taxa de assimilação CO_2 (CEDERGREEN; OLESEN, 2010).

O efeito hormético do glyphosate ou apenas a interação das plantas com baixas doses, também é relatado em compostos formados na rota do ácido chiquímico. Aumento de ácido chiquímico após a exposição ao herbicida foi observado em plantas de café (DOMINGUES JÚNIOR, 2011), cana-de-açúcar (CARBONARI et al., 2014; NASCENTES et al., 2018; PINCELLI-SOUZA et al., 2020), eucalipto (NASCENTES et al., 2018), soja (SILVA et al., 2015; VELINI et al., 2008) e milho (VELINI et al., 2008). Ácido quínico em café (DOMINGUES JÚNIOR, 2011), cana-de-açúcar (PINCELLI-

SOUZA et al., 2020) e milho (GOMES; VELINI; CARBONARI, 2015). Ácido salicílico em cana-de-açúcar (MESCHEDE et al., 2012). Ácido caféico em ervilha (ZABALZA et al., 2017). Ácido benzoico em soja (SILVA et al., 2015). Fenilalanina e triptofano em *Brassica napus* e soja (PETERSEN et al., 2007; SILVA et al., 2015).

O efeito hormético do glyphosate também é observado em plantas daninhas. Neste sentido, Nadeem et al. (2016) observaram estímulo de crescimento das espécies *Coronopus didymus*, *Chenopodium álbum*, *Lathyrus aphaca*, *Rumex dentatus* com a aplicação de 16 g e.a. ha^{-1} de glyphosate. Em *Conyza sumatrensis* a aplicação de doses subletais de glyphosate além de estimular o crescimento, também favoreceu o florescimento e a produção de sementes (GOMES, 2014). No caso de plantas daninhas resistentes, as doses recomendadas para controle podem se tornar doses com efeito hormesis, por serem relativamente baixas para o biótipo resistente (BELZ; DUKE, 2014).

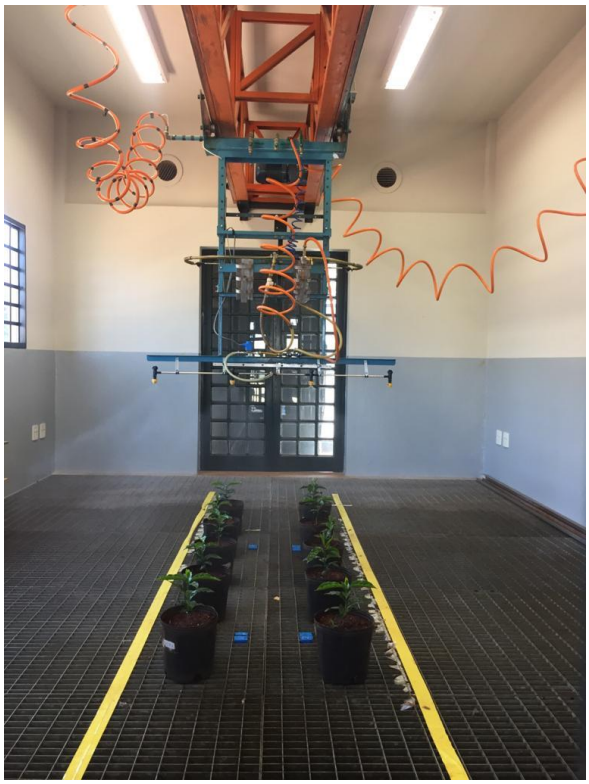
3 MATERIAL E MÉTODOS

Três experimentos foram conduzidos no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia – NUPAM, localizado na Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu – SP. Foram utilizadas mudas de *Coffea arabica* cv Catuaí Vermelho IAC-144, posteriormente transplantadas em vasos com capacidade de 6 L preenchidos com a mistura de solo e substrato Carolina® (turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada), na proporção de 3:1. O solo utilizado apresentou as seguintes características químicas: pH ($CaCl_2$) = 4,2; MO = 17 g dm^{-3}; P = 4 mg dm^{-3}, K = 0,57 $mmol_c$ dm^{-3}, Ca = 4,0 $mmol_c$ dm^{-3}, Mg = 2,0 $mmol_c$ dm^{-3}, $H+Al^{+3}$ = 28,0 $mmol_c$ dm^{-3}. Quanto aos atributos físicos: areia = 210 mg dm^{-3}, argila = 692 mg dm^{-3} e silte = 98 mg dm^{-3}.

As plantas foram mantidas em condições do ambiente, dispostas em delineamento inteiramente casualisado com cinco repetições e submetidas a dez doses de glyphosate: 0; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1}. Considerou-se uma planta por repetição em cada dose.

A aplicação das diferentes doses do herbicida foi realizada por meio de um pulverizador automatizado em ambiente fechado, pertencente ao NUPAM, com barra de pulverização equipada com quatro pontas XR 110.02 VS espaçadas 0,5 m entre si e dispostas a uma altura de 0,5 m em relação as unidades experimentais. A pressão de trabalho foi de 2 kgf cm^{-2}, com velocidade de 3,6 km h^{-1} e volume de calda de 200 L ha^{-1} (Figura 2). O produto utilizado no preparo das caldas foi o glyphosate com formulação de sal de isopropilamina (Roundup Original® - 360 g.e.a. L^{-1}).

Figura 2 - Aplicação de glyphosate sobre as plantas de café com pulverizador automatizado em ambiente fechado.

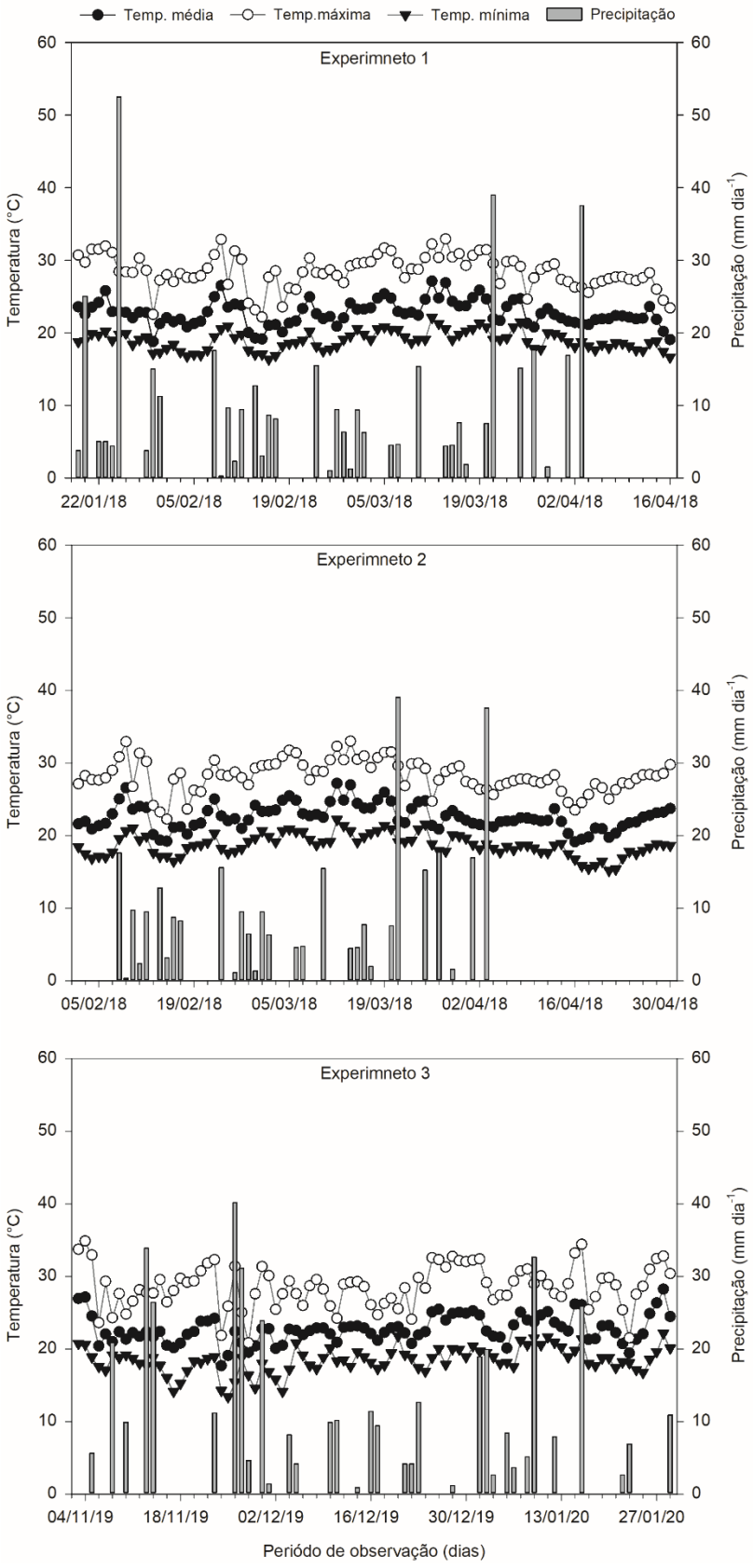


Ao todo, foram instalados três experimentos com as mesmas especificações descritas anteriormente. Os dois primeiros foram conduzidos para a realização de avaliações morfológicas e fisiológicas, já o terceiro foi realizado para a determinação das variáveis bioquímicas. As características específicas de cada experimento e as condições meteorológicas durante a condução dos ensaios estão descritas na Tabela 1 e Figura 3, respectivamente.

Tabela 1 – Época de transplante e aplicação, estádio de desenvolvimento das plantas e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação dos experimentos 1, 2 e 3.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Transplante	19/01/2018	02/02/2018	03/11/2019
Aplicação	05/03/2018	19/03/2018	18/12/2019
	Estádio da planta no momento da aplicação		
Altura de planta (cm)	15,8	17,4	16,5
Número de folhas	14,6	15,0	15,0
	Condições de aplicação		
Temperatura (°C)	24,0	26,2	24,3
Umidade (%)	76,0	69,0	74,0

Figura 3 - Temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima e precipitação diária durante a condução dos três experimentos.



3.1 Análises morfológicas e de crescimento

Dez plantas foram caracterizadas antes da aplicação dos tratamentos quanto à altura da planta, número de folhas, área foliar e massa seca da folha, caule e total (folha + caule). Após a aplicação avaliou-se o número de folhas e altura de plantas aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) e ao fim (42 DAA) avaliou-se área foliar e massa seca do caule, folha e total e o nível de injuria provocado pelo glyphosate, avaliado por meio de análise visual adotando-se a porcentagem de 0 a 100 em que, 0 representa ausência de sintomas e 100% representa a morte das plantas (SBCPD, 1995).

A altura da planta foi determinada do coleto ao ápice e a área foliar foi obtida através da utilização do integralizador de área foliar (LI-3100, Li-Cor Inc., EUA). Para determinação de matéria seca, as amostras foram acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar com temperatura de 60 °C por 72 horas e posteriormente pesadas em balança analítica de precisão (0,0001 g).

Com a obtenção de massa seca das plantas e área foliar no momento da aplicação e 42 DAA determinou-se, por meio de fórmulas matemáticas propostas por Benincasa (2003), os seguintes índices de análise de crescimento: taxa de crescimento absoluto (TCA), taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação líquida (TAL), razão de área foliar (RAF), índice de ara foliar (IAF), duração de área foliar (DAF), taxa de emissão foliar (TEMF) e taxa de expansão foliar (TEXF).

Taxa de Crescimento Absoluto (TCA) (g dia^{-1})**:**

$$TCA = \frac{W2 - W1}{T2 - T1} \quad (1)$$

Em que, W1 e W2 representam a massa seca (g) inicial e final, respectivamente, e T1 e T2 o tempo (dias) da primeira e segunda coleta após a aplicação dos tratamentos.

Taxa de Crescimento Relativo (TCR) (g g^{-1} dia^{-1}):

$$TCR = TAL \times RAF \quad (2)$$

Em que, TAL refere-se a Taxa assimilatória líquida (g cm^{-2} dia^{-1}) e RAF a Razão de área foliar (cm^2 g^{-1}).

Taxa Assimilatória Líquida (TAL) (g cm^{-2} dia^{-1}):

$$TAL = \frac{(W2-W1)\,(\ln L2 - \ln L1)}{(L2 - L1)\,(T2 - T1)} \quad (3)$$

Em que, ln= logaritmo neperiano, W2 e W1= matéria seca (g) aos 0 e 42 DAA, respectivamente; L1 e L2 = área foliar (cm^2) aos 0 e 42 DAA, respectivamente.

Razão de Área Foliar (RAF) (cm^2 g^{-1}):

$$RAF = \frac{L1 + L2}{W1 + W2} \quad (4)$$

Em que, W2 e W1= matéria seca (g) e L1 e L2 = área foliar (cm^2).

Índice de Área Foliar (IAF):

$$IAF = \frac{AF}{S} \quad (5)$$

Em que, AF é a área foliar (cm^2) e S é área que a planta ocupa no substrato (área do vaso – 346,36 cm^2)

Duração da Área Foliar (cm^2 dia):

$$DAF = \frac{(L1 + L2)\,(T2-T1)}{2} \quad (6)$$

Em que, L1 e L2 são as medidas de área foliar antes da aplicação do glyphosate (tempo T1) e aos 42 DAA (tempo T2), respectivamente.

Taxa de emissão foliar (número de folhas dia^{-1}):

$$TEMF = \frac{NF2 - NF1}{T2 - T1} \quad (7)$$

Em que, NF1 e NF2 são as medidas de área foliar antes da aplicação do glyphosate (tempo T1) e 42 DAA (tempo T2).

Taxa de expansão foliar ($cm^2\ dia^{-1}$):

$$TEXF = \frac{L2 - L1}{T2 - T1} \quad (8)$$

Em que, L1 e L2 são as medidas de área foliar antes da aplicação do glyphosate (tempo T1) e 42 DAA (tempo T2).

3.2 Análises fisiológicas

As respostas fisiológicas foram avaliadas através de variáveis relacionadas a trocas gasosas e fluorescência da clorofila. Por meio de um analisador de gás infravermelho (IRGA, PP-Systems®, Ciras-3, EUA), as trocas gasosas foram medidas, entre 9:00 e 11:00 horas, através da assimilação líquida de CO_2 (*A* - µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), transpiração (*E* – mmol H_2O m^{-2} s^{-1}), condutância estomática (g_s - mmol m^{-2} s^{-1}), concentração interna de CO_2 (*Ci* – mmol mol^{-1}), eficiência de carboxilação e eficiência do uso da água de plantas de café aos 7, 21 e 35 DAA. A eficiência de carboxilação foi medida pela razão entre assimilação e concentração interna de CO_2 (*EC* - µmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O). O uso da água foi determinado pela eficiência efetiva através da razão entre assimilação de CO_2 e transpiração (EEUA - µmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O) e pela eficiência intrínseca do uso da água obtida pela razão entre assimilação e condutância estomática (EIUA - µmol CO_2 $mmol^{-1}$ H_2O).

A fluorescência da clorofila foi avaliada por meio da taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência fotoquímica efetiva do Fotossistema II (Φ_{PSII}) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 DAA com auxílio de um fluorômetro portátil (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS5p – Opti Sciences, EUA). As leituras foram realizadas no protocolo Yield em cinco pontos por planta, para cada repetição e tratamento, em folhas totalmente expandidas.

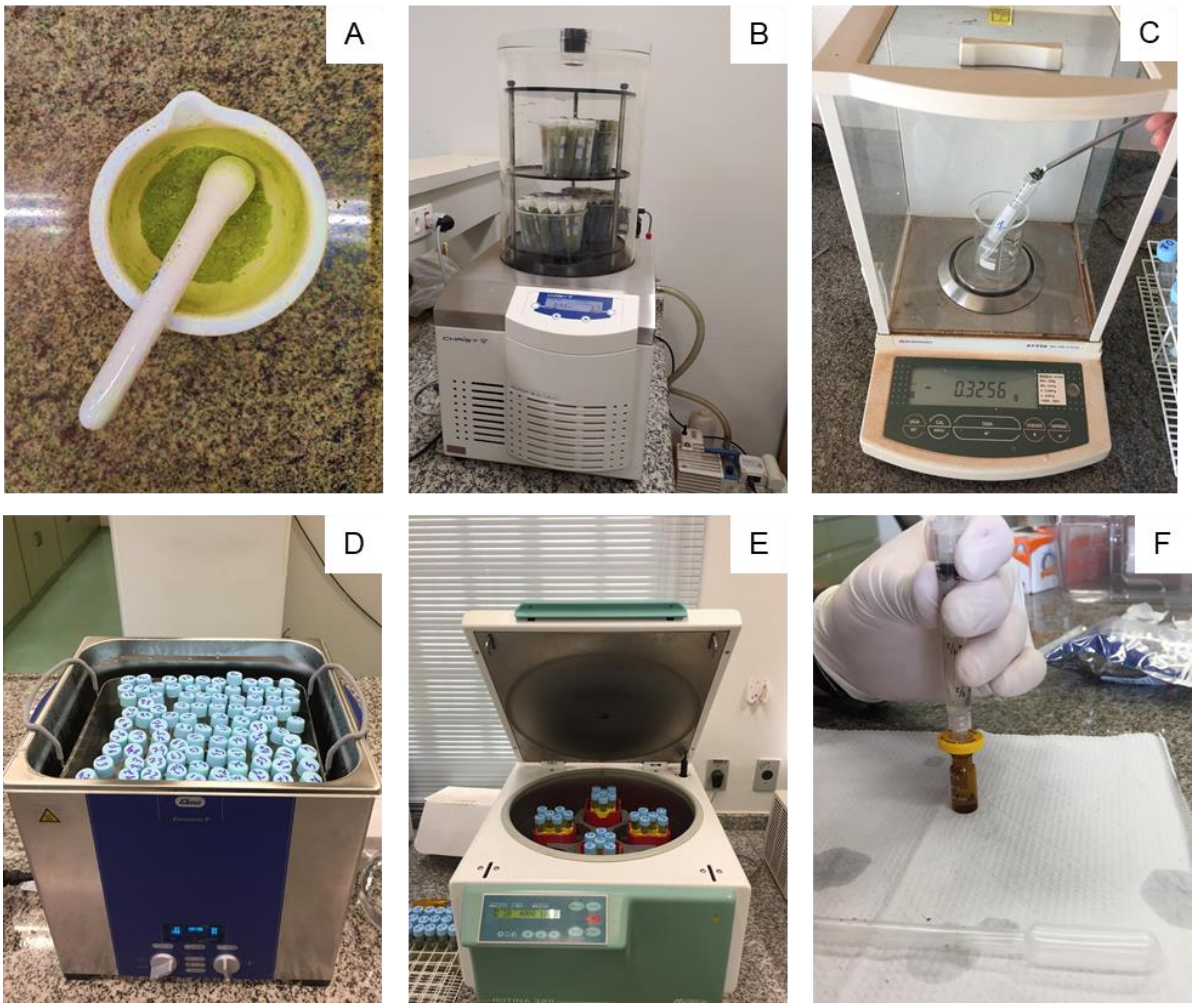
Ainda avaliou-se rotas alternativas de elétrons pela relação ETR/A (BOTA; MEDRANO; FLEXAS, 2004; KALAJI et al., 2014)

3.3 Análises bioquímicas

Para a determinação dos componentes bioquímicos foram coletadas folhas no terço superior das plantas de café aos 7, 21 e 42 DAA. As amostras foram acondicionadas em ultrafreezer a -80 °C, para posterior análise e determinação dos seguintes compostos: teor interno do glyphosate, ácido chiquímico, ácido quínico, ácido salicílico, ácido ferúlico, ácido caféico, ácido cumárico, ácido benzoico, ácido clorogênico e os aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano.

As folhas foram maceradas em almofariz, com nitrogênio líquido, acondicionados em tubos “falcon” (15 mL) e submetidos ao processo de liofilização (Liofilizador Alpha 2-4 LD Plus, Martin Christ, DE) a uma temperatura de -70 °C durante 72 horas. Após a liofilização, foi retirada uma amostra de 100 mg e adicionado 10 mLde água acidificada (ácido clorídrico) a pH 2,5. Em seguida, as amostras foram submetidas ao banho de ultrassom durante 30 minutos em água a 55 °C e centrifugadas em 4.000 rpm, durante 10 minutos a 20 °C. O sobrenadante foi coletado (1,5 mL) e filtrado em filtro 35 Millex HV (Millipore) 0,45 µm, com membrana durapore 13 mm, e acondicionados em vial âmbar 9 mm (Flow Supply) (Figura 4), para posterior quantificação dos compostos por cromatografia (LC-MS/MS).

Figura 4 – Procedimentos para determinação dos teores interno de glyphosate e dos compostos relacionados a rota do ácido chiquímico em plantas de café.

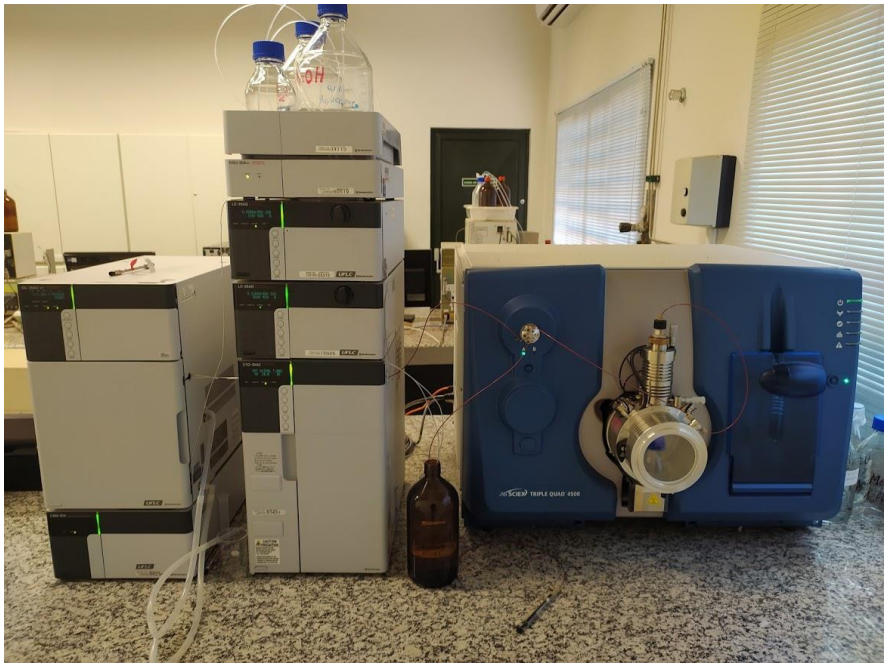


A= maceração das folhas; B= liofilização; C= pesagem; D= sonicação; E= centrifugação; F= filtragem.

O sistema LCMS/MS foi composto por um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC), Shimadzu, modelo Proeminence UFLC, que combina análise ultrarrápida e excelente performance de separação, com alta confiabilidade de resultados; equipado com duas bombas LC20AD, auto injetor SIL-20AC, degazeificador DGU-20A5, sistema controlador CBM20A (permite a operação totalmente automatizada) e forno CTO-20AC (para controle da temperatura da coluna). Acoplado ao HPLC está o espectrômetro de massas 4500 (Applied Biosystems) híbrido triplo quadrupolo (Figura 5). As análises cromatográficas foram conduzidas com uma coluna C18 (Phenomemex Gemini 5µ C18RP 110Å) utilizando um volume de injeção de 20 µL, com 5 mM de acetato de amônio em água (fase A) e 5 mM de acetato de amônio em metanol (fase B). O fluxo utilizado foi de 0,8 $mLmin^{-1}$, o modo gradiente iniciou com a proporção de 90:10 (água/metanol), passando para 5:95 aos 4 min e retornando à

condição inicial aos 10 min, o tempo total de corrida foi de 15 min. Os cromatogramas gerados para cada composto estão nos apêndices A e B.

Figura 5 – Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC) acoplado ao espectrômetro de massas (Triple Quad 4500, AB Sciex)



3.4 Análises dos dados

Como as análises morfológica e fisiológicas foram feitas em duplicata (experimentos 1 e 2), os dados obtidos foram submetidos à análise de variância de forma independente e aplicado o teste de homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo) (HARTLEY, 1950). Comprovada a homogeneidade entre os experimentos (Apêndices C, D, E e F), prosseguiu-se com a análise conjunta, e realizou-se uma nova análise de variância, em que os dados foram agrupados e considerou-se um experimento com dez repetições para cada dose de glyphosate avaliada.

Os dados de injúria foram ajustados ao modelo de regressão não linear do tipo log-logístico proposto por Streibig et al. (1988):

$$y = \frac{a}{[1+(\frac{x}{b})^{c}]} \quad (8)$$

Em que, y = porcentagem injúria; x = dose do herbicida (g e.a. ha^{-1}); a, b e c são parâmetros da equação, sendo que a = assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável, b = dose que proporciona 50% da assíntota e c = declividade da curva.

A avaliação do efeito hormesis de glyphosate sobre as plantas de café foi determinado por meio de modelos de regressões não lineares de 5 e 4 parâmetros com auxílio do software estatístico R®.

Modelo de 5 parâmetros de Brain e Coussens (1989) – modelo 1:

$$y = c + \frac{d - c + fx}{1+\exp(b(\log(x) - \log(e)))} \quad (9)$$

Modelo de 4 parâmetros de Streibig (1980) – modelo 2:

$$y = c + \frac{d - c}{1+\exp(b(\log(x) - \log(e)))} \quad (10)$$

Estes modelos são parametrizados usando uma estrutura unificada com um coeficiente “b” denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” as assíntotas inferior e superior ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. A adição do coeficiente “f” no modelo de Braian e Cousens (1988) é o que diferencia do modelo de Streibig (1980), este parâmetro é tratado como a taxa de estímulo, atribuindo-se o efeito hormesis, no entanto o efeito de estímulo só é verdadeiro quando este parâmetro for diferente de 0 a 5% de probabilidade (KNEZEVIC; STREIBIG; RITZ, 2007; SCHABENBERGER et al., 1999). Desta forma, para considerar-se que as variáveis apresentaram efeito hormesis os dados devem ser ajustados no modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois modelos. Desta forma é possível testar o quadrado médio associado à inclusão do coeficiente “f”, com um grau da liberdade. Se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o do modelo 2 rejeita-se a hipótese de f=0 e consequentemente a ocorrência de um estímulo de hormesis é aceita aplicando a equação do modelo 1. Quando o valor do quadrado médio não era significativo, a hipótese que f=0 foi aceita e assim se concluiu que não

havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo logístico de quatro parâmetros (modelo 2) (VELINI et al., 2008).

Para as variáveis que não foram ajustadas aos modelos apresentados, os dados foram plotados em forma de dispersão ou barra e aplicado o intervalo de confiança (IC), e em alguns casos aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre as médias. Além destas, para as demais variáveis também foi calculado o IC pelo teste t, através da equação 9:

$$IC = \frac{t*DP}{\sqrt{n}} \quad (9)$$

Onde, t refere-se ao valor de t tabelado ($p \leq 0,05$), DP o desvio padrão dos dados e n o número de amostragens.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises morfológicas e de crescimento

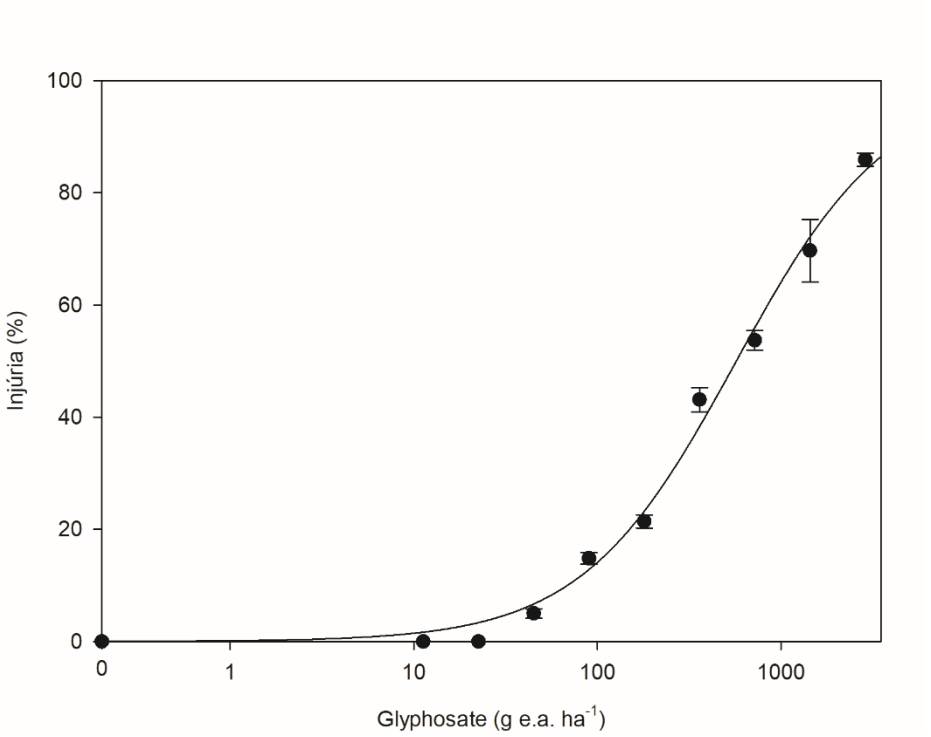
As plantas de café que apresentaram injúrias após a aplicação de glyphosate desenvolveram clorose e afilamento das folhas mais jovens, morte do meristema apical e paralização do crescimento. O surgimento dos sintomas de fitointoxicação foi de acordo com a dose em que as plantas foram expostas, na qual doses mais elevadas (720, 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1}) apresentaram morte do meristema apical e a paralização ou diminuição do crescimento, e doses mais baixas (45, 90, 180 e 360 g e.a. ha^{-1}) apresentaram clorose e/ou afilamento foliar (Figura 6).

Figura 6 - Plantas de café aos 42 dias após a aplicação de glyphosate*

*Da esquerda para direita, as plantas de café foram expostas as doses de 0; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1}.

Ao analisar o conjunto de sintomas e atribuir níveis de injúrias, verificou-se fitointoxicação de até 84% na dose de 2880 g e.a. ha^{-1} aos 42 DAA (Figura 7). Os sintomas mais leves foram verificados a partir da dose de 33,8 g e.a. ha^{-1}, com 5% de injúria (Figura 7). França et al. (2010, 2013) e Schrübbers et al. (2014), ao avaliarem deriva simulada de glyphosate sobre o café arábica, também observaram a ocorrência desses sintomas em doses próximas as encontradas nesta pesquisa. Nos trabalhos desenvolvidos por França et al. (2010, 2013) os sintomas de fitointoxicação surgiram a partir da dose de 56,7 g e.a. ha^{-1}, no entanto, em doses superiores a 230 g e.a. ha^{-1} ocorreu maior comprometimento do crescimento das plantas. Já Schrübbers et al. (2014) observaram sintomas em doses a partir de 28 g e.a. ha^{-1}.

Figura 7 – Porcentagem de injúria de plantas de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate



Durante o crescimento e desenvolvimento das plantas de café, especificamente para as variáveis número de folha e altura da planta, observou-se que o efeito hormético do glyphosate foi notificado em avaliações mais distantes do momento da aplicação. O ajuste das variáveis ao modelo 1, que caracteriza este comportamento, foi aplicado nas avalições de 21, 35 e 42 DAA para o número de folhas e 28, 35 e 42 DAA para altura de planta (Tabela 2).

Tabela 2 - **Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para número de folhas e altura de planta de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate**

	7 DAA		14 DAA		21 DAA	
	NF	**Altura**	**NF**	**Altura**	**NF**	**Altura**
Doses	2,931**	1,561^{ns}	10,009**	6,507**	17,803**	13,771**
Hipótese f≠0	-0,584	--	2,490	0,883	4,865	3,211
Modelo	2	--	2	2	1	2
Regressão	7,88**	--	27,16**	18,03**	38,15**	38,14**
R^2	0,90	--	0,90	0,92	0,92	0,92
Constantes						
b	0,59	--	0,66	0,80	1,27	0,84
c	12,55	--	12,30	13,80	9,85	13,19
d	16,72	--	18,54	21,43	20,31	23,90
e	1442,36	--	344,90	749,91	12,14	409,66
f	--	--	--	--	1,00	--
CV (%)	10,48	16,05	11,25	13,47	13,78	14,31
	28 DAA		**35 DAA**		**42 DAA**	
	NF	**Altura**	**NF**	**Altura**	**NF**	**Altura**
Doses	18,725**	22,745**	41,490**	35,108**	66,855**	41,030**
Hipótese f≠0	1,723	4,898	8,991	8,053	12,127	11,095
Modelo	2	1	1	1	1	1
Regressão	54,88**	49,74**	91,62**	78,24**	148,45**	90,82**
R^2	0,98	0,97	0,98	0,99	0,99	0,98
Constantes						
b	1,53	1,36	2,36	1,42	2,98	1,65
c	13,48	12,47	13,34	12,06	13,38	14,41
d	22,44	24,35	23,00	25,76	26,73	26,99
e	91,08	32,55	46,45	40,06	61,47	44,32
f	--	0,40	0,22	0,40	0,20	0,36
CV (%)	15,70	13,42	14,03	12,46	14,23	12,61

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

A ocorrência do efeito hormético do glyphosate sobre o número de folhas e altura de plantas foi mais expressivo com o decorrer do crescimento das plantas, uma vez que o estímulo máximo no número de folhas partiu de 5,6% aos 21 DAA para 12,2% aos 42 DAA (Figura 8), e de 5,4% aos 28 DAA para 10,2% aos 42 DAA (Figura 9) para a altura das plantas. Além do pico de estímulo, observa-se também o aumento no intervalo de doses que houve incremento em ao menos 5%, destas variáveis. Especificamente para o número de folhas, aos 21 DAA a faixa de dose foi de 2,8 a 9,8 g e.a. ha^{-1}, com incremento máximo na dose de 5,7 g e.a. ha^{-1}. Ao fim do experimento

(42 DAA) o incremento máximo ocorreu na dose de 29,9 g e.a. ha^{-1} e o intervalo de dose que houve aumento no número de folhas foi de 6,7 a 52,8 g e.a. ha^{-1} (Figura 8).

Figura 8 - Número de folhas de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

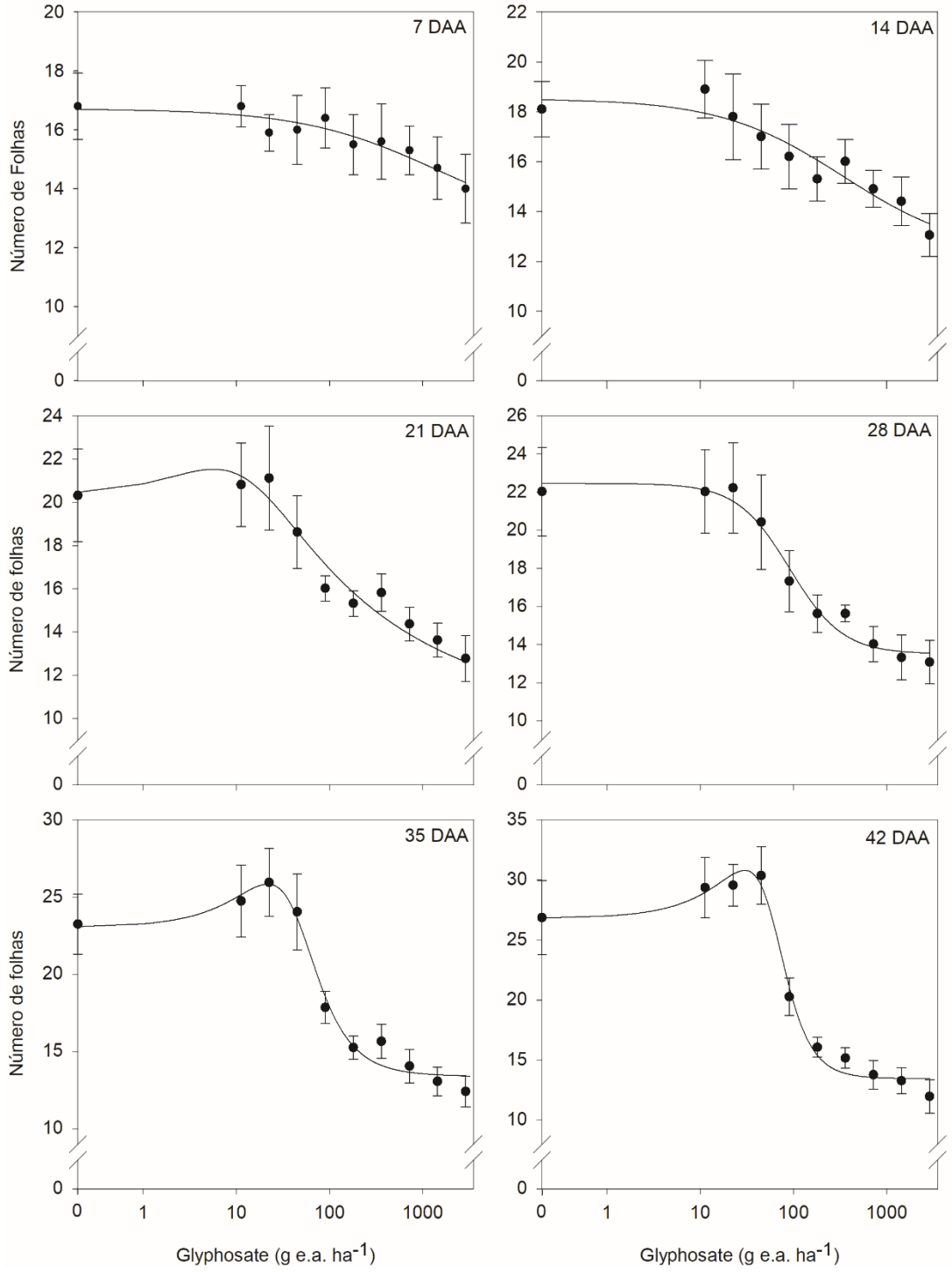
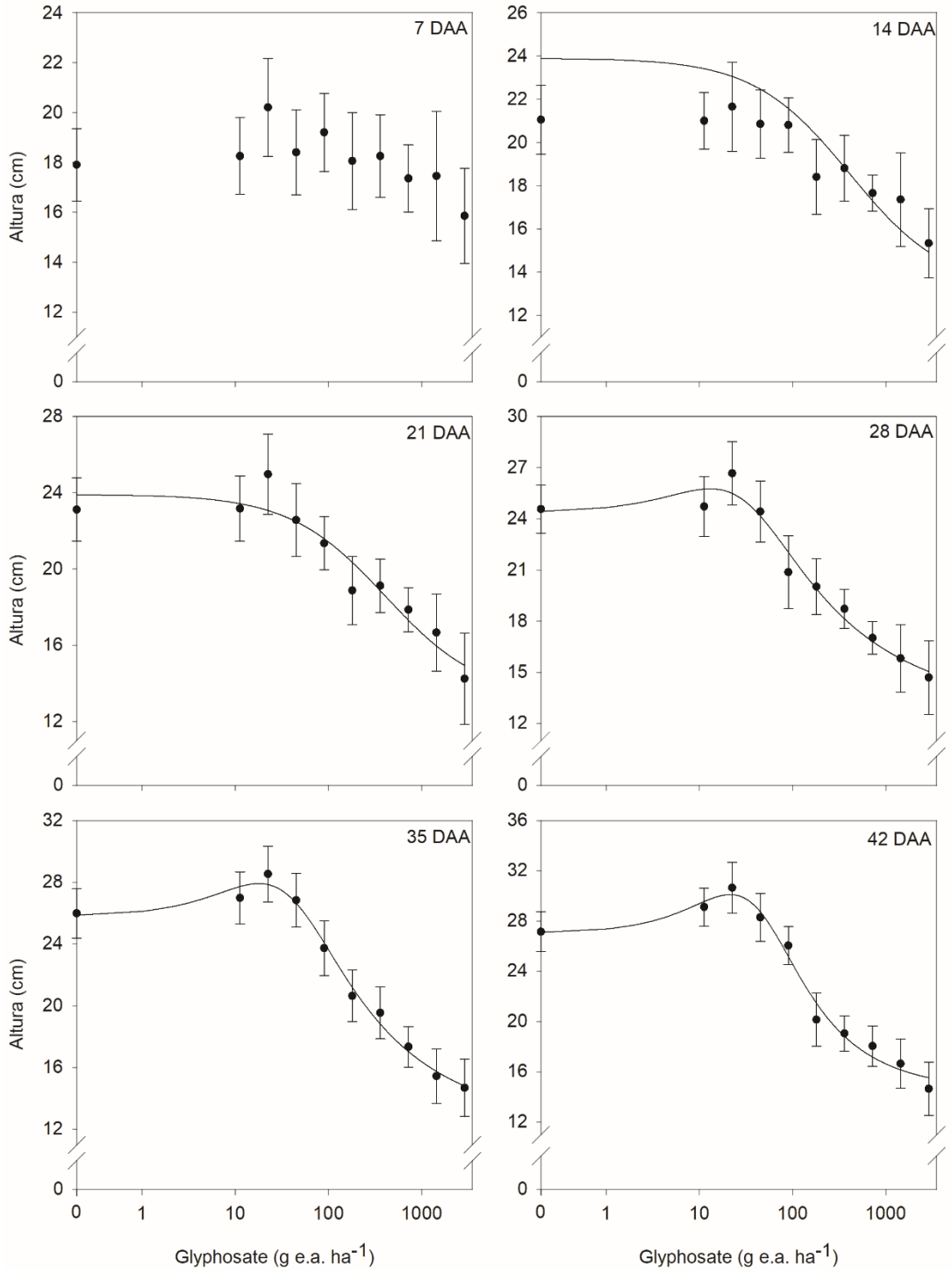


Figura 9 - Altura de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Quanto à altura das plantas, aos 28 DAA foi observado incremento no intervalo de 7,4 a 20,5 g e.a. ha^{-1}, com incremento máximo na dose de 13,1 g e.a. ha^{-1} (Figura 9). Aos 42 DAA, o acréscimo máximo de altura foi obtido na dose de 21,5 g e.a. ha^{-1},

porém entre as doses de 4,6 e 49,1 g e.a. ha^{-1} observou-se aumento de ao menos 5%, em relação as plantas que não receberam aplicação do herbicida (Figura 9).

Ao avaliar o efeito hormético do glyphosate sobre plantas de café, Carvalho et al. (2013a) constataram que este fenômeno está condicionado ao estádio de crescimento, em que plantas mais desenvolvidas apresentaram estímulo, uma vez que houve aumento em variáveis como número de folhas e altura de plantas e acúmulo de biomassa. Porém, diferentemente dos resultados obtidos neste trabalho, os autores verificaram estímulo máximo em doses mais elevadas, 738 g e.a. ha^{-1} para número de folhas e 620 g e.a. ha^{-1} para altura de plantas.

Em outras culturas ou plantas não cultivadas a aplicação de subdoses de glyphosate também promoveu incremento no número de folhas e na altura de plantas. Em fava (*Vicia faba*) o máximo estímulo de crescimento ocorreu com a aplicação de 20 g e.a. ha^{-1} (EL-SHAHAWY; SHARARA, 2011). Em cana-de-açúcar a aplicação de glyphosate na dose de 1,8 g e.a. ha^{-1} promoveu aumento na altura das plantas (SILVA et al., 2009), assim como a aplicação de 1,8 a 72 g e.a. ha^{-1} também aumentou a altura de planta de grão de bico (ABBAS et al., 2015). Em plantas daninhas, Nadeem et al. (2016) observaram incremento na altura de planta nas espécies *Coronopus didymus*, *Chenopodium álbum*, *Lathyrus aphaca*, *Rumex dentatus* com a aplicação de 16 g e.a. ha^{-1}.

As variáveis acúmulo de matéria seca e a área foliar das plantas de café foram ajustadas pelo modelo 1, o que configura ocorrência do efeito hormético do glyphosate. Esses ajustes apresentaram coeficiente de determinação (R^2) de 0,98; 0,96; 0,98 e 0,99 para massa seca da folha (MSF), caule (MSC) e total (MST) e área foliar (AF), respectivamente (Tabela 3).

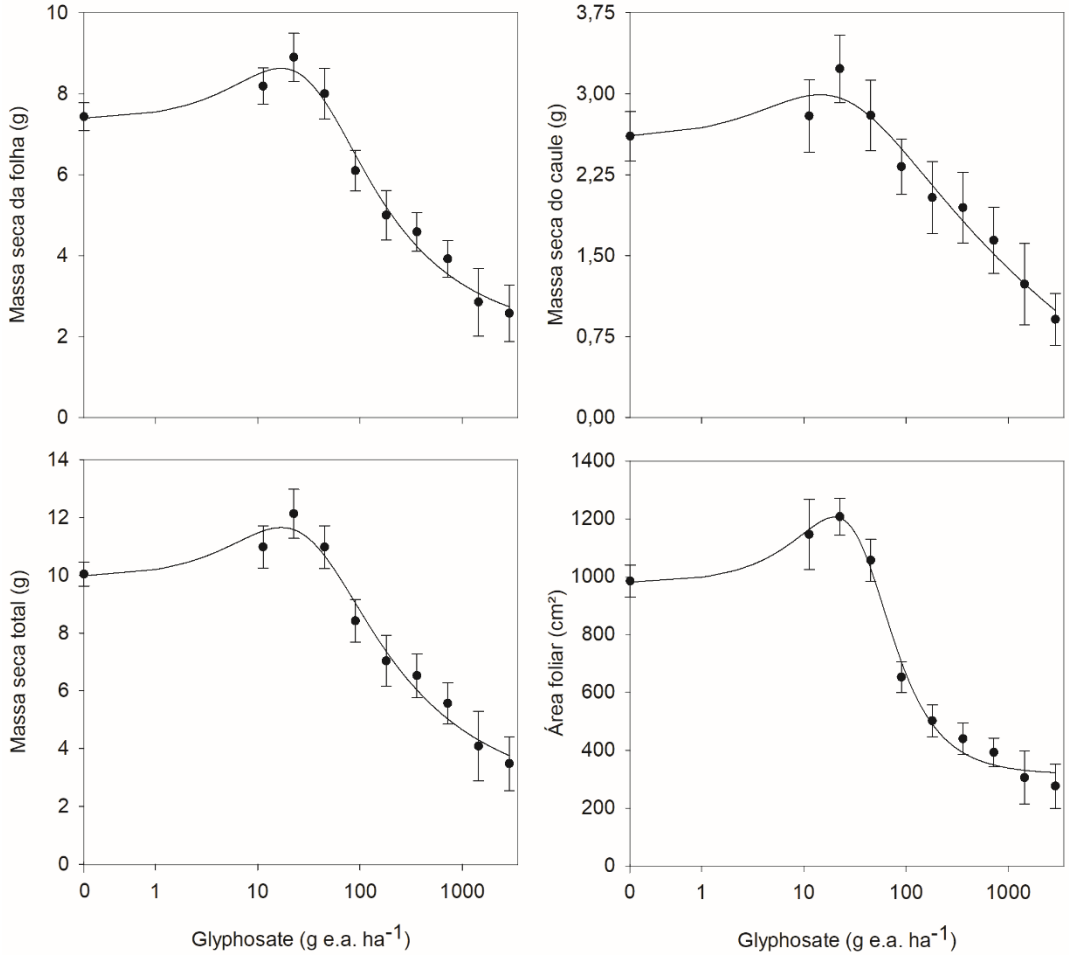
Tabela 3 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para massa seca da folha (MSF), caule (MSC) e total (MST) e área foliar café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.

	MSF	MSC	MST	AF
Doses	61,49**	22,23**	53,53**	97,74**
Hipótese f≠0	23,34	8,57	21,778	31,50
Modelo	1	1	1	1
Regressão	135,98**	48,11**	117,6**	217,92
R^2	0,98	0,96	0,98	0,99
Constantes				
b	1,49	1,14	1,42	2,14
c	1,94	-1,39	2,26	313,97
d	7,35	2,58	9,92	975,98
e	31,91	21,72	30,47	39,96
f	0,23	0,23	0,34	21,59
CV (%)	16,13	23,08	16,65	16,86

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

O incremento máximo no acúmulo de massa seca da folha, caule e total foi de 14,8%, 13,6% e 14,9%, respectivamente, em relação as plantas não tratadas com glyphosate. As doses que promoveram esses resultados foram de 17,0 g e.a. ha^{-1} para MSF, 14,5 g e.a. ha^{-1} para MSC e 17,0 g e.a. ha^{-1} MST. No entanto, para estas variáveis observou-se estímulo de, ao menos 5%, em doses de até 47,7 g e.a. ha^{-1} para MSF, 54,4 g e.a. ha^{-1} para MSC e 51,0 g e.a. ha^{-1} para MST. Para área foliar o estímulo ocorreu até a dose de 45,3 g e.a. ha^{-1}, sendo que o incremento máximo em 19,9 g e.a. ha^{-1}, o que representa aumento na área foliar de 19% em relação as plantas não tratadas com o glyphosate (Figura 10).

Figura 10 - Massa seca da folha, caule e total e área foliar de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate



No trabalho de Carvalho et al. (2013a), o aumento da área foliar e massa seca do caule, folha e parte aérea do cafeeiro ocorreu com aplicação de glyphosate nas doses de 536, 488, 530 e 513 g e.a. ha^{-1}, respectivamente. Em levantamento bibliográfico, Brito et al. (2017) concluíram que em plantas suscetíveis ao glyphosate, as doses que configuram o efeito hormético variam, de modo geral, de 1,8 a 25 g e.a. ha^{-1}.

A avaliação de variáveis morfológicas para caracterizar o efeito hormético do glyphosate sobre as plantas são amplamente empregadas, dentre estas variáveis o acúmulo de biomassa e área foliar são corriqueiramente utilizados (BRITO et al., 2017). Em cana-de-açúcar e eucalipto a aplicação de glyphosate, na faixa de 5,8 a 19 g e.a. ha^{-1}, proporcionou aumento na massa seca da folha, caule e total (NASCENTES et al., 2018). A aplicação de glyphosate na dose de 1,8 e 3,7 g e.a. ha^{-1} aumentou a área foliar da cana de açúcar (PINCELLI-SOUZA et al., 2020) e eucalipto (VELINI et

al., 2008), respectivamente. A aplicação de subdoses também proporcionou aumento no acúmulo de biomassa em milho, soja, pinus (VELINI et al., 2008) e braquiária (MORAES et al., 2020).

A ampla utilização de variáveis morfológicas para retratar o efeito hormético do glyphosate ou de outras substâncias pode estar relacionada com a fácil mensuração e por fornecer informações que podem ir além das variáveis analisadas, além de ser um reflexo do funcionamento dos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas.

Dentre os índices de análise de crescimento avaliados, a taxa de crescimento foliar absoluta e a razão de área foliar foram ajustadas pela equação do modelo 1, o que configura a ocorrência do efeito hormético. As taxas de crescimento relativo e de assimilação líquida não apresentaram este comportamento e, portanto, foram ajustadas pela equação do modelo 2 (Tabela 4). A taxa de crescimento absoluto pode ser utilizada para estimar a velocidade média de crescimento ao longo do período de observação (BENINCASA, 2003). Neste sentido, observou-se que a TCA apresentou estímulo sob uma faixa de dose de 1,5 a 56,5 g e.a. ha^{-1}, sendo o incremento máximo de 20,4% em uma dose de 19 g e.a. ha^{-1} (Figura 11).

Tabela 4 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para taxa de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR), razão de área foliar (RAF), taxa de assimilação líquida (TAL), índice de área foliar (IAF), duração de área foliar (DAF), taxa de emissão foliar (TEMF) e taxa de expansão foliar (TEXF) de planta de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate

	TCA	**TCR**	**RAF**	**TAL**
Doses	58,16**	34,98**	9,31**	22,11**
Hipótese f≠0	22,82	-2,57	10,24	0,02
Modelo	1	2	1	2
Regressão	127,73**	100,93**	19,45**	64,64**
R^2	0,98	0,96	0,93	0,97
Constantes				
b	1,56	0,94	1,91	1,20
c	0,005	-0,006	98,31	-0,08
d	0,16	0,03	105,26	0,35
e	36,07	645,50	232,77	943,52
f	0,006	--	-0,18	--
CV (%)	25,87	29,16	9,9	33,36
	IAF	**DAF**	**TEMF**	**TEXF**
Doses	97,74**	97,74**	66,86**	97,74**
Hipótese f≠0	31,50	31,50	12,12	31,50
Modelo	1	1	1	1
Regressão	217,92**	217,92**	148,45**	2147,92**
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99
Constantes				
b	2,14	2,14	2,98	2,14
c	0,91	13,56	-0,03	-0,42
d	2,82	27,46	0,29	15,34
e	39,96	39,96	61,45	39,96
f	0,06	0,45	0,005	0,51
CV (%)	16,86	11,41	48,86	32,26

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

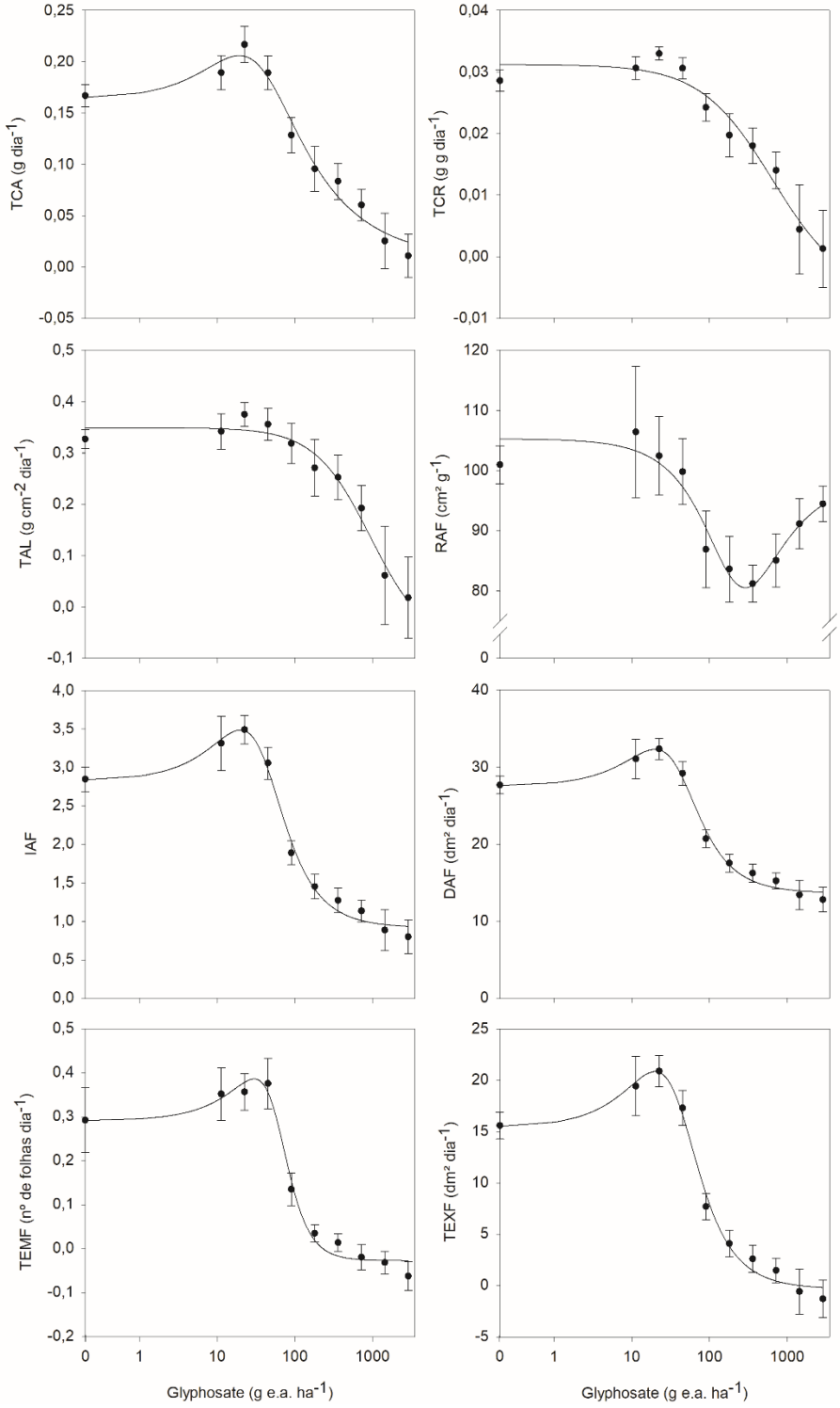
A razão de área foliar denota o quanto de área foliar está disponível para a assimilação de CO_2, ou seja, representa a área que está sendo utilizada pela planta para produção de massa seca. Neste sentido, havendo a diminuição desta variável pode-se inferir que os fotoassimilados estão sendo direcionados para o desenvolvimento de órgãos não fotossintetizantes, tornando-a mais ineficiente já que a massa total aumenta e a capacidade fotossintética pouco varia (ANDRADE et al., 2005). Desta forma, entende-se que as plantas de café que apresentaram menor RAF, quando expostas ao glyphosate, estão relacionadas com uma estrutura foliar de menor dimensão e com maiores deformidades, devido a fitointoxicação causada pelo

herbicida. Nos resultados, observa-se que a redução na RAF não ultrapassou de 5% até a dose de 29 g e.a. ha^{-1}, indicando que a ação fitotóxica do glyphosate em baixas doses foi mínima. Enquanto que na dose de 290 g e.a. ha^{-1} houve a menor razão de área foliar (84,4 cm^2 g^{-1}), o que representa redução de 23,6% em relação as plantas não tratadas com o glyphosate (Figura 11). Em doses mais altas, observa-se que as plantas de café apresentaram valores de RAF superiores aos das plantas que foram expostas as doses que promoveram os menores valores da razão de área foliar, esse comportamento pode ser atribuído ao fato de que nas doses mais elevadas ocorre a paralisação do crescimento, com isso não há emissão de novas folhas nem o aumento de injúrias, o que reflete em paralização da área foliar e acúmulo de biomassa.

Embora as variáveis de TCR e TAL não tenham sido ajustadas ao efeito hormético do glyphosate, em subdoses não foram observadas grandes reduções. Para a taxa de crescimento relativo, até a dose de 25 g e.a. ha^{-1} não ocorreram reduções superiores a 5%, enquanto para a taxa assimilatória líquida, esse percentual de redução não foi observado até a dose de 68,6 g e.a. ha^{-1}, quando comparadas com as plantas não expostas ao glyphosate (Figura 11).

Os índices de crescimento relacionados com a dinâmica foliar das plantas de café foram ajustados pela equação de 5 parâmetros, o que configura o efeito hormético do glyphosate sobre o índice e a duração de área foliar e as taxas de emissão e expansão foliar. Para o IAF houve aumento, de ao menos 5%, entre as doses de 2,3 e 45,3 g e.a. ha^{-1}, no entanto o estímulo máximo de 19% ocorreu na dose de 20 g e.a. ha^{-1}. Na DAF o intervalo de dose que ocorreu estímulo foi de 3,2 a 48 g e.a. ha^{-1}, com pico máximo de 14,9% na dose de 19,9 g e.a. ha^{-1}. Para a emissão de novas folhas o intervalo de dose que promoveu maior velocidade no surgimento de novas folhas foi de 3 a 56,4 g e.a. ha^{-1}, com pico de estímulo de 24,9% na dose de 30 g e.a. ha^{-1} (Figura 11). Este resultado reflete na quantidade de folhas ao longo do crescimento das plantas, sobretudo ao fim do experimento, em que aos 42 DAA as plantas que foram expostas a dose de glyphosate que proporcionou maior número de folhas apresentaram aumento de quatro folhas em relação as plantas não tratadas com o herbicida (Figura 8).

Figura 11 – Taxa de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR), razão de área foliar (RAF), taxa de assimilação líquida (TAL), índice de área foliar (IAF), duração de área foliar (DAF), taxa de emissão foliar (TEMF) e taxa de expansão foliar (TEXF) de plantas de café aos 42 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate



A taxa de expansão foliar reflete o ganho diário de área foliar. Neste sentido, com a aplicação de glyphosate entre as doses de 1,5 e 47 g e.a. ha^{-1}, obteve-se aumento na TEXF de ao menos 5%, contudo na dose de 20 g e.a. ha^{-1} observou-se estímulo máximo de 26,2%, o que representa um aumento diário de aproximadamente 5 dm^2, quando comparado com plantas que não receberam a aplicação do herbicida (Figura 11). E assim como a TEMF reflete o número total de folhas, a TEXF projeta a área foliar total, o que explica o aumento de 19% na área foliar de plantas de café aos 42 DAA (Figura 9).

4.2 Análises fisiológicas

Os resultados apresentados nas análises morfológicas são consequências dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas, quando expostas ao glyphosate. Neste sentido, as variáveis inerentes as trocas gasosas e fluorescência da clorofila apresentaram, em sua maioria, efeito hormético do glyphosate. Brito et al. (2018) ao levantarem informações sobre o efeito hermético de glyphosate em plantas, concluíram que além de baixas doses estimularem o crescimento das plantas também aumentam a eficiência fotossintética, embora os processos que acarretam esse comportamento não sejam claramente conhecidos, em que alterações na taxa de fixação de carbono, no teor de ácido chiquímico e na translocação de carboidratos podem influenciar na ocorrência deste fenômeno (CEDERGREEN; OLESEN, 2010).

O estímulo sobre as variáveis assimilação de CO_2 (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) foi observado desde os momentos iniciais após a aplicação do herbicida e estendeu-se até o final das avaliações (Tabela 5). Alguns autores apontam como dificuldade de se estudar o comportamento hormético de determinada substância, o fato deste em muitos casos ser de curta duração ou momentos específicos do crescimento da planta.

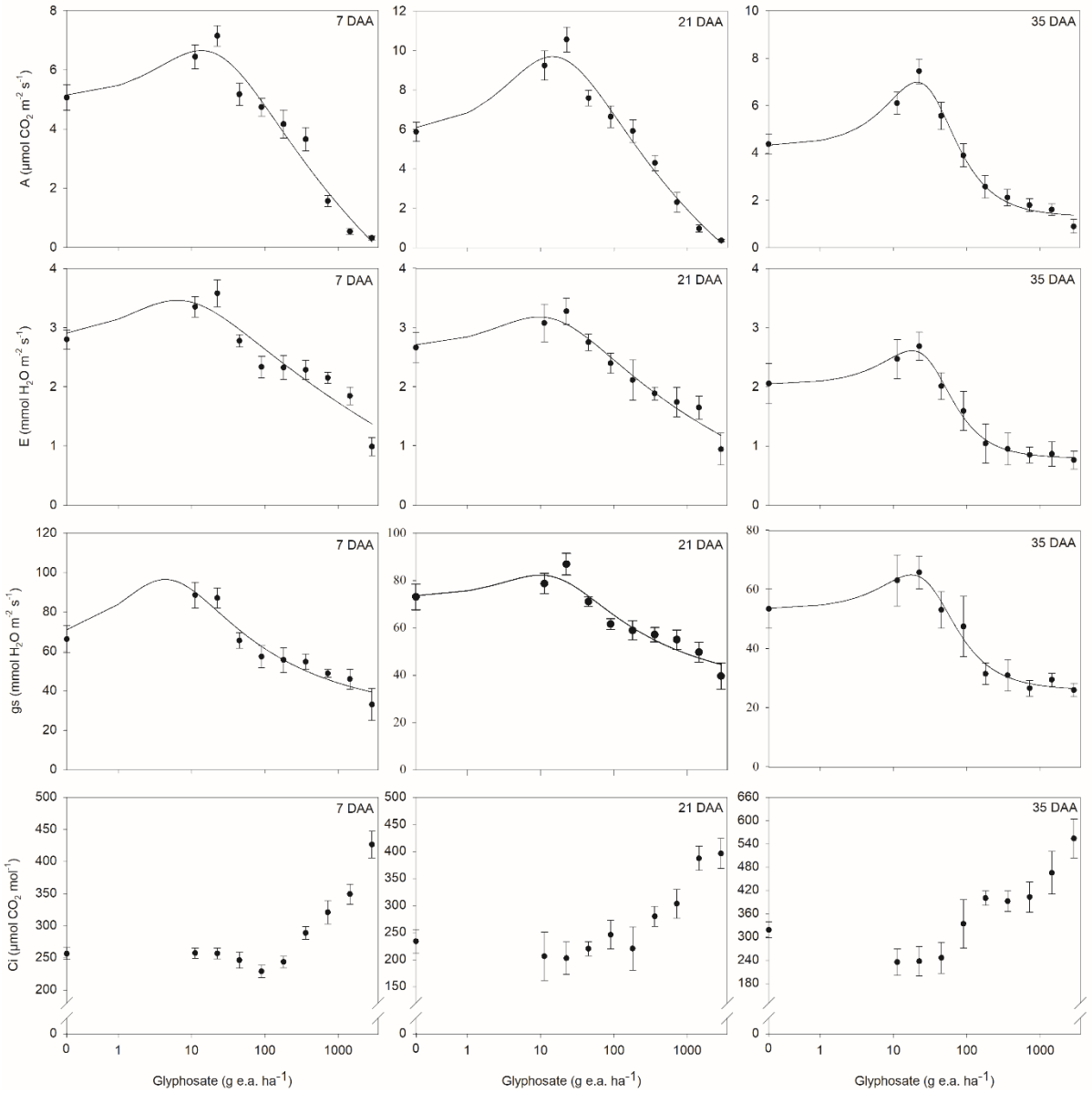
Tabela 5 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de CO_2 (Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	7 DAA		21 DAA		35 DAA	
	A	**E**	**A**	**E**	**A**	**E**
Doses	190,07**	78,83**	182,77**	35,24**	102,87**	29,07**
Hipótese f≠0	55,32	49,00	164,59	21,17	106,36	12,05
Modelo	1	1	1	1	1	1
Regressão	410,07**	155,52**	400,01**	75,76	227,39*	64,77**
R^2	0,96	0,88	0,97	0,96	0,98	0,99
Constantes						
B	1,13	1,09	1,18	1,14	1,83	2,12
C	-8,21	-2,43	-7,85	-0,89	0,87	0,79
D	5,04	2,81	5,85	2,66	4,28	2,03
E	15,94	5,01	12,06	10,45	28,26	32,28
F	1,03	1,30	1,77	0,44	0,29	0,06
CV (%)	14,02	10,83	14,80	17,05	18,86	28,14
	7 DAA		**21 DAA**		**35 DAA**	
	gs	**Ci**	**gs**	**Ci**	**gs**	**Ci**
Doses	37,69**	89,80**	45,86**	24,30**	26,47**	25,42**
Hipótese f≠0	56,61	--	27,99	--	8,31	--
Modelo	1	--	1	--	1	--
Regressão	79,01**	--	94,57*	--	58,26**	--
R^2	0,93	--	0,92	--	0,98	--
Constantes						
B	1,32	--	1,30	--	1,96	--
C	27,70	--	32,97	--	25,87	--
D	66,07	--	72,72	--	53,31	--
E	3,43	--	14,13	--	32,06	--
F	28,55	--	4,06	--	1,34	--
CV (%)	14,92	7,17	10,57	17,15	22,38	18,47

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Com a ocorrência do efeito hormético de glyphosate sobre a assimilação de CO_2 de plantas de café, observou-se estímulo, de ao menos 5%, entre as doses de 0,5 e 71 g e.a. ha^{-1}, com aumento máximo de 24,2% na dose 13,6 g e.a. ha^{-1}. Nas avaliações de 21 e 35 DAA, o estímulo máximo foi de 39,6 e 38,9% em doses de 14,4 e 21 g e.a. ha^{-1}, respectivamente. Nesses períodos houve aumento na assimilação entre as doses de 0,3 e 128,8 g e.a. ha^{-1} aos 21 DAA e de 0,9 e 71,9 g e.a. ha^{-1} aos 35 DAA (Figura 12).

Figura 12 – Assimilação de CO_2 (A), transpiração (E), condutância estomática (gs) e concentração interna de CO_2 (Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Afim de avaliar a influência da deriva de glyphosate sobre a fisiologia de plantas de café, alguns autores observaram aumento em variáveis de trocas gasosas. Carvalho et al. (2012) relataram aumento inicial na assimilação de CO_2, transpiração e condutância estomática das plantas jovens de café, com aplicação de 180, 360 e 720 g e.a. ha^{-1}, porém esses efeitos não foram persistentes, visto que aos 60 DAA não foi observado incremento. Também para estas variáveis, Domingues Júnior (2011) observou estímulo com a aplicação de 7,2; 72 e 360 g e.a. ha^{-1}. Já Carvalho et

al., 2013b) não observaram alterações na assimilação de CO_2 de plantas de café, com aplicação de 115,2 e 460,8 g e.a. ha^{-1}.

Em outras espécies de plantas, a aplicação de subdoses de glyphosate também promoveu maior eficiência de variáveis relacionadas às trocas gasosas. Em cana-de-açúcar a assimilação de CO_2, a taxa transpiratória e a condutância estomática apresentaram estímulo máximo com aplicação de 6,1; 3,4; e 3,4 g e.a. ha^{-1}, respectivamente (NASCENTES et al., 2018). Esses mesmos autores observaram comportamento semelhante para eucalipto, porém o estímulo ocorreu nas doses de 11,6; 11,4 e 11,2 g e.a. ha^{-1}, respectivamente. Em cevada, Cedergreen e Olesen (2010) observaram aumento da taxa de assimilação de CO_2 com aplicação de glyphosate na dose de 22 g e.a. ha^{-1}.

A variável transpiração foi ajustada pelo modelo que caracteriza o efeito hormético do glyphosate em todos os períodos de avaliação, com coeficiente de determinação de 0,88, 0,96 e 0,99 aos 7, 21 e 35 DAA, respectivamente (Tabela 5). No primeiro momento (7 DAA) foi observado aumento na transpiração entre as doses de 0,3 e 47,3 g e.a. ha^{-1}, no entanto, a dose de 6,3 g e.a. ha^{-1} promoveu a máxima taxa de transpiração, com aumento de 18,9% em relação as plantas não tratadas com o glyphosate. Esse mesmo comportamento foi observado nas avaliações de 21 e 35 DAA, porém aos 21 DAA a faixa de estímulo foi entre as doses de 0,7 e 46,9 g e.a. ha^{-1} e aos 35 DAA entre 1,7 e 44,1 g e.a. ha^{-1}. Já o estímulo máximo aos 21 DAA (16,3%) foi observado na dose de 9,5 g e.a. ha^{-1} e aos 35 DAA (22,1%) na dose de 17,8 g e.a. ha^{-1} (Figura 12). Apesar do aumento da transpiração indicar que as plantas perdem maior quantidade de água, durante o processo de assimilação de CO_2, neste caso não se caracteriza por ineficiência da planta, visto o aumento na assimilação e a manutenção da eficiência no uso da água.

No processo de assimilação de CO_2 a perda de água é inevitável, e este processo é regulado principalmente pela abertura e fechamento dos estômatos, por outro lado, maior eficiência na fixação de CO_2 pode estar relacionada com o aumento na condutância estomática (CEDERGREEN; OLESEN, 2010). Neste sentido, observa-se que a aplicação de glyphosate proporcionou condições em que a planta aumentasse ou diminuísse sua condutância estomática, em que nas três avaliações o efeito hormético do glyphosate foi confirmado (Tabela 5). Aos 7 DAA, entre as doses de 0,2 e 49,5 g e.a. ha^{-1} houve maior abertura dos estômatos, sendo a dose de 4,4 g e.a. ha^{-1} a que promoveu os maiores valores de condutância, com aumento de 31,4% em

relação as plantas que não receberam aplicação de glyphosate. Já na última avaliação, aos 35 DAA, o aumento da condutância estomática foi observado sobre a faixa de dose de 2,1 a 44,3 g e.a. ha^{-1}, com estímulo máximo de 17,8% na dose de 17,5 g e.a. ha^{-1} (Figura 12).

Plantas com via metabólica do tipo C3, como o café, tendem a concentrar CO_2 no mesofilo foliar em maior quantidade, sobretudo quando estão sob algum tipo de estresse, para suprir possíveis diminuições na assimilação de CO_2 e minimizar possíveis danos decorrentes deste estresse (TAIZ et al., 2017). Desta forma, observa-se que as plantas que foram expostas a doses de glyphosate que não interferiu negativamente ou promoveu estímulo na assimilação de CO_2, não houve acréscimo no acúmulo de CO_2 internamente, quando comparado com plantas sem aplicação do herbicida, além disto, para esta situação observou-se certa diminuição nos valores de Ci, o que reflete em maior eficiência de carboxilação. Neste sentido, Cedergreen e Olesen (2010) também observaram, em plantas de cevada tratadas com glyphosate (22 g e.a. ha^{-1}), que a diminuição de Ci em função da condutância estomática está relacionada provavelmente com a maior taxa de fixação de CO_2.

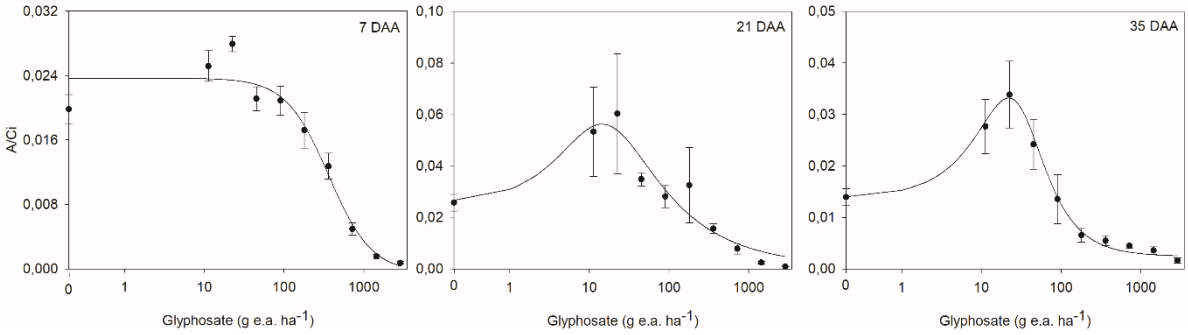
A eficiência de carboxilação, assim como suas variáveis dependentes (A e Ci), foram influenciadas pela aplicação de glyphosate. No entanto, o ajuste pelo modelo que caracteriza o comportamento de hormesis do herbicida foi observado aos 21 e 35 DAA, com coeficiente de determinação de 0,92 e 0,98, respectivamente (Tabela 6). Embora a eficiência de carboxilação aos 7 DAA não tenha sido ajustada ao modelo de hormesis, observou-se que até a dose de 57 g e.a. ha^{-1} não foram constatadas reduções na relação A/Ci superiores a 5% (Figura 13).

Tabela 6 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para a eficiência de carboxilação de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate

	Eficiência de carboxilação		
	7 DAA	**21 DAA**	**35 DAA**
Doses	169,46**	14,31**	41,22**
Hipótese f≠0	-9,97	19,77	63,49
Modelo	2	1	1
Regressão	482,94**	29,66**	91,06**
R^2	0,95	0,92	0,98
Constantes			
b	1,61	1,57	1,98
c	-0,0005	0,0004	0,0003
d	0,02	0,03	0,01
e	362,79	14,76	25,92
f	--	0,006	0,002
CV (%)	15,62	64,84	42,49

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Figura 13 - Eficiência de carboxilação (A/Ci) de plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Em plantas C3, no processo fotossintético a fixação do carbono inicia-se pela reação de carboxilação, que por sua vez é catalisada pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (rubisco) (TAIZ et al., 2017). Neste sentido, a quantidade de CO_2 que uma planta pode assimilar em função da concentração interna na folha (Ci), pode determinar a eficiência de carboxilação. Deste modo, com a aplicação de glyphosate em doses que promoveram aumento na assimilação de CO_2 sem acarretar o acréscimo na concentração interna, observa-se maior eficiência na carboxilação. Essa eficiência foi superior, em comparação com as plantas não tratadas com o herbicida em até 54,5% aos 21 DAA e 58,7% aos 35 DAA, as doses que promoveram esse

aumento máximo foram as de 14,4 e 22 g e.a. ha^{-1}, respectivamente. Embora, o aumento na eficiência de carboxilação tenha sido observado entre as doses de 0,2 e 116 g e.a. ha^{-1} aos 21 DAA e de 0,4 e 87g e.a. ha^{-1} aos 35 DAA (Figura 13).

A eficiência do uso de água foi medida a partir da quantidade de carbono assimilado pela planta, por cada unidade de água perdida nos processos de transpiração e abertura e fechamento estomático. Neste sentido, tem-se uma eficiência efetiva do uso da água calculada pela razão entre a assimilação de CO_2 e a transpiração, e a eficiência intrínseca do uso da água definida pela assimilação de CO_2 e a condutância estomática. Desta forma, em ambas as abordagens sobre o uso da água observa-se que a aplicação das diferentes doses de glyphosate ocasionou comportamentos diferentes nas plantas de café, porém apenas a eficiência intrínseca foi ajustada pelo modelo que caracteriza o efeito hormético do herbicida. O ajuste ocorreu aos 21 e 35 DAA, com coeficiente de determinação de 0,94 e 0,98, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para eficiência efetiva (EEUA) e intrínseca (EIUA) do uso da água aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

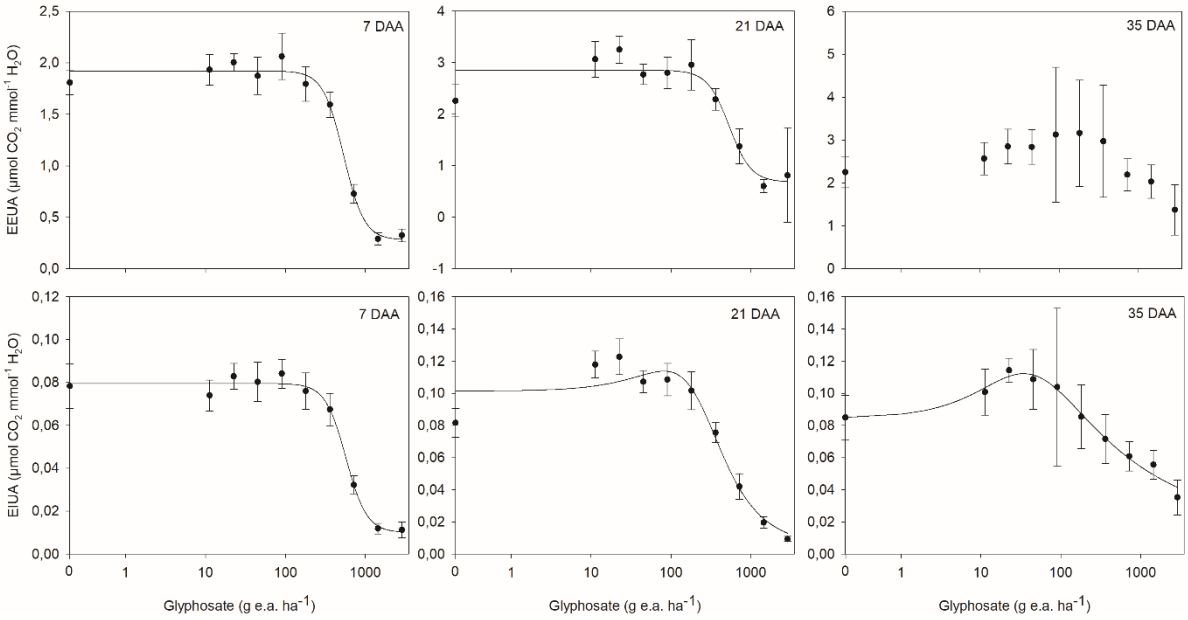
	7 DAA		21 DAA		35 DAA	
	EEUA	**EIUA**	**EEUA**	**EEIUA**	**EEUA**	**EEIUA**
Doses	103,29**	68,32**	21,26**	96,77**	1,80^{ns}	6,28**
Hipótese f≠0	0,001	0,15	0,83	9,05	--	5,61
Modelo	2	2	2	1	--	1
Regressão	306,10**	203,03**	58,76**	205,35**	--	13,87**
R^2	0,99	0,99	0,93	0,94	--	0,98
Constantes						
b	3,37	3,34	3,17	1,91	--	1,36
c	0,28	0,01	0,68	0,004	--	0,01
d	1,92	0,08	2,85	0,10	--	0,08
e	535,65	573,30	534,92	243,45	--	40,67
f	--	--	--	0,0003	--	0,003
CV (%)	15,25	18,84	29,69	16,90	53,08	39,82

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

O aumento na taxa transpiratória gerado pela aplicação de glyphosate não ocasionou a diminuição da eficiência efetiva do uso da água, uma vez que o aumento na assimilação de CO_2 foi superior (Figura 14), indicando que a maior quantidade de CO_2 foi absorvida em detrimento da menor perda de água. Neste sentido, a diminuição

da eficiência efetiva do uso da água, superiores a 5% em comparação com plantas não tratadas com o glyphosate, ocorreu a partir das doses de 235 e 231,5 g e.a. ha^{-1}, aos 7 e 21 DAA, respectivamente. Aos 35 DAA, não foi observado diferença significativa sobre as doses de glyphosate, e, portanto, não foi aplicado nenhum dos modelos (Tabela 7).

Figura 14 - Eficiência efetiva (EEUA) e intrínseca (EIUA) do uso de água em plantas de café expostas a diferentes doses de glyphosate aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA)



Quanto a eficiência intrínseca do uso da água, entende-se que a economia de água durante as trocas gasosas está relacionada com a menor condutância estomática, porém o aumento da condutância observado neste trabalho não refletiu em perda de eficiência do uso da água, uma vez que houve aumento na assimilação de CO_2 e com isso, em determinadas doses de glyphosate, a eficiência intrínseca do uso da água manteve-se semelhante ou houve aumento em relação as plantas que não foram tratadas com o herbicida. Aos 7 DAA, até a dose de 248 g e.a. ha^{-1} não foi observada redução da EIUA superiores a 5%. Já aos 21 e 35 DAA, houve aumento na eficiência intrínseca do uso da água. Aos 21 DAA, a máxima eficiência foi de 11% na dose de 82 g e.a. ha^{-1}, no entanto entre as doses de 18 e 160,7 g e.a. ha^{-1} observou-se valores de EIUA superiores de 5%, em relação as plantas que não receberam aplicação de glyphosate. Na avaliação final (35 DAA), o aumento (>5%) da EIUA foi

observado entre as doses de 1,7 e 170 g e.a. ha^{-1}, com eficiência máxima de 24,8% na dose 35 g e.a. ha^{-1} (Figura 14).

Em plantas de eucalipto, a eficiência no uso da água foi alterada com a aplicação de glyphosate. Nas doses de 43,2 e 86,4 g e.a. ha^{-1} houve incremento na produção de matéria seca por unidade de água transpirada, e em doses superiores a 86,4 g e.a. ha^{-1} ocorreu redução na eficiência no uso da água (MACHADO et al., 2010).

A fluorescência da clorofila, medida pelas variáveis taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}), foi influenciada pela aplicação de glyphosate, com exceção da avaliação aos 21 DAA todas os demais períodos foram ajustados pelo modelo que caracteriza o efeito hormético do herbicida (Tabela 8). Apesar de alguns autores relatarem que variáveis oriundas do processo de trocas gasosas, sobretudo a assimilação de CO_2, fornecem informações mais consistentes sobre o efeito indireto do glyphosate no processo fotossintético do que as variáveis de fluorescência da clorofila (CEDERGREEN; OLESEN, 2010; YANNICCARI et al., 2012). Por se tratar de uma variável dependente, no cálculo da ETR (KALAJI et al., 2014), a Φ_{PSII} apresenta comportamento semelhante, com valores de F e coeficiente de variação praticamente iguais, a depender da fonte de variação analisada (Tabela 8).

Tabela 8 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para a taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	7 DAA		14 DAA		21 DAA	
	ETR	**Φ_{PSII}**	**ETR**	**Φ_{PSII}**	**ETR**	**Φ_{PSII}**
Doses	31,98**	31,98**	29,29**	29,29**	38,38**	38,38**
Hipótese f≠0	9,11	8,079	10,03	10,02	0,56	-4,29
Modelo	1	1	1	1	2	2
Regressão	69,28**	69,02**	64,01**	64,01**	109,25**	80,73**
R^2	0,96	0,96	0,97	0,97	0,95	0,95
Constantes						
b	1,06	1,20	1,36	1,38	0,85	0,90
c	-148,70	-0,09	30,17	0,149	-46,19	-0,10
d	44,11	0,21	65,82	0,313	62,78	0,30
e	75,13	93,52	42,15	43,43	10829,33	6717,30
f	2,76	0,004	1,09	0,005	--	--
CV (%)	15,55	15,55	12,34	12,34	8,21	8,21
	28 DAA		**35 DAA**		**42 DAA**	
	ETR	**Φ_{PSII}**	**ETR**	**Φ_{PSII}**	**ETR**	**Φ_{PSII}**
Doses	18,05**	18,05**	10,84**	10,84**	36,90**	36,90**
Hipótese f≠0	9,76	9,56	12,13	12,13	15,55	15,55
Modelo	1	1	1	1	1	1
Regressão	39,42**	39,37**	23,68**	23,38**	81,22**	81,21**
R^2	0,97	0,97	0,97	097	0,98	0,98
Constantes						
b	1,10	1,17	1,52	1,53	1,20	1,21
c	-2,26	0,09	34,26	0,16	14,89	0,07
D	53,61	0,26	45,54	0,22	59,51	0,28
E	23,37	28,67	28,54	28,83	23,08	23,33
F	2,88	0,01	0,87	0,004	2,52	0,01
CV (%)	10,09	10,09	12,99	12,99	10,69	10,69

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Embora essas variáveis tenham comportamento similares, os dados gerados trazem informações distintas. A ETR representa o processo de transferência de elétrons do FSII para FSI, enquanto a Φ_{PSII} pode ser utilizada para determinar as taxas de atividade de FSII, em que maiores valores de Φ_{PSII} indicam que maior proporção de luz está sendo absorvida pelas clorofilas do complexo antena do FSII e esta é convertida em energia fotoquímica (KALAJI et al., 2014; KRALL; EDWARDS, 1992). Neste sentido, aos 7 DAA a aplicação de glyphosate entre as doses de 3,82 e 197,2 g e.a. ha^{-1} aumentou a ETR em ao menos 5%, no entanto, a dose de 50 g e.a. ha^{-1} proporcionou aumento máximo de 14,7%, em relação as plantas que não receberam aplicação do herbicida. Este mesmo comportamento ocorreu para a Φ_{PSII}, em que a

faixa de dose que houve estímulo foi de 5,1 a 194,5 g e.a. ha^{-1} com aumento máximo de 14,8% na dose de 55 g e.a. ha^{-1}. Ao fim do experimento (42 DAA), o efeito hormético do glyphosate ainda foi observado, porém em comparação ao período inicial a faixa de estímulo foi reduzida para 2,5 a 55,3 g e.a. ha^{-1} com pico na dose de 16,5 g e.a. ha^{-1}, que reflete um aumento de 10,6% em ETR e Φ_{PSII} (Figuras 15 e 16).

Figura 15 – Taxa de transporte de elétrons (ETR) de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

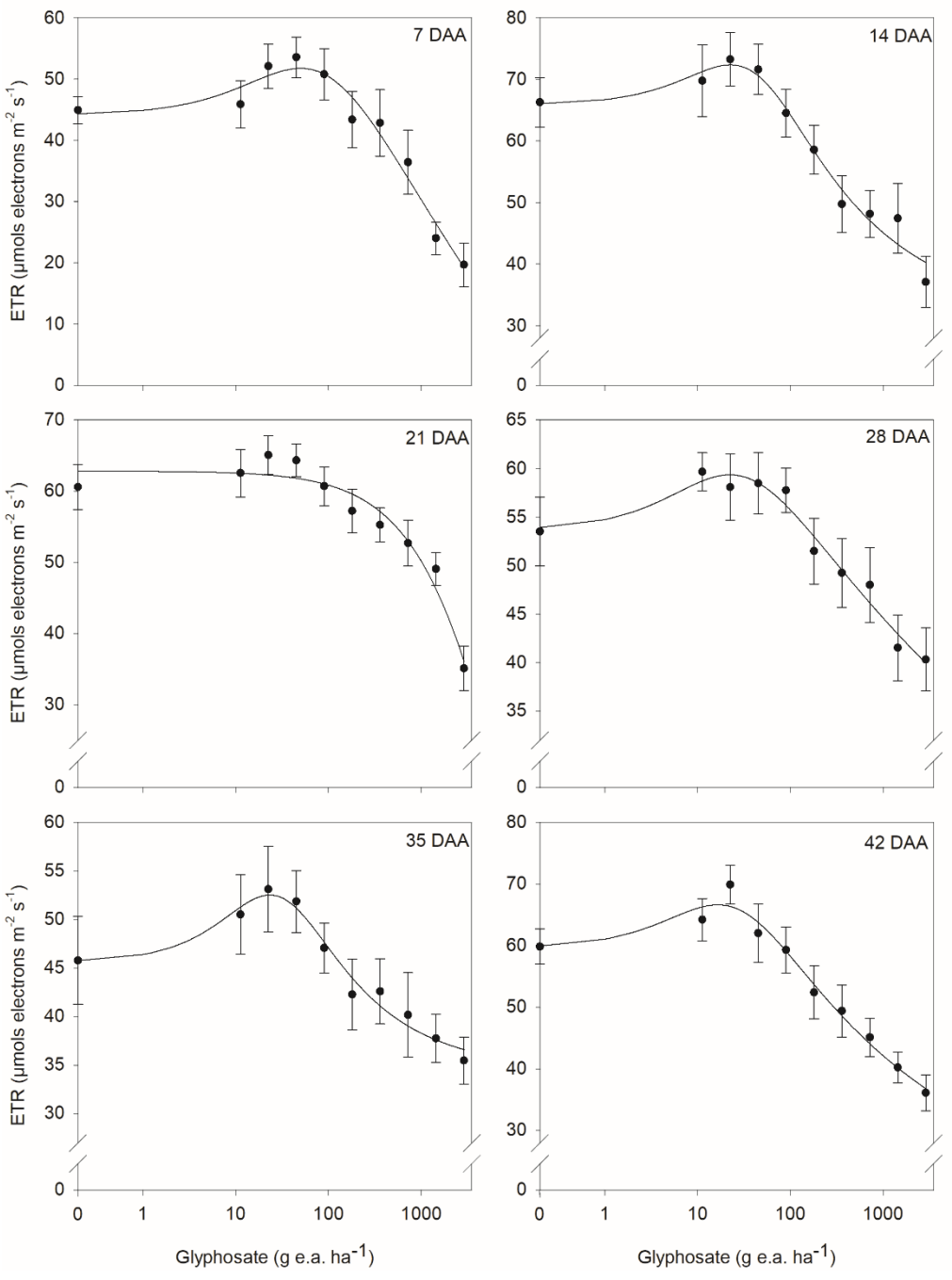
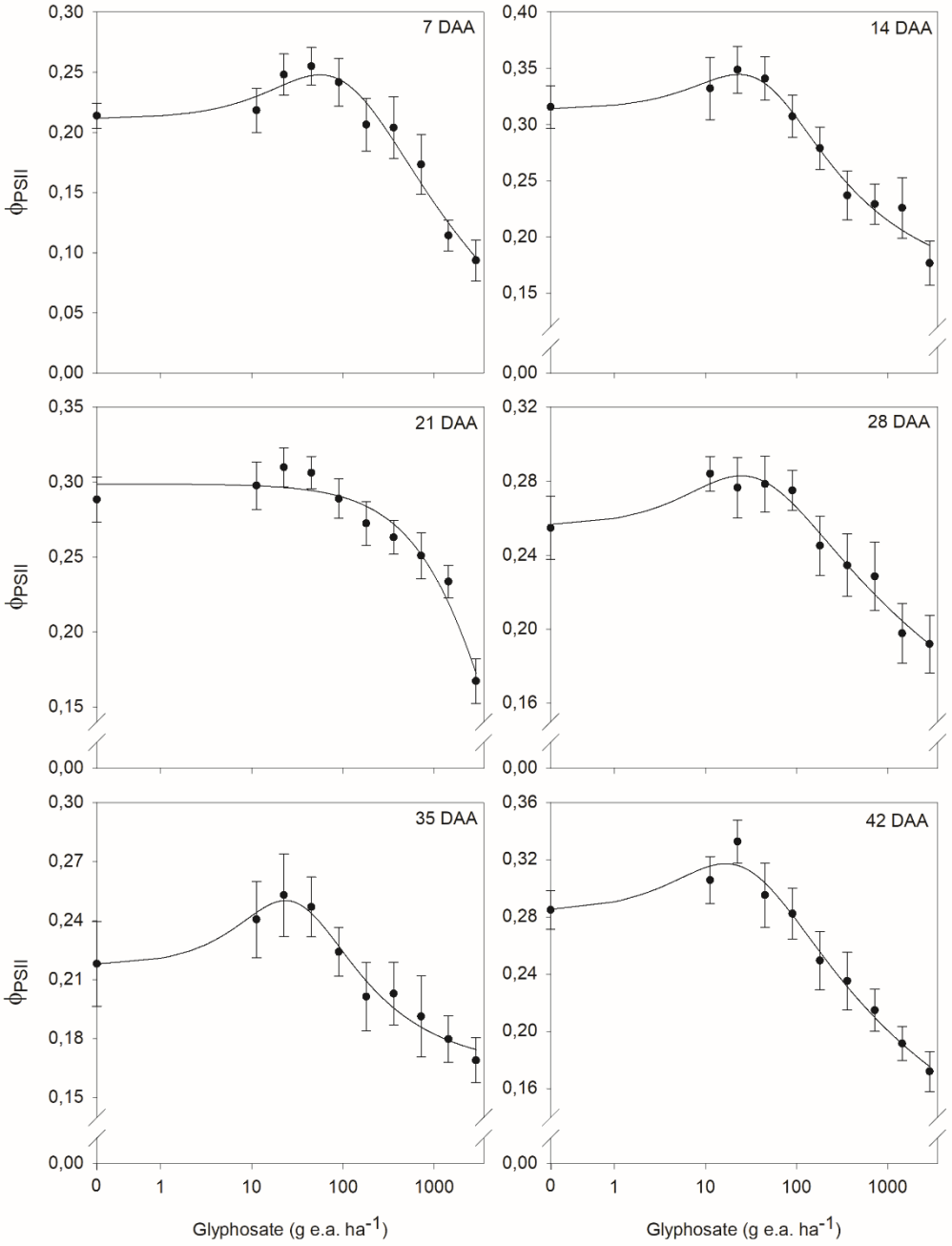


Figura 16 - Eficiência fotoquímica efetiva do fotossistema II (Φ_{PSII}) de plantas de café aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Ao avaliar a aplicação de baixas doses de glyphosate em soja convencional, Silva et al. (2016) relataram estímulo máximo na taxa de transporte de elétrons de 16% na dose de 1,8 g e.a. ha^{-1}, porém até a dose de 32 g e.a. ha^{-1} observou-se incremento

sobre a ETR, com isso os autores sugerem que a avalição de ETR pode ser usada como uma medida não destrutiva para avaliar o efeito hormético do glyphosate.

Elevados valores de ETR não implicam, necessariamente, em melhor eficiência fotossintética, sobre tudo em condições de estresse, pois caso ocorra o aumento na taxa de transporte de elétrons, sem que haja uma maior eficiência na assimilação de CO_2, pode indicar maior atividade de drenos alternativos de elétrons, como por exemplo a fotorrespiração e a reação de Mehler (FLEXAS; MEDRANO, 2002; KALAJI et al., 2017). Neste sentido a razão ETR/A, torna-se uma medida da relação entre os elétrons gerados no transporte de elétrons fotossintético (ETR) e os elétrons consumidos no processo de assimilação de CO_2 (A), ou seja, é uma variável que indica o rendimento relativo de elétrons da assimilação líquida de CO_2 (FLEXAS; MEDRANO, 2002).

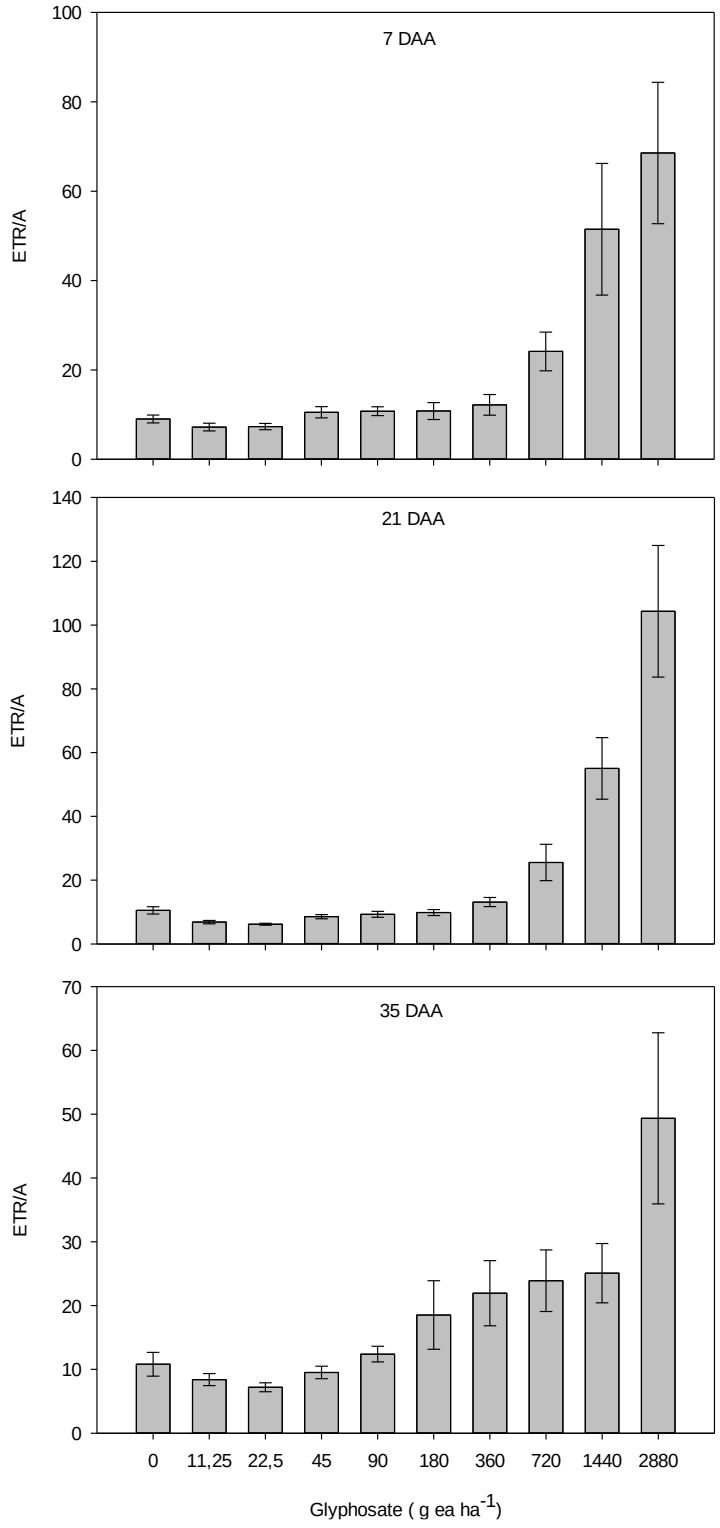
A razão ETR/A não foi ajustada pelos modelos propostos, porém observa-se efeito significativo da aplicação de diferentes doses de glyphosate (Tabela 9). As plantas de café expostas as menores doses apresentaram valores de ETR/A mais baixos ou próximos às plantas não tratadas, independente do período de avaliação, o que indica maior eficiência no consumo de elétrons no processo de fixação de CO_2 (Figura 17).

Tabela 9 - Valores de F e coeficiente de variação (CV) para a relação ETR/A em plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	ETR/A		
	7 DAA	**21 DAA**	**35 DAA**
Doses	35,16**	68,70**	21,45**
Hipótese f≠0	--	--	--
Modelo	--	--	--
Regressão	--	--	--
R^2	--	--	--
CV (%)	53,77	48,33	46,19

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Figura 17 - Relação entre a taxa de transporte de elétrons (ETR) e a assimilação líquida de CO_2 (A) (ETR/A) em plantas de café aos 7, 21 e 35 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Ao relacionar esses resultados com a eficiência de carboxilação pode-se presumir maior atividade da rubisco-carboxilase, visto o aumento da relação A/Ci em baixas doses de glyphosate (Figura 13). Em contrapartida, nas doses mais altas houve aumento de ETR/A nos três períodos de avaliação (Figura 17), podendo implicar em maior atividade de drenos alternativos de elétrons, que neste caso, por o café ser uma planta C3 há maior probabilidade desses elétrons serem desviados para o processo de fotorrespiração. Além disto, altos valores de ETR/A podem sugerir que os elétrons não consumidos podem reagir com o oxigênio, e aumentar o risco de danos oxidativos (SALAZAR-PARRA et al., 2012).

4.3 Análises bioquímicas

A aplicação de diferentes doses de glyphosate em plantas de café ocasionou, de modo geral, respostas significativas na concentração interna do herbicida e dos compostos relacionados à rota do ácido chiquímico. As concentrações de glyphosate e ácido chiquímico em folhas de café aos 7, 21 e 42 DAA não foram ajustadas aos modelos propostos, no entanto observa-se significância à aplicação das diferentes doses do herbicida (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores de F e coeficiente de variação (CV) para a concentração de glyphosate e ácido chiquímico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

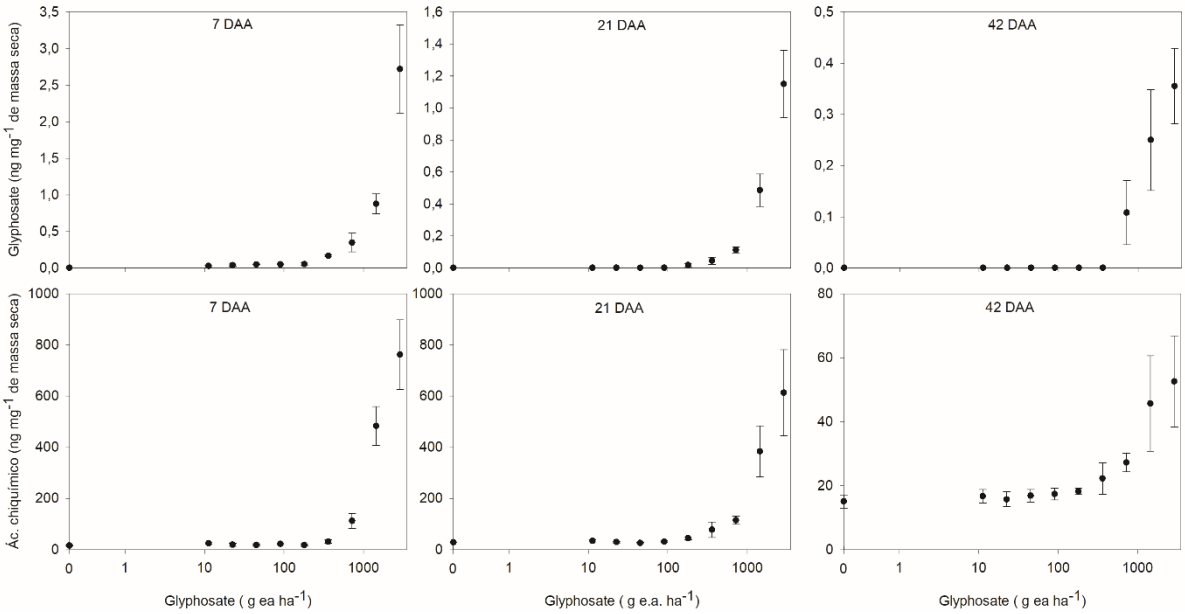
	Glyphosate			Ácido chiquímico		
	7DAA	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**
Doses	34,60**	43,39**	16,67**	50,83**	19,34**	7,26**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--	--
CV (%)	74,70	66,12	98,96	54,23	73,56	45,82

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

As maiores concentrações de glyphosate nas folhas de café foram observadas aos 7 DAA, em que o aumento foi correspondente a dose aplicada. Ao longo dos demais períodos de avaliação o nível de glyphosate diminui gradualmente, aos 21 e

42 DAA até as doses de 90 e 360 g e.a. ha^{-1}, respectivamente, não foram observados teores de glyphosate, acima dessas doses a concentração interna foi proporcional ao aumento da dose aplicada (Figura 18). Resultados semelhantes foram relatados em cana-de-açúcar, em que as maiores concentrações foram observadas nas maiores doses e nas primeiras avaliações (CARBONARI et al., 2014).

Figura 18 – Concentração de glyphosate e ácido chiquímico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação de diferentes doses de glyphosate



Assim como os teores de glyphosate, o aumento nos níveis de ácido chiquímico em folhas de café foi proporcional à dose a qual foram expostas, mesmo havendo diminuição da concentração com o crescimento das plantas (Figura 18). O aumento nos níveis de ácido chiquímico é um reflexo da inibição da EPSPs (AMRHEIN et al., 1980; VELINI et al., 2012b), então sugere-se que a diminuição da concentração com o crescimento da planta é resultado de uma recuperação parcial do nível da enzima (SCHRÜBBERS et al., 2014). Sobre o comportamento semelhante de glyphosate e ácido chiquímico, Schrübbers et al. (2016) classificaram como uma correlação linear em plantas de café.

Outros autores também observaram aumento do ácido chiquímico em plantas de café após a aplicação de glyphosate, mesmo em baixas doses. Domingues Júnior (2011) observou aumento nas doses de 7,2; 72 e 360 g e.a. ha^{-1} aos 5 e 15 DAA. Ao estudarem o acúmulo de ácido chiquímico em plantas de café, em condições

controladas e no campo, como um indicador de exposição da planta ao glyphosate, Schrübbers et al. (2014) observaram em ambiente controlado, aumento com a aplicação de 82 e 432 g e.a. ha^{-1}, no entanto na dose mais baixa esse comportamento só ocorreu aos 14 DAA, já na dose alta aos 14 e 28 DAA. Os autores observaram ainda que aos 56 DAA o nível de ácido chiquímico era semelhante aos das plantas não tratadas. Em condições de campo, o aumento de ácido chiquímico ocorreu apenas na dose de 306 g e.a. ha^{-1}.

A aplicação de glyphosate também acarretou aumento nos teores de ácido chiquímico em outras espécies de plantas sensíveis ao herbicida como é o caso de cana-de-açúcar (CARBONARI et al., 2014; NASCENTES et al., 2018; PINCELLI-SOUZA et al., 2020), eucalipto (NASCENTES et al., 2018), trigo (ANDERSON; COBB; LOPER, 2001), soja (SILVA et al., 2015; VELINI et al., 2008) e milho (VELINI et al., 2008). Velini et al. (2008) relataram esse aumento em plantas de milho e soja mesmo com a aplicação de subdoses que promoveram estímulo de crescimento. Neste sentido, os autores sugerem que este efeito pode estar de alguma forma relacionado à inibição de EPSPs, uma vez que em soja resistente ao herbicida não foi observado ocorrência do efeito hormético sobre o crescimento das plantas e não houve aumento de ácido chiquímico com a aplicação de glyphosate no intervalo de dose de 1,8 a 720 g e.a. ha^{-1}.

Na análise dos compostos envolvidos na rota do ácido chiquímico, após a aplicação de glyphosate, verificou-se hormesis do herbicida sobre os ácidos quínico, salicílico, caféico e cumárico (Tabela 11). A ocorrência do efeito hormético de glyphosate sobre a concentração de ácido quínico em folhas de café foi observado aos 7 DAA com ajuste dos dados ao modelo 1 e coeficiente de determinação de 0,98. Nas avaliações de 21 e 42 DAA o ajuste ao modelo 2 apresentou coeficiente de determinação de 0,98 e 0,97, respectivamente (Tabela 11).

Tabela 11 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para concentração dos ácidos quínico, salicílico, caféico e cumárico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	Ácido quínico			Ácido salicílico		
	7DAA	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**
Doses	5,18**	13,30**	31,27**	5,96**	3,84**	24,82**
Hipótese f≠0	20,96	0,02	3,14	17,90	3,55	13,65
Modelo	1	2	2	1	2	1
Regressão	11,36**	38,98**	91,37**	13,03**	9,70**	53,61**
R^2	0,98	0,98	0,97	0,97	0,84	0,96
Constantes						
b	1,79	1,08	1,87	1,72	1,30	1,21
c	1516,43	1834,97	428,60	0,38	0,55	-0,31
d	1672,73	5115,95	2431,60	0,55	1,36	0,63
e	4,24	306,53	197,37	10,20	518,61	7,30
f	1136,21	--	--	0,18	--	0,20
CV (%)	30,90	18,72	22,62	44,79	31,07	26,19
	Ácido caféico			**Ácido cumárico**		
	7DAA	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**
Doses	3,31**	3,98**	4,15**	11,56**	9,24**	10,38**
Hipótese f≠0	--	1,76	5,86	54,58	7,08	3,56
Modelo	--	2	1	1	1	2
Regressão	--	11,17**	8,26**	24,82**	20,15**	28,57**
R^2	--	0,94	0,88	0,95	0,97	0,92
Constantes	--					
b	--	4,31	2,57	1,92	2,02	1,16
c	--	4,13	2,27	1,55	1,39	1,07
d	--	8,66	3,95	1,75	6,14	3,47
e	--	379,45	224,21	2,88	85,15	220,91
f	--	--	0,02	5,82	0,11	--
CV (%)	32,28	34,08	31,26	38,32	38,40	26,49

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

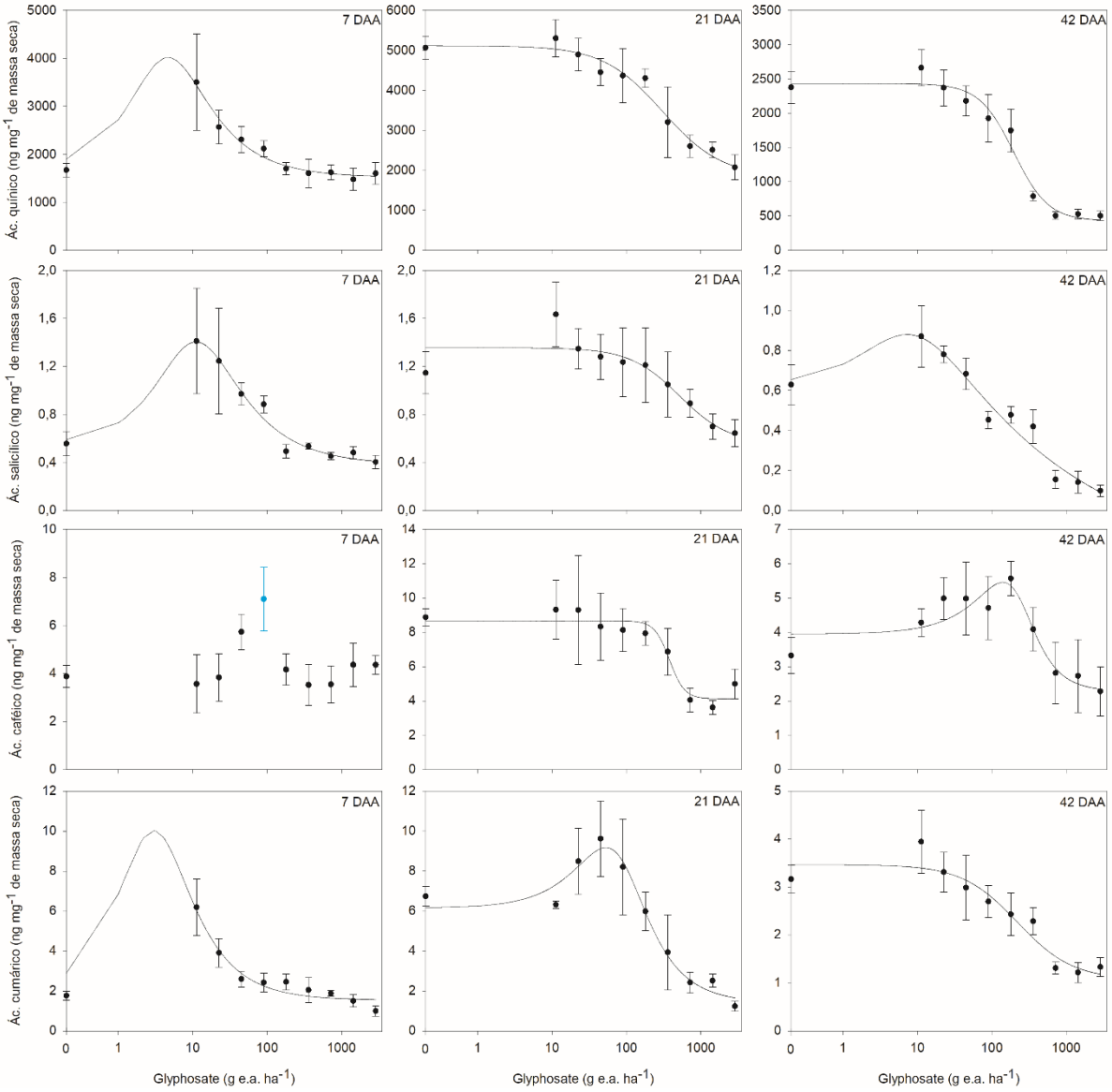
O acúmulo de ácido quínico pode ser considerado uma fonte de carbono para a biossíntese de compostos aromáticos, e frequentemente é encontrado em grandes quantidades nos tecidos vegetais (HERRMANN; WEAVER, 1999; YOSHIDA; TAZAKI; MINAMIKAWA, 1975; ZABALZA et al., 2017). Assim como o ácido chiquímico, o aumento de ácido quínico após aplicação de glyphosate deve-se ao acúmulo de compostos formados anteriormente aos processos catalisados pela EPSPs (BECERRIL; DUKE; LYDON, 1989; ORCARAY et al., 2010). O acúmulo dos ácidos quínico e chiquímico em tecidos vegetais por um lado e as reações envolvidas no metabolismo de ácido quínico por outro estão provavelmente relacionadas à alta demanda desses precursores alicíclicos para a síntese fenólica (BOUDET, 2012).

Neste sentido, com a ocorrência do efeito hormético do glyphosate, a faixa de dose entre 0,1 e 184 g e.a. ha^{-1} ocasionou aumento no teor de ácido quínico de ao menos 5% aos 7DAA, no entanto na dose de 4,6 g e.a. ha^{-1} o incremento chegou a 58,3% em relação as plantas que não foram expostas ao herbicida (Figura 19). Apesar de não ter tido efeito hormético significativo do glyphosate sobre o acúmulo de ácido quínico aos 21 e 42 DAA, observa-se que em baixas doses não houve reduções importantes, visto que, até as doses de 31,5 e 45,7 g e.a. ha^{-1} as reduções não superam 5%, nos 21 e 42 DAA, respectivamente (Figura 19).

Em plantas de café expostas ao glyphosate nas doses de 0; 7,2; 72 e 720 g e.a. ha^{-1}, Domingues Júnior (2011) observou as maiores concentrações de ácido quínico com aplicação de 7,2 g e.a. ha^{-1} aos 15 DAA. O aumento de ácido químico em baixas doses também foi observado em cana-de-açúcar (PINCELLI-SOUZA et al., 2020), o qual os autores abordaram esse aumento como efeito hormético do glyphosate, em que a aplicação de 1,8 g e.a. ha^{-1} aos 35 DAA apresentou as maiores concentrações. Em milho, o aumento de ácido quínico foi observado após aplicação de 72 e 720 g e.a. ha^{-1}, no entanto em maiores concentrações na maior dose (GOMES; VELINI; CARBONARI, 2015).

Apesar de ser encontrado em grandes quantidades no tecido vegetal, o metabolismo do ácido quínico é pouco compreendido, neste sentido este composto pode derivar de um intermediário do ácido desidroquínico da via do ácido chiquímico por meio de um quinato reversível: NAD (P) + oxidoredutase. Esse processo introduziria um desvio que permitiria o armazenamento de precursores alicíclicos sob a forma de ácido quínico quando o fluxo de carbono através da via do ácido chiquímico fosse alto. No entanto, ainda há necessidade de aprofundar o conhecimento sobre as interações bioquímicas entre o ácido quínico e a via do ácido chiquímico (BOUDET, 2012).

Figura 19 - Concentração dos ácidos chiquímico, quínico, salicílico, caféico e cumárico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



O ponto azul é a média superior aos valores obtidos nas plantas que não foram expostas ao glyphosate, com diferença significativa pelo teste de Tukey (p ≥ 0,05).

Outro composto fenólico formado na rota do ácido chiquímico é o ácido salicílico, um composto que pode proteger as plantas de estresses bióticos e abióticos (KUMAR et al., 2015; VELINI et al., 2012b). Com isso a aplicação de glyphosate pode alterar os níveis de ácido salicílico nas plantas, sobretudo em espécies sensíveis ao herbicida, já que a inativação da EPSPs pode comprometer a produção deste composto. Em plantas de *Digitaria insularis*, os genótipos resistentes apresentaram concentrações mais elevadas de ácido salicílico após aplicação de glyphosate

(GAZOLA, 2017). Assim como determinadas populações de *Conyza sumatrensis* também apresentaram aumentos nos níveis de ácido salicílico, quando comparadas com os níveis da população suscetível (GOMES, 2014). No entanto, mesmo que ocorra redução pela inibição da rota do ácido chiquímico, as plantas podem apresentar um caminho alternativo para a sua síntese, deste modo a produção do ácido salicílico é dependente do metabolismo da planta e dos fatores estressantes a que ela é submetida, logo esse aumento não pode ser explicado exclusivamente pela aplicação do herbicida (MESCHEDE et al., 2012).

Em relação aos teores de ácido salicílico nas folhas de café, observa-se aumento da concentração em relação as plantas não tratadas, aos 7 e 42 DAA, em que os dados foram ajustados ao modelo 1 com coeficiente de determinação de 0,97 e 0,96, respectivamente (Tabela 11). Desta forma, aos 7 DAA o acúmulo máximo, ocorreu na dose de 11 g e.a. ha^{-1}, com incremento de 60,5%. Neste período, o intervalo de dose que promoveu aumento nos teores de ácido salicílico de ao menos 5% foi de 0,2 a 218 g e.a. ha^{-1}. Já aos 42 DAA, essa faixa de estímulo foi reduzida para 0,2 a 46,3 g e.a. ha^{-1} e o aumento máximo foi de 28,7% na dose de 7,2 g e.a. ha^{-1} (Figura 19). Como aos 21 DAA os dados não foram ajustados ao modelo hormético, aplicou-se a regressão de quatro parâmetros (Tabela 11), o que é possível observar que até a dose de 82 g e.a. ha^{-1} não há reduções superiores a 5%, evidenciando que embora não tenha ocorrido aumento significativo de ácido salicílico em baixas doses também não há grandes reduções, visto que apenas a partir da dose de 1859 g e.a. ha^{-1} se observa reduções superiores a 50% (Figura 19).

Silva et al. (2015), ao avaliarem o efeito hormético do glyphosate em soja convencional, observaram que as diferentes doses de glyphosate não apresentaram efeito significativo para concentração de ácido salicílico, no entanto, em valores absolutos, observaram aumento do teor de ácido salicílico nas doses de 1,8 a 720 g e.a. ha^{-1}, com incremento máximo de 170% na dose de 3,6 g e.a. ha^{-1}, quando comparado com as plantas não tratadas. Meschede et al. (2012), ao avaliarem a aplicação de glyphosate como maturador em cana-de-açúcar, relataram aumento significativo de ácido salicílico aos 15 e 30 dias após a aplicação de 400 $mLha^{-1}$ e antes da colheita e aos 30 dias após a colheita (DAC), embora sem diferença significativa, as plantas expostas ao glyphosate apresentaram valores de ácido salicílico superiores ao da testemunha até os 150 DAC.

Dentre os ácidos hidroxicinâmicos formados na via do ácido chiquímico, o ácido caféico juntamente com os ácidos ferúlico e cumárico são os mais comuns em plantas de café (DOMINGUES JÚNIOR, 2011). Neste sentido, a concentração de ácido caféico em folhas de café foi significativa à aplicação de glyphosate (Tabela 11). Embora, em valores absolutos, observa-se aumento de ácido caféico após a aplicação de subdoses de glyphosate aos 7 e 21 DAA, apenas aos 42 DAA foi possível ajustar os dados ao modelo que configura a ocorrência do efeito hormético do herbicida (Figura 19). Deste modo, aos 7 DAA a maior concentração de ácido caféico ocorreu na dose de 90 g e.a. ha^{-1}, nas demais doses não houve diferença em relação as plantas não tratadas. Já aos 21 DAA, até a dose de 225 g e.a. ha^{-1} não há redução de ácido caféico em plantas de café superior a 5%. Em contrapartida, aos 42 DAA, entre as doses de 12,2 e 353 g e.a. ha^{-1} observa-se aumento de ácido caféico, de ao menos 5%, em relação as plantas não tratadas com glyphosate e acúmulo máximo de 27,7% na dose de 140 g e.a. ha^{-1} (Figura 19).

Em folhas jovens de *Abutilon theophrasti*, a aplicação de glyphosate nas concentrações de 1 e 5 mM não diminuiu os teores de cafeato, no entanto na concentração mais baixa houve aumento até os 12 DAA, o que levou os autores a concluirem que os tratamentos subletais com glyphosate não têm efeitos duradouros sobre os níveis de ácido caféico e de outros ácidos fenólicos (BECERRIL; DUKE; LYDON, 1989). Em plantas de ervilha a aplicação de glyphosate, via solução nutritiva, na concentração de 53 mg i.a. L^{-1}, ocasionou acúmulo de ácido caféico nas raízes (ZABALZA et al., 2017), neste mesmo trabalho o teor de ácido cúmarico apresentou poucas alterações com a aplicação de glyphosate, apesar da maior concentração aos 10 DAA.

A aplicação de subdoses de glyphosate ocasionou aumento nos teores de ácido cumárico em plantas de café aos 7 e 21 DAA, com ajuste dos dados ao modelo 2 que caracteriza o efeito hormético do herbicida (Tabela 11). Assim, observou-se aumento de até 82,6% com a aplicação de 3 g e.a. ha^{-1} aos 7DAA e de 33,1% na dose de 53 g e.a. ha^{-1} aos 21 DAA. Contudo, entre as doses de 0,02 e 251 g e.a. ha^{-1} e de 2,7 a 159 g e.a. ha^{-1} ocorre incremento de ao menos 5% nas coletas de 7 e 21 DAA, respectivamente. Aos 42 DAA o ajuste dos dados se deu pelo o modelo 2 (Tabela 11), não configurando assim efeito hormético do glyphosate, mesmo que em valores absolutos tenha-se observado ligeiro aumento na concentração de ácido cumárico em

baixas doses, desta forma, com o ajuste da equação de quatro parâmetros verificou-se que até a dose de 28,8 g e.a. ha^{-1} não há reduções superiores a 5% (Figura 19).

Na concentração dos ácidos ferúlico, benzoico e clorogênico em plantas de café, apenas o primeiro foi influenciado pela aplicação de glyphosate nos três períodos de avaliação. Para o ácido benzoico observou-se efeito significativo das diferentes doses do herbicida apenas aos 7 DAA, já para o ácido clorogênico esse efeito foi observado apenas aos 42 DAA (Tabela 12).

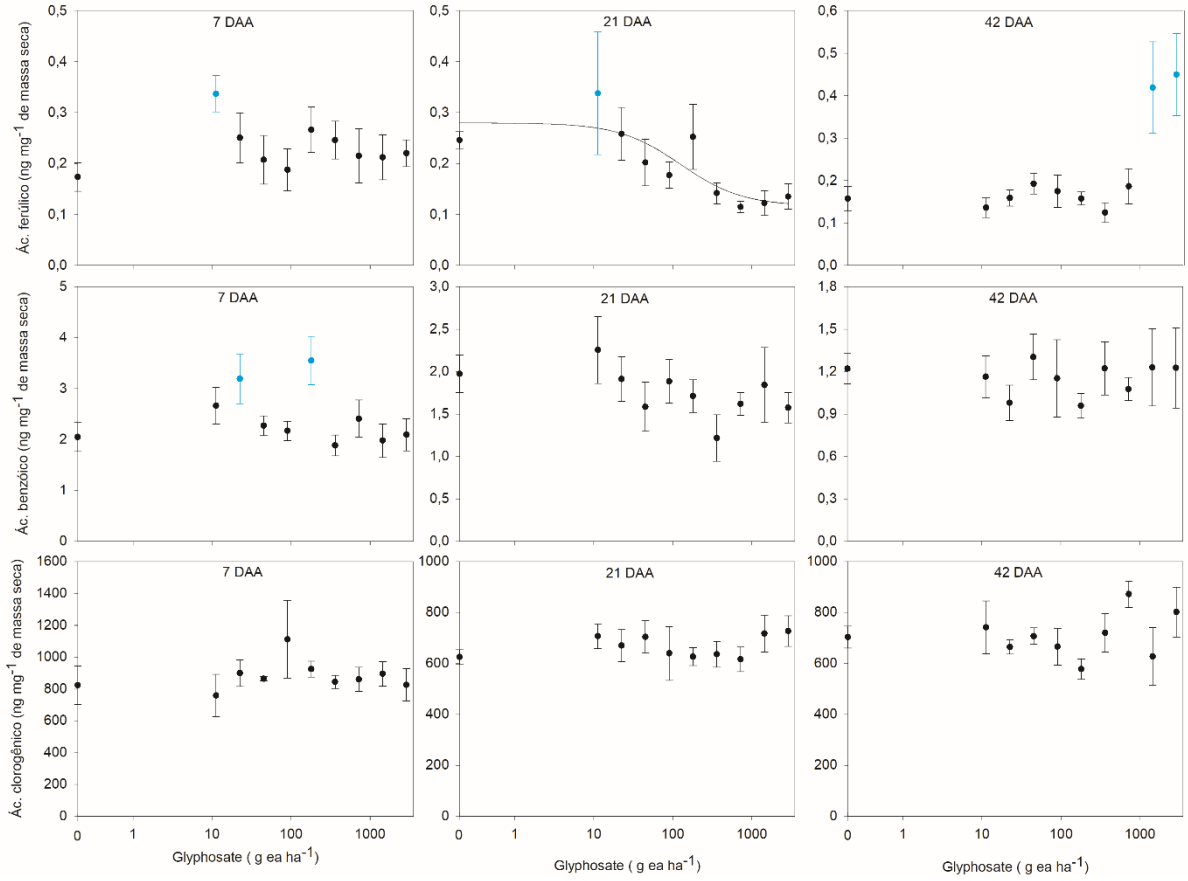
Tabela 12 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para concentração dos ácidos ferúlico, benzoico e clorogênico em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	Ác. ferúlico			Ác. benzoico			Ác. clorogênico		
	7DAA	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**
Doses	2,40*	3,98**	9,69**	5,14**	1,97^{ns}	0,76^{ns}	1,34^{ns}	0,96^{ns}	2,63*
Hipótese f≠0	--	0,00	--	--	--	--	--	--	--
Modelo	--	2	--	--	--	--	--	--	--
Regressão	--	8,40**	--	--	--	--	--	--	--
R^2	--	0,70	--	--	--	--	--	--	--
Constantes					--	--			
b	--	1,11	--	--	--	--	--	--	--
c	--	0,12	--	--	--	--	--	--	--
d	--	0,28	--	--	--	--	--	--	--
e	--	125,93	--	--	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--	--	--	--	--
CV (%)	29,08	41,56	39,19	24,77	24,77	25,75	14,83	14,83	16,52

^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Em comparação com as plantas que não foram expostas ao glyphosate, observa-se as maiores concentrações de ácido ferúlico, nas doses de 11,25 g e.a. ha^{-1} aos 7DAA e nas doses de 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1} aos 42 DAA, no período de 21 DAA tem-se na dose de 11,25 g e.a. ha^{-1} as maiores concentrações, mas como foi possível ajustar os dados ao modelo 2, observa-se que os teores de ácido ferúlico apresentaram reduções a partir de 5% na dose de 14,8 g e.a. ha^{-1} (Figura 20). Em folhas de *Abutilon theophrasti*, a aplicação de 5 mM de glyphosate aumentou concentração de ácido ferúlico aos 12 e 16 DAA, quando comparado com folhas não expostas ao herbicida ou em aplicação de 1 mM (BECERRIL; DUKE; LYDON, 1989).

Figura 20 - Concentração dos ácidos ferúlico, benzoico e clorogênico em plantas de café aos 7, 21 42 dias após aplicação de diferentes doses de glyphosate



Os pontos azuis são as médias superiores aos valores obtidos nas plantas que não foram expostas ao glyphosate, com diferença significativa pelo teste de Tukey (p ≥ 0,05).

.

Na concentração de ácido benzoico, aos 7 DAA apenas as plantas que foram expostas as doses de 11,25 e 180 g e.a. ha^{-1} apresentaram comportamento diferente em relação as plantas que não foram expostas ao herbicida, neste caso com aumento da concentração, enquanto que nos períodos de 21 e 42 DAA os teores de ácido benzoico não tiveram alterações com a aplicação do glyphosate (Tabela 12; Figura 20). Em plantas de soja sensível ao glyphosate, a aplicação de 3,6 g e.a. ha^{-1} do herbicida promoveu o maior acúmulo de ácido benzoico, com incremento de 203% em relação à testemunha aos 7DAA, nas demais doses avaliadas dentro do intervalo de 1,8 e 720 g e.a. ha^{-1} não foram observadas alterações significativas (SILVA et al., 2015). Neste sentido, os benzoatos podem ser derivados do ácido chiquímico por vias que não envolvem os aminoácidos aromáticos, portanto, aumento de ácido chiquímico pode ser convertido em ácido benzoico (SILVA et al., 2015).

Comportamento inverso ao ácido benzoico ocorreu na concentração de ácido clorogênico em que nas duas primeiras avaliações não houve alteração do composto após a aplicação do herbicida, já aos 42 DAA apesar de ter tido efeito significativo das diferentes doses de glyphosate (Tabela 12), em relação as plantas que não receberam o produto não houve diferença (Figura 20). Sobre o ácido clorogênico, há evidencias que o mesmo protege a planta contra o ataque de fungos (MAHER et al., 1994), e através do acúmulo de altos níveis, atua como protetor UV em diversas plantas, visto que compostos fenólicos têm uma importante função como filtros de luz, com comprimentos de onda correspondente ao UV-B (GITZ III et al., 2004; VELINI et al., 2012b).

Na avaliação dos aminoácidos aromáticos, a aplicação de glyphosate ocasionou modificações na concentração de fenilalanina, tirosina e triptofano em folhas de café, no entanto não foi possível ajustar os dados nas equações propostas, exceto para fenilalanina aos 42 DAA (Tabela 13).

Tabela 13 - Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para os aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após a aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate

	Fenilalanina			Tirosina			Triptofano		
	7DAA	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**	**7DAA**	**21DAA**	**42DAA**
Doses	6,58**	21,81**	5,33**	5,51**	65,68**	7,60**	10,72**	16,79**	2,01^{ns}
Hipótese f≠0	--	--	2	--	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	1,27	--	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	15,21**	--	--	--	--	--	--
R^2	--	--	0,95	--	--	--	--	--	--
Constantes									
b	--	--	1,16	--	--	--	--	--	--
c	--	--	45,85	--	--	--	--	--	--
d	--	--	72,50	--	--	--	--	--	--
e	--	--	204,49	--	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--	--	--	--	--
CV (%)	16,86	19,75	16,36	65,45	26,08	33,97	42,28	36,29	31,42

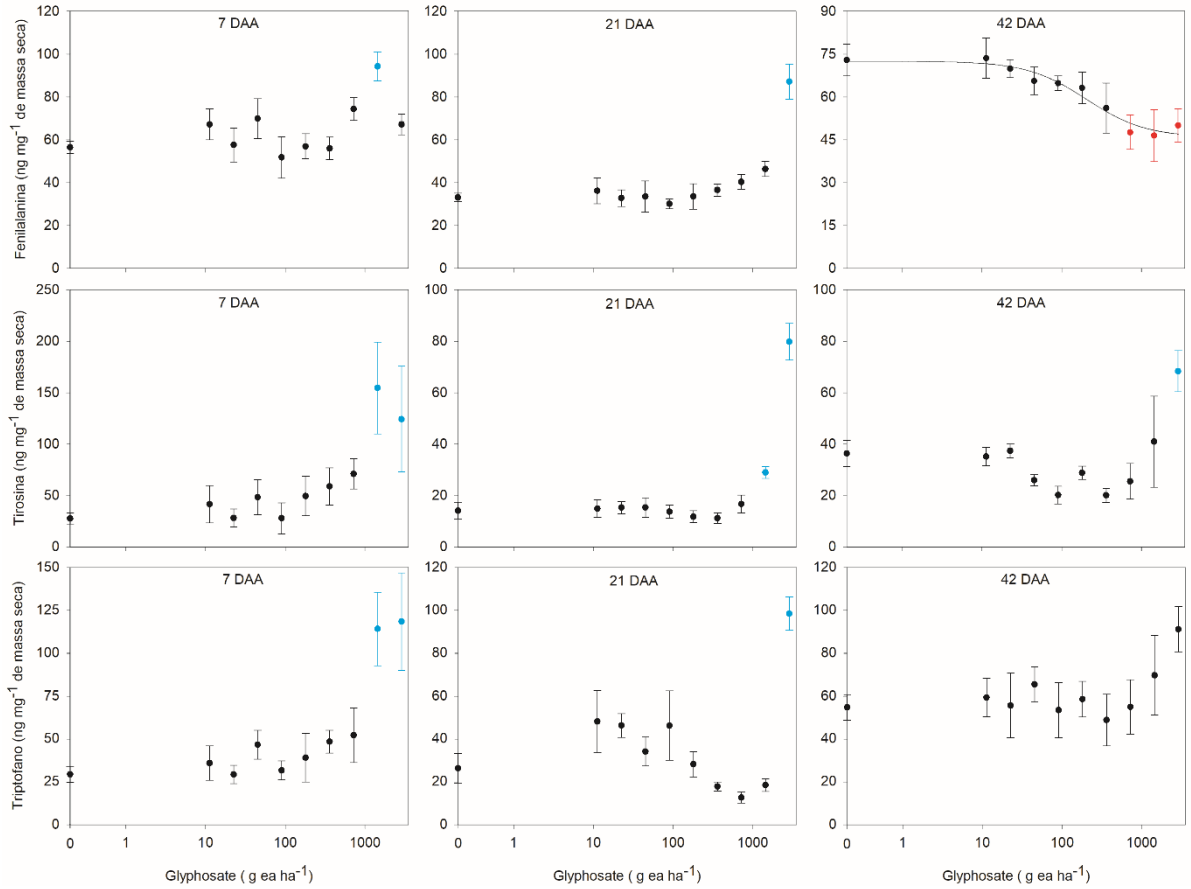
^{ns} não significativo; **; * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f.

Com a aplicação de glyphosate espera-se que a produção dos aminoácidos aromáticos, sobretudo em plantas sensíveis, seja reduzida, no entanto a concentração de fenilalanina, tirosina e triptofano foi maior em doses mais elevadas. Nas doses mais

baixas observa-se pouca alteração em relação às plantas que não foram expostas ao herbicida (Figura 21). Outros autores também observaram aumento ou pouca alteração na concentração desses aminoácidos após a exposição das plantas a diferentes concentrações do glyphosate (FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2016; FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2017; GAZOLA, 2017; GOMES; VELINI; CARBONARI, 2015; GRAVENA et al., 2009; MAROLI et al., 2015; PETERSEN et al., 2007; SILVA et al., 2015; ZULET et al., 2013). Uma possível explicação para o aumento desses aminoácidos após a aplicação do herbicida seria um possível mecanismo regulatório após a expressão de EPSPs que controla o conteúdo e alterações nas regulações metabólicas na biossíntese destes aminoácidos e hidrólise de proteínas (FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2016; FERNÁNDEZ-ESCALADA et al., 2017; ZULET et al., 2013). Zulet et al. (2013) detectaram mudanças em quase todos os sistemas proteolíticos testados após o tratamento com glyphosate em plantas de ervilha, com alguns sistemas induzidos e outros inibidos.

Neste contexto, Velini et al. (2012) ressaltam que nem sempre é possível concluir que compostos produzidos distantes do sítio de ação do glyphosate (EPSPs) terão sua síntese bloqueada ou intensamente reduzida pela aplicação do herbicida, uma vez que possíveis sistemas de controle da rota podem compensar, ao menos em parte, a menor síntese de alguns dos compostos intermediários. Portanto, quanto menor o número de reações que separam um determinado composto de interesse até o sítio de ação, maior a probabilidade de que as concentrações do mesmo sejam reduzidas como resultado da aplicação do herbicida (VELINI et al., 2012b).

Figura 21 - Concentração dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano em plantas de café aos 7, 21 e 42 dias após aplicação (DAA) de diferentes doses de glyphosate



Os pontos azuis e vermelhos são as médias superiores e inferiores, respectivamente, em relação aos valores obtidos nas plantas que não foram expostas ao glyphosate, com diferença significativa pelo teste de Tukey (p ≥ 0,05).

Embora os ácidos salicílico, caféico e cumárico tenham como precursor o aminoácido fenilalanina, o comportamento do aminoácido diferiu dos ácidos sobretudo aos 7 e 21 DAA, uma vez que as maiores concentrações foram observadas em doses mais elevadas, dose de 1440 g e.a. ha^{-1} aos 7 DAA e dose de 2880 g e.a. ha^{-1} aos 21 DAA. Aos 42 DAA, a concentração de fenilalanina foi reduzida nas doses mais elevadas e até a dose de 41,8 g e.a. ha^{-1} não houve reduções superiores a 5% em relação as plantas não tratadas (Figura 21). Os comportamentos de tirosina e triptofano foram semelhantes ao do fenilalanina, sendo que o triptofano aos 42 DAA não teve influência das doses de glyphosate (Tabela 13).

Em plantas de *Brassica napus*, Petersen et al. (2007) relataram aumento na concentração de fenilalanina em concentrações de 1 a 30 µM de glyphosate, porém

em maiores níveis na concentração de 10 µM, já para tirosina o aumento ocorreu nas concentrações de 1 e 10 µM, e nos dois aminoácidos, com aplicação de 50 µM houve redução. Para o triptofano os autores não observaram reduções e o maior acúmulo ocorreu na concentração de 50 µM. Em plantas de soja suscetível ao glyphosate, Silva et al. (2015) constataram aumento de fenilalanina e triptofano em baixas doses, e em doses mais elevadas não houve diferença em relação as plantas que não foram tratadas com o herbicida. Em milho a aplicação de 72 g e.a. ha^{-1} não ocasionou modificações nos teores dos três aminoácidos aromáticos aos 15 DAA, já a dose de 720 g e.a. ha^{-1} acarretou redução apenas na de concentração tirosina (GOMES; VELINI; CARBONARI, 2015).

Diante do apresentado, a aplicação de glyphosate tem influência significativa sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas de café, em que a aplicação de baixas doses promove melhorias na morfologia, fisiologia e bioquímica da planta. Neste sentido na Tabela 14 é apresentado um resumo do efeito hormético do glyphosate em café, em que para as variáveis morfológicas as doses que promoveram os maiores estímulos variaram de 14,5 a 30 g e.a. ha^{-1}, a depender do parâmetro analisado. Nas análises fisiológicas a variação nas doses foi de 4,4 a 55 g e.a. ha^{-1} e para as variáveis bioquímicas de 3 a 140 g e.a. ha^{-1}. Neste mesmo sentido, o estímulo máximo ocasionado pela exposição das plantas de café a essas doses variou de 10,2 a 26,2% para as variáveis morfológicas, de 14,7 a 58,7% para as variáveis fisiológicas e de 27,7 a 82,6% para as variáveis bioquímicas. O efeito hormético do glyphosate ocorreu durante todo o período de avaliação, dos 7 aos 42 DAA, em que, tem-se nas variáveis morfológicas o reflexo da duração e consistência desse comportamento, visto que o estímulo máximo de todas as variáveis ocorreu no período final do experimento, aos 42 DAA (Tabela 14).

Tabela 14 - Resumo do efeito hormético de glyphosate na morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café

Variáveis	Faixa de dose estimulante[1] (g e.a. ha^{-1})	Dose máxima estimulante[2] (g e.a. ha^{-1})	Estímulo máximo (%)	Período de avaliação[3]
Morfológicas e de crescimento				
Altura de planta	4,6 – 49,1	21,5	10,2	42
Número de folhas	6,7 – 52,8	29,9	12,2	42
Área foliar	2,3 – 45,3	19,9	19,0	42
Massa seca da folhas	2,0 – 47,7	17,0	14,8	42
Massa seca do caule	1,4 – 54,4	14,5	13,6	42
Massa seca total	1,9 – 51,0	17,0	14,9	42
Taxa de crescimento absoluta	1,5 – 56,5	19,0	20,4	42
Índice de área foliar	2,3 – 45,3	20,0	19,0	42
Duração de área foliar	3,2 – 48,0	19,9	14,9	42
Taxa de emissão foliar	3,0 – 56,4	30,0	24,9	42
Taxa de expansão foliar	1,5 – 47,0	20,0	26,2	42
Fisiológicas				
Assimilação de CO_2	0,3 – 128,8	14,4	39,6	21
Transpiração	1,7 – 44,1	17,8	22,1	35
Condutância estomática	0,2 – 49,5	4,4	31,4	7
Eficiência de carboxilação	0,4 – 87,0	22,0	58,7	35
Eficiência intrínseca do uso da água	1,7 – 170,0	35,0	24,8	35
Taxa de transporte de elétrons	3,8 – 197,2	50,0	14,7	7
Eficiência fotoquímica do PSII	5,1 – 194,5	55,0	14,8	7
Bioquímicas				
Ácido quínico	0,1 – 184,0	4,6	58,3	7
Ácido salicílico	0,2 – 218,0	11,0	60,5	7
Ácido caféico	11,2 – 353,0	140,0	27,7	42
Ácido cumárico	0,02 – 251,0	3,0	82,6	7

[1] Faixa de dose que promoveu aumento nas variáveis analisadas de ao menos 5%, em relação as plantas não tratadas com glyphosate; [2] Dose que promoveu o estímulo máximo; [3] Período em que foi observado o estímulo máximo em dias após a aplicação (DAA)

5 CONCLUSÕES

O glyphosate promoveu efeito hormético na morfologia, fisiologia e bioquímica de plantas de café.

As variáveis morfológicas altura de planta, número de folhas, área foliar, massa seca da folha, caule e total, taxa de crescimento absoluta, índice de área foliar, duração de área foliar, e taxa de emissão e expansão foliar foram estimuladas pela aplicação de subdoses. As subdoses de 14,5 a 30 g e.a. ha^{-1}, promoveram os maiores estímulos.

Na fisiologia das plantas houve aumento na assimilação de CO_2, transpiração, condutância estomática, eficiência de carboxilação, eficiência intrínseca do uso da água, taxa de transporte de elétrons e eficiência fotoquímica do PSII, em subdoses que variaram de 4,4 a 55 g e.a. ha^{-1} para expressar os maiores estímulos.

Em relação aos compostos produzidos na rota do ácido chiquímico, houve efeito hormético do glyphosate sobre os ácidos quínico, salicílico, caféico e cumárico, com estímulo máximo entre as subdoses de 3 a 140 g e.a. ha^{-1} a depender do composto avaliado e da época de avaliação.

REFERÊNCIAS

ABBAS, T. et al. Glyphosate hormesis increases growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 21, n. 4, p. 533–542, 2015.

AGATHOKLEOUS, E.; CALABRESE, E. J. Hormesis can enhance agricultural sustainability in a changing world. **Global Food Security**, v. 20, n. October 2018, p. 150–155, 2019.

ALVARENGA, A. DE P. et al. Aspectos fisiológicos da cultura do café e seu potencial produtivo em sistemas agroflorestais. **Agrossilvicultura**, v. 1, n. 2, p. 195–202, 2004.

AMARANTE JUNIOR, O. P. DE et al. Gifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 589–593, 2002.

AMRHEIN, N. et al. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. **Plant Physiology**, v. 66, n. 5, p. 830–834, 1980.

ANDERSON, K. A.; COBB, W. T.; LOPER, B. R. Analytical method for determination of shikimic acid: Shikimic acid proportional to glyphosate application rates. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 17–18, p. 2831–2840, 2001.

ANDRADE, A. C. et al. Análise de crescimento do capim-elefante ‘napier’ adubado e irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 2, p. 415–423, 2005.

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

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

BELZ, R. G.; DUKE, S. O. Herbicide-mediated hormesis. **ACS Symposium Series**, v. 1249, p. 135–148, 2017.

BENINCASA, M. M. . **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003.

BENTLEY, R. The Shikimate Pathway - A Metabolic Tree with Many Branches. **Journal Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 5, p. 307–384, 1990.

BOTA, J.; MEDRANO, H.; FLEXAS, J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under water stress? **New Phytologist**, v. 162, n. 3, p. 671–681, 2004.

BOUDET, A. M. Polyphenols: From Plant Adaptation to Useful Chemical Resources. In: CHEYNIE, V.; SARNI-MANCHADO, P.; QUIDEAU, S. (Eds.). **Recent Advances in Polyphenol Research**. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2012. v. 3p. 41–70.

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. p. 135–159.

BRAIAN, P.; COUSENS, R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Research**, v. 29, p. 93–96, 1988.

BRAUN, H. et al. Produção De Mudas De Café “Conilon” Propagadas Vegetativamente Em Diferentes Níveis De Sombreamento. **Idesia**, v. 25, n. 3, p. 85–91, 2007.

BRITO, I. P. F. S. et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1064–1070, 2017.

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

CALABRESE, E. J. Perspectives on Hormesis and Implications for Pesticides. In: DUKE, S. O.; KUDSK, P.; SOLOMON, K. R. (Eds.). . **Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms**. Washington, DC: ACS Symposium Series; American Chemical Society, 2017. v. 1249p. 83–100.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. The Dose Determines the Stimulation (and Poison): Development of A Chemical Hormesis Database. **International Journal of Toxicology**, v. 16, n. 6, p. 545–559, 25 nov. 1997.

CARBONARI, C. A. et al. Glyphosate Effects on Sugarcane Metabolism and Growth. **American Journal of Plant Sciences**, v. 05, n. 24, p. 3585–3593, 2014.

CARVALHO, F. P. DE et al. Atividade fotossintética do cafeeiro após aplicação de subdoses de glyphosate. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 1, p. 109–115, 2013.

CARVALHO, L. B. DE et al. Physiological Dose-Response of Coffee (Coffea arabica L.) Plants to Glyphosate Depends on Growth Stage. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 182–187, 2012.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S. O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 85, n. 2, p. 813–821, 2013.

CASTANHEIRA, D. T. et al. Growth, anatomy and physiology of coffee plants intoxicated by the herbicide glyphosate. **Coffee Science**, v. 14, n. 1, p. 76–82, 2019.

CASTRO, P. R. DE C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de fisiologia vegetal: fisiologia de cultivos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2008.

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

CENTENO, A. J. Glyphosate - uma visão ambiental. In: VELINI, E. D. et al. (Eds.). . **Glyphosate**. Botucatu,SP: FEPAF, 2009. p. 145–152.

CHACHALIS, D.; REDDY, K. N.; ELMORE, C. D. Characterization of leaf surface , wax composition , and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. **Weed Science**, v. 49, n. 2, p. 156–163, 2001.

CHRISTENSEN, M. G.; TEICHER, H. B.; STREIBIG, J. C. Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. **Pest Management Science**, v. 59, n. 12, p. 1303–1310, 2003.

CONAB, C. N. DE A. **Acompanhamento da safra brasileira - Café**. [s.l: s.n.].

CORUZZI, G.; LAST, R. L. Amino acids. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). . **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 358–401.

CRUZ-HIPOLITO, H. et al. Nontarget Mechanims Involved in Glyphosate Tolerance Found in Canavalia ensiformis Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4844–4848, 2009.

DA SILVA, J. C. et al. The impact of water regimes on hormesis by glyphosate on common bean. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 2, p. 237–243, 2016.

DAMATTA, F. M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, v. 86, n. 2–3, p. 99–114, mar. 2004.

DAMATTA, F. M. et al. Ecophysiology of coffee growth and production. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 4, p. 485–510, dez. 2007.

DIAS, G. F. DA S.; ALVES, P. L. DA C. A.; DIAS, T. C. DE S. Brachiaria decumbens supresses the initial growth of *Coffea arabica.* **Scientia Agricola**, v. 61, n. 6, p. 579–583, 2004.

DIAS, T. C. S.; ALVES, P. L. C. .; LEMES, L. N. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos na produção do cafeeiro. **Científica**, v. 36, p. 81–85, 2008.

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

DOMINGUES JÚNIOR, A. P. **Avaliação dos efeitos do herbicida glifosato sobre o cafeiro: respostas bioquímicas e fisiológicas**. [s.l: s.n.].

DUKE, S. 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. The history and current status of glyphosate. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1027–1034, 2017.

DUKE, S. O.; HOAGLAND, R. E. Effects of glyphosate on metabolism of phenolic

compounds I. induction of phenylalanine ammonia-lyase activity in dark-grown maize roots. **Plant Science Letters**, v. 11, p. 185–190, 1978.

EL-SHAHAWY, T. A.; SHARARA, F. A. A. Hormesis Influence of Glyphosate in Between Increasing Growth , Yield and Controlling Weeds in Faba Bean. **Journal of American Science**, v. 7, n. 2, p. 139–144, 2011.

FAHL, J. I.; CARELLI, M. L. . **Influência do sombreamento nas características fisiológicas envolvidas no crescimento de espécies de coffea.** Simpósio Internacional sobre Café Adensado. **Anais**...Londrina: IAP, 1994

FERNÁNDEZ-ESCALADA, M. et al. Characterization of the Amaranthus palmeri Physiological Response to Glyphosate in Susceptible and Resistant Populations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 95–106, 2016.

FERNÁNDEZ-ESCALADA, M. et al. Effects of EPSPS Copy Number Variation (CNV) and Glyphosate Application on the Aromatic and Branched Chain Amino Acid Synthesis Pathways in *Amaranthus palmeri*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–11, 2017.

FIALHO, C. M. T. et al. Interferência de plantas daninhas sobre o crescimento inicial de Coffea arabica. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 137–147, 2011.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Energy dissipation in C3 plants under drought. **Functional Plant Biology**, v. 29, n. 10, p. 1209–1215, 2002.

FRANÇA, A. C. et al. Nutrient content in arabica coffee cultivars subjected to glyphosate drift. **Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 877–885, 2010a.

FRANÇA, A. C. et al. Growth of arabica coffee cultivars submitted to glyphosate doses. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 599–607, 2010b.

FRANÇA, A. C. et al. Simulated glyphosate drift on acaiá and catucaí coffee cultivars. **Planta Daninha**, v. 31, n. 2, p. 443–451, 2013.

GAZOLA, T. **Ação do herbicida glyphosate em biótipos de Digitaria insularis resistentes e suscetíveis**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2017.

GITZ III, D. C. et al. Effects of a PAL inhibitor on phenolic accumulation and UV-B tolerance in *Spirodela intermedia* (Koch .). **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 398, p. 919–927, 2004.

GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (Conyza spp.) resistentes ao glyphosate**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.

GOMES, G. L. G. C.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A. Fosfito de potássio não protege plantas de milho contra os efeitos fitotóxicos do glyphosate. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 3, p. 291–296, 2015.

GOMES, M. P. et al. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product

aminomethylphosphonic acid : an overview. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 17, p. 4691–4703, 2014.

GRACE, S. C.; LOGAN, B. A. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 355, p. 1499–1510, 2000.

GRAVENA, R. et al. Low glyphosate rates do not affect Citrus limonia (L .) Osbeck seedlings. **Pest Management Science**, v. 65, p. 420–425, 2009.

HARTLEY, H. . The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, v. 37, p. 271–280, 1950.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Biology**, v. 50, p. 473–503, 1999.

JAWORSKI, E. G. Mode of Action of A-Phosphonomethylglycine : Inhibition of Aromatic Amino Acid Biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 1195–1198, 1972.

KALAJI, H. M. et al. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. **Photosynthesis Research**, v. 122, n. 2, p. 121–158, 2014.

KALAJI, H. M. et al. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, n. 1, p. 13–66, 2017.

KNEZEVIC, S. Z.; STREIBIG, J. C.; RITZ, C. Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. **Weed Technology**, v. 21, n. 3, p. 840–848, 2007.

KRALL, J. P.; EDWARDS, G. E. Relationship between photosystem II activity and CO2 fixation in leaves. **Physiologia Plantarum**, v. 86, n. 1, p. 180–187, 1992.

KUMAR, D. et al. Biotic and Abiotic Stress Signaling Mediated by Salicylic Acid. In: PANDEY, G. K. (Ed.). . **Elucidation of Abiotic Stress Signaling in Plants**. New York: Springer, 2015. p. 329–346.

LEWIS, K. A. et al. Human and Ecological Risk Assessment : An International An international database for pesticide risk assessments and management and management. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 22, n. 4, p. 1050–1064, 2016.

LUCHINI, L. C. Conciderações sobre algumas propriedades físico-químicas do glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. (Eds.). . **Glyphosate**. Botucatu,SP: FEPAF, 2009. p. 21–30.

MACHADO, A. F. L. et al. Photosynthetic efficiency and water use in eucalyptus plants sprayed with glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 2, p. 319–327, 2010.

MAHER, E. A. et al. Increased disease susceptibility of transgenic tobacco plants with suppressed levels of preformed phenylpropanoid products. **Proceedings of the**

National Academy of Sciences, v. 91, p. 7802–7806, 1994.

MARÍA, N. DE et al. New Insights on Glyphosate Mode of Action in Nodular Metabolism : Role of Shikimate Accumulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2621–2628, 2006.

MAROLI, A. S. et al. Metabolic Pro fi ling and Enzyme Analyses Indicate a Potential Role of Antioxidant Systems in Complementing Glyphosate Resistance in an Amaranthus palmeri Biotype. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 9199–9209, 2015.

MATIELLO, J. B. et al. **Cultura de café no Brasil: novo manual de recomendações.** Rio de Janeiro: MAPA/Procafé, 2005.

MERVOSH, T. L. .; BALKE, N. E. Effects of Calcium, Magnesium, and Phosphate on Glyphosate Absorption by Cultured Plant Cells. **Weed Science**, v. 39, p. 347–353, 1991.

MESCHEDE, D. K. et al. Alterações no metabolismo da cana-de-açúcar em função da aplicação de maturadores. **Planta Daninha**, v. 30, p. 113–119, 2012.

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

MORAES, C. P. et al. Hormetic effect of glyphosate on Urochloa decumbens plants. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 55, n. 4, p. 376–381, 2020.

NADEEM, M. A. et al. Glyphosate hormesis in broad-leaved weeds: a challenge for weed management. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 3, p. 344–351, 2016.

NASCENTES, R. F. et al. Low doses of glyphosate enhance growth, CO2 assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1197–1205, 2018.

NELSON, S. Glyphosate herbicide injury to Coffee. **Cooperative Extension Service**, p. 5, 2008.

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

PETERSEN, I. L. et al. Metabolic effects in rapeseed (Brassica napus L .) seedlings after root exposure to glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 89, p. 220–229, 2007.

PINCELLI-SOUZA, R. P. et al. Hormetic effect of glyphosate persists during the entire growth period and increases sugarcane yield. **Pest Management Science**, v. 76, n. 7, p. 2388–2394, 2020.

RODRIGUES, G. J. et al. Eficiência de uma barra de pulverização para aplicação de herbicida em lavouras de café em formação. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 459–465, 2003.

RODRIGUES, J. D. Absorção e transporte de solutos nas plantas. In: VELINI, E. D. et al. (Eds.). . **Glyphosate**. Botucatu,SP: FEPAF, 2009. p. 31–112.

RONCHI, C. P. et al. Acúmulo de nutrientes pelo cafeeiro sob interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 219–227, 2003.

RONCHI, C. P.; FERREIRA, R. T.; SILVA, M. A. A. DE. Manejo de plantas daninhas na cultura do café. In: MONQUERO, P. A. (Ed.). . **Manejo de plantas daninhas em culturas agrícolas**. São Carlos: RiMa, 2014. p. 132–154.

RONCHI, C. P.; SILVA, A. A. Effects of weed species competition on the growth of young coffee plants. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 415–423, 2006.

SALAZAR-PARRA, C. et al. Photosynthetic response of Tempranillo grapevine to climate change scenarios. **Annals of Applied Biology**, v. 161, n. 3, p. 277–292, 2012.

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

SCHABENBERGER, O. et al. STATISTICS Statistical Tests for Hormesis and Effective Dosages in Herbicide Dose Response mesis (from the Greek for 'setting into motion'). **Agronomy Journal**, v. 91, n. 1888, p. 713–721, 1999.

SCHRÜBBERS, L. C. et al. Glyphosate spray drift in Coffea arabica - Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 115, p. 15–22, 2014.

SILVA, C. et al. Influência de doses reduzidas e épocas de aplicação sobre o efeito hormético de glyphosate em feijoeiro. v. 115, p. 191–199, 2016.

SILVA, F. M. L. et al. Low doses of glyphosate change the responses of soyabean to subsequent glyphosate treatments. **Weed Research**, v. 56, n. 2, p. 124–136, 2015.

SILVA, M. DE A. et al. Efeito hormótico de gliphosate no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 68, n. 4, p. 973–978, 2009.

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

STEINRÜCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5 enolpyruvyl shikimic acid 3 phosphate synthase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 94, n. 4, p. 1207–1212, 1980.

STRANDBERG, B. et al. Effects of Herbicides on Non-Target Terrestrial Plants. In: DUKE, S. O.; KUDSK, P.; SOLOMON, K. (Eds.). . **Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms**. ACS Sympos ed.

Washington, DC: [s.n.]. v. 1249p. 149–166.

STREIBIG, J. C. Models for Curve-fitting Herbicide Dose Response Data. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 30, p. 59–64, 1980.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TOLEDO, S. V.; MORAES, M. V.; BARROS, I. Efeito da frequência de capinas na produção do cafeeiro. **Bragantia**, v. 55, n. 2, p. 317–324, 1996.

VELINI, E. D. et al. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 63, n. 11, p. 1100–1106, 2008.

VELINI, E. D. et al. Características e uso do glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. (Eds.). . **Glyphosate: uso sustetável**. Borucatu: FEPAF, 2012a. p. 11–16.

VELINI, E. D. et al. Modo de ação do glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. (Eds.). . **Glyphosate: uso sustetável**. Borucatu: FEPAF, 2012b. p. 39–66.

VELINI, E. D. et al. Variations in Pesticide Doses under Field Conditions. In: DUKE, S. O.; KUDSK, P.; SOLOMON, K. R. (Eds.). . **Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms**. Washington, DC: ACS Symposium Series; American Chemical Society, 2017. v. 1249p. 47–60.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. DE C. E. **Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas**. Piracicaba, SP: [s.n.].

YANNICCARI, M. et al. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two Lolium perenne L. biotypes with differential herbicide sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 210–217, 2012.

YOSHIDA, S.; TAZAKI, K.; MINAMIKAWA, T. Occurrence of shikimic and quinic acids in angiosperms. **Phytochemistry**, v. 14, n. 1, p. 195–197, 1975.

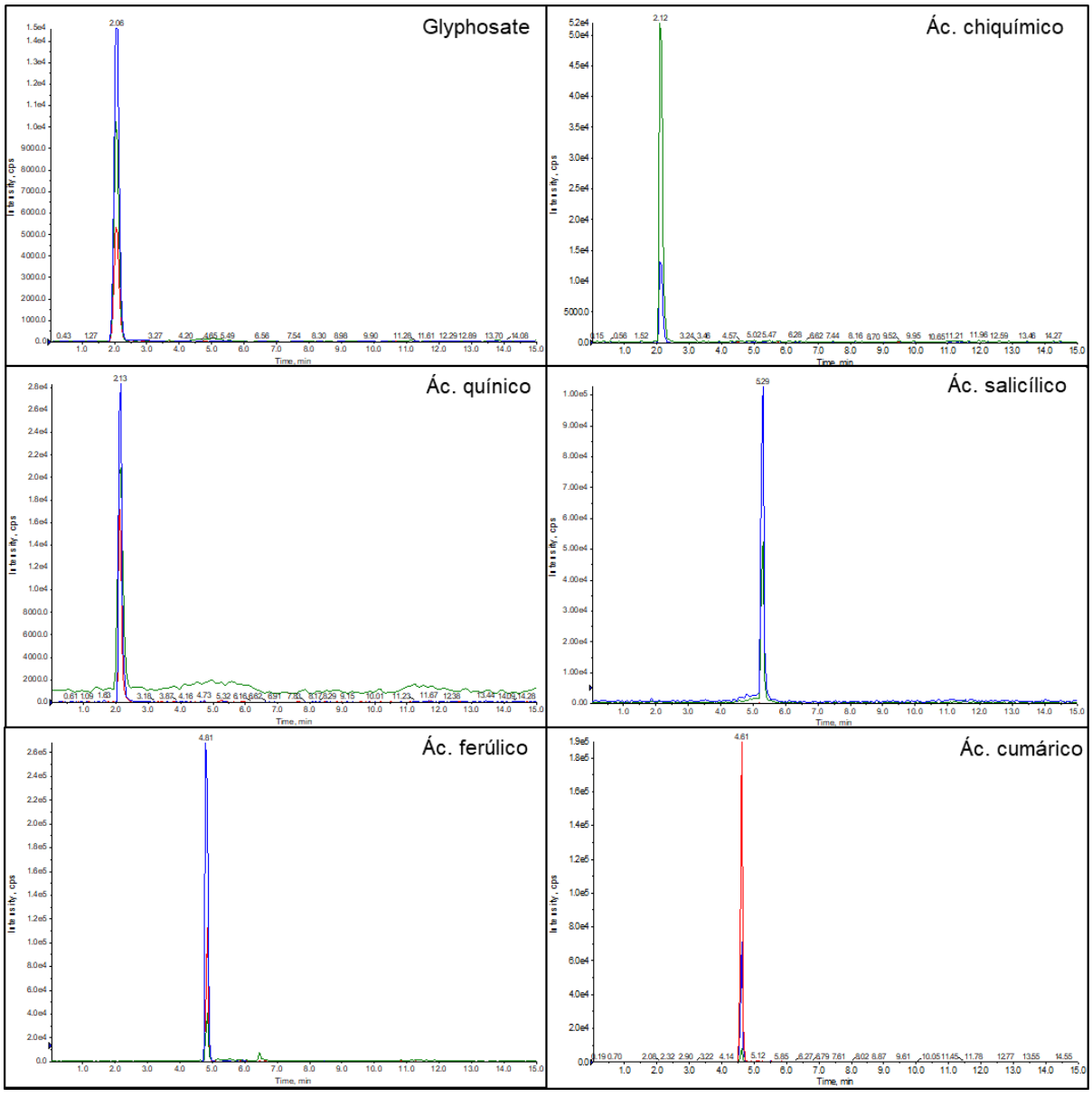
ZABALZA, A. et al. The pattern of shikimate pathway and phenylpropanoids after inhibition by glyphosate or quinate feeding in pea roots. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 141, p. 96–102, 2017.

ZHAN, H. et al. Recent advances in glyphosate biodegradation Glyphosate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 5033–5043, 2018.

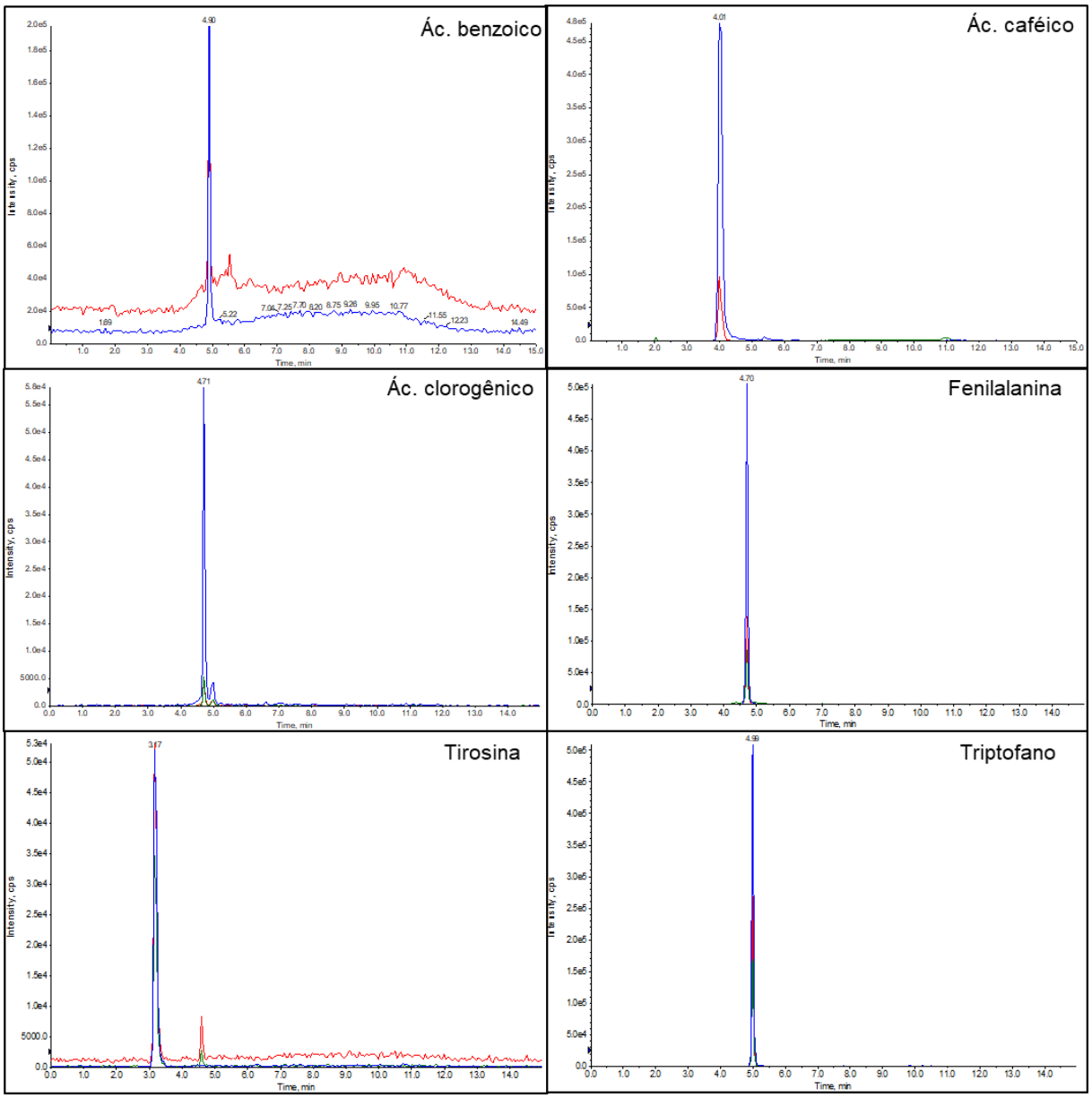
ZULET, A. et al. Proteolytic Pathways Induced by Herbicides That Inhibit Amino Acid Biosynthesis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e73847, 2013.

APÊNDICES

Apêndice A – Cromatogramas do glyphosate, ácido chiquímico, ácido quínico, ácido salicílico, ácido ferúlico e ácido cumárico gerados na concentração de 37,5 ng mL^{-1}



Apêndice B - Cromatogramas do ácido benzoico, ácido caféico, ácido clorogênico, fenilalanina, tirosina e triptofano gerados na concentração de 37,5 ng mL^{-1}



Apêndice C - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo) entre os experimentos realizados em duplicata para as variáveis número de folha e altura aos 7, 14, 21, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) do glyphosate

Experimento	QMe					
	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA	42 DAA
	Número de Folhas					
1	1,8100	2,3750	4,6150	8,7950	7,85550	8,9500
2	3,3600	3,8700	4,6500	5,0400	4,9500	6,8200
Fmáximo	1,8563	1,6294	1,0075	1,74504	1,58697	1,3123
	Altura					
1	5,4425	5,50875	5,33875	4,60125	6,3225	6,3328
2	6,3650	6,0475	8,3413	8,5100	6,8200	7,7625
Fmáximo	1,1695	1,0978	1,5624	1,8494	1,0786	1,2257

Apêndice D - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo) entre os experimentos realizados em duplicata para as variáveis de análise de crescimento aos 42 dias após a aplicação do glyphosate.

Experimento	Qme				
	AF	MSC	MSF	MST	TCA
1	12658,68911	0,25554	0,68967	1,55049	0,00083
2	9156,45501	0,10700	0,42904	0,75006	0,00043
Fmáximo	1,38249	2,38819	1,60750	2,06715	1,95294
	TCR	RAF	TAL	IAF	DAF
1	0,00002	106,54933	0,00500	0,10552	46,53400
2	0,00001	37,07077	0,00185	0,07633	33,65961
Fmáximo	2,62500	2,87421	2,70818	1,38248	1,38249

AF= Área foliar, MSC= massa seca do caule, MSF= massa seca da folha, MST= massa seca total, TCA= taxa de crescimento absoluta, TCR= taxa de crescimento relativa, TAL= taxa de assimilação líquida, RAF= razão de área foliar, IAF= índice de área foliar, DAF= duração de área foliar.

Apêndice E - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo), entre os experimentos realizados em duplicata, para as variáveis de trocas gasosas, eficiência do uso da água e rota alternativa de elétrons aos 7, 21 e 35 dias após a aplicação (DAA) do glyphosate.

Experimento	QMe					
	7 DAA	21 DAA	35 DAA	7 DAA	21 DAA	35 DAA
	A			E		
1	0,5970	0,7922	0,8121	0,0983	0,1266	0,1389
2	0,4061	0,4435	0,5584	0,0493	0,1686	0,2183
Fmáximo	1,4701	1,7862	1,4543	1,9923	1,3321	1,5711
	gs			Ci		
1	122,490	82,100	63,310	469,360	2796,350	4076,180
2	47,280	91,250	119,000	453,110	787,430	3548,490
Fmáximo	2,591	1,111	1,880	1,036	3,551	1,149
	A/Ci			EEUA		
1	0,00002	0,00005	0,00005	0,28183	0,20785	2,06044
2	0,00001	0,00004	0,00004	0,16061	0,30759	2,58721
Fmáximo	1,15385	1,21951	1,04651	1,75472	1,47991	1,25566
	EIUA			ETR/A		
1	0,0006	0,0004	0,0009	169,8553	1067,9089	174,1073
2	0,0003	0,0002	0,0020	300,6882	1109,4978	209,9660
Fmáximo	2,1183	1,9005	2,3414	1,7703	1,0389	1,2060

A= assimilação de CO_2, E= transpiração, gs= condutância estomática, Ci= concentração interna de CO_2, A/Ci= eficiência de carboxilação, EEUA= eficiência efetiva do uso da água, EIUA= eficiência intrínseca do uso da água, ETR/A= rotas alternativas de elétrons.

Apêndice F - Análise da homogeneidade das variâncias residuais (Fmáximo), entre os experimentos realizados em duplicata, para as variáveis taxa de transporte de elétrons (ETR) e eficiência fotoquímica Fotossistema II (ϕPSII) aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) do glyphosate.

Experimento	QMe					
	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA	42 DAA
	ETR					
1	50,4635	29,2533	18,5984	18,4732	44,4430	32,4039
2	19,4307	23,8721	25,1062	20,8438	13,5546	37,9324
Fmáximo	2,5971	1,2254	1,3499	1,1283	3,2788	1,1706
	ϕ_{PSII}					
1	0,0011	0,0007	0,0004	0,0004	0,0010	0,0007
2	0,0004	0,0005	0,0006	0,0005	0,0003	0,0009
Fmáximo	2,5977	1,2255	1,3515	1,1265	3,2801	1,1703