

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

HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CANA-DE-AÇÚCAR E EUCALIPTO

RENAN FONSECA NASCENTES

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

BOTUCATU – SP
FEVEREIRO 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS BOTUCATU

HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CANA-DE-AÇÚCAR E EUCALIPTO

RENAN FONSECA NASCENTES

Orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

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

BOTUCATU – SP

FEVEREIRO 2016

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

N244h Nascentes, Renan Fonseca, 1990-
Hormesis de glyphosate em cana-de-açúcar e eucalipto /
Renan Fonseca Nascentes. - Botucatu : [s.n.], 2016
v, 63 f.: ils. color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2016
Orientador: Caio Antonio Carbonari
Inclui bibliografia

1. Eucalipto. 2. Hormese. 3. Plantas - efeito do Herbi-
cidas. 4. Cana-de-açúcar. I. Carbonari, Caio Antonio. II.
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
(Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas de
Botucatu. III. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE CIENCIAS AGRONOMICAS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CANA-DE-AÇÚCAR E EUCALIPTO

AUTOR: RENAN FONSECA NASCENTES

ORIENTADOR: Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI

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

Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI

Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu

Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu

Prof. Dr. FERNANDO TADEU DE CARVALHO

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Data da realização: 01 de fevereiro de 2016.

Aos meus queridos pais Omar Caixeta Nascentes e Maria Aparecida da Fonseca Nascentes, pelo apoio e incentivo ao longo desta jornada e por toda a vida.

A minha irmã Rayane Fonseca Nascentes importante em todos os momentos da minha vida.

A minha noiva Marcela Cristina Brunelli pelo apoio e companheirismo, em todos os momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar presente em minha vida e em todos os momentos;

Ao meu orientador Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari, por todos os ensinamentos, amizade e confiança depositada em mim;

A meus pais Omar Caixeta Nascentes e Maria Aparecida Fonseca Nascentes, minha irmã Rayane Fonseca Nascentes e meus tios Claudio Lino da Fonseca e Zama Caixeta Nascentes, pelo apoio, incentivo, carinho e dedicação incondicional.

A minha noiva Marcela Cristina Brunelli pela ajuda, apoio, paciência e amizade;

Aos amigos do laboratório, Gilmar José Picoli Junior, Ana Karollyna Alves de Matos, Gabrielle de Castro Macedo, Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes, Bruna Marchesi, Ivana Ferraz, Carolina Pucci, Débora de Oliveira Latorre, Plinio Saulo Simões, Edicarlos Batista de Castro, Ronei Ben, Leandro Tropaldi, Diego Belapart pelos bons momentos de convívio no Nupam e colaborações para condução das atividades.

Aos amigos e funcionários do Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal, José Roberto Marques Silva, José Guilherme Cordeiro, Luis Marcelo Siono pelas colaborações durante a realização dos experimentos e análises laboratoriais.

Aos amigos da República SAMU, Jorge Laço Portinho (Jorgera), Ricardo Zerlin (Careca), Welder Baldassini (TT), Felipe Santos (Magrelo) e ao agregado Mateus Olivo (Gaúcho), pelos momentos de descontração e risadas;

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia / Agricultura, e à Faculdade de Ciências Agronômicas, pela oportunidade e formação. A CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

A todos meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	V
1. RESUMO	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUÇÃO	3
4. REVISÃO DE LITERATURA	6
4.1. A cana-de-açúcar.....	6
4.2. Eucalipto.....	7
4.3. Glyphosate	9
4.4. Hormesis.....	11
4.5. Efeitos do glyphosate na fotossíntese	13
5. MATERIAL E MÉTODOS	15
5.1. Conteúdo de clorofila	18
5.2. Trocas gasosas	18
5.3. Massa seca da parte aérea.....	19
5.4. Determinação dos compostos relacionados à rota do ácido chiquímico	19
5.5. Análise de Fibra em detergente ácido (FDA) e lignina	21
5.6. Metodologia estatística	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6.1. Cana-de-açúcar (Experimento 1 e 2).....	23
6.2. Eucalipto (Experimentos 3 e 4)	38
7. CONCLUSÕES.....	51
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. RESUMO

TÍTULO: HORMESIS DE GLYPHOSATE EM CANA-DE-AÇÚCAR E EUCALIPTO

O efeito de substâncias que em altas doses causa efeitos tóxicos, mas que em subdoses pode estimular a planta é conhecido como hormesis, sendo o glyphosate um herbicida com este efeito. Subdoses de glyphosate podem estimular o crescimento de uma diversidade de espécies de plantas, e tal resultado provavelmente esteja relacionado com o sítio de ação do glyphosate, uma vez que o efeito não é observado em plantas resistentes ao glyphosate. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de hormesis do herbicida glyphosate em cana-de-açúcar e eucalipto. Para isso, foi conduzido quatros experimentos onde foram utilizados dez doses do herbicida glyphosate 0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a.ha⁻¹, aplicados com o auxilio de pulverizador estacionário com o volume de calda de 200 L ha⁻¹. Nos experimentos foram avaliados a massa seca de parte aérea, fibra em detergente ácido (FDA), lignina, glyphosate, ácido chiquímico, conteúdo de clorofila, trocas gasosas (taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática e taxa de transpiração). Os resultados indicaram que a massa seca da parte aérea de cana-de-açúcar e eucalipto, apresentou incremento em doses variando de 3,6 a 18 g e.a ha⁻¹. A aplicação de glyphosate proporcionou, em ambas as culturas, um incremento na taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática, taxa de transpiração, conteúdo de clorofila, sendo a dose variável para cada parâmetro analisado. Os níveis de FDA e lignina aumentaram em cana-de-açúcar após a aplicação de glyphosate, em todas as doses analisadas. Em resultados para eucalipto os níveis de FDA e lignina mantiveram-se estáveis, diminuindo em doses maiores. O herbicida glyphosate só foi detectado em cana-de-açúcar e eucalipto em doses a partir de 72 g e.a ha⁻¹, da mesma forma os níveis de ácido chiquímico aumentaram.

Palavras-chave: subdoses, trocas gasosas, *Eucalyptus sp.*, *Saccharum sp.*

2. SUMMARY

HORMESIS OF GLYPHOSATE IN SUGARCANE AND EUCALYPTUS. Botucatu, 2015. 56 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista

Author: RENAN FONSECA NASCENTES

Adviser: PROF. DR. CAIO ANTONIO CARBONARI

The effect of substances that at high doses cause toxic effects, but in low doses can stimulate the plant is known as hormesis. One herbicide which has been used for this purpose is glyphosate. Low doses of glyphosate can stimulate the growth of a variety of plant species, and such a result is probably related to glyphosate site of action, since the effect is not observed in glyphosate resistant plants. Therefore, this study aimed to evaluate the hormesis effect of glyphosate herbicide in sugarcane and eucalyptus. For this, it conducted four experiments where was used ten doses of glyphosate 0; 1.8; 3.6; 7.2; 18; 36; 72; 180; 360 and 720 g e.a. ha⁻¹, applied to the steady spray of aid with the spray volume of 200 L ha⁻¹. In the experiments were evaluated: dry mass of shoots, acid detergent fiber (ADF), lignin, glyphosate, shikimic acid, chlorophyll content, gas exchange (CO₂ assimilation rate, stomatal conductance and transpiration rate). The results indicated that the dry mass of shoots of sugarcane and eucalyptus, increase in doses ranging from 3.6 to 18 g e.a. ha⁻¹. The application of glyphosate provided in both cultures, an increase in CO₂ assimilation rate, stomatal conductance, transpiration rate, chlorophyll content, with variable dose for each parameter analyzed. FDA and lignin levels increased in sugarcane after application of glyphosate at all doses tested. In results to eucalyptus the FDA and lignin levels remained stable, decreasing at higher doses. The herbicide glyphosate was only detected in sugarcane and eucalyptus in doses above 72 g ha⁻¹, as the shikimic acid levels increased at the same way.

Key words: low doses, gas exchange, *Eucalyptus sp.*, *Saccharum sp.*

3. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira, conhecida pela grande produção de biomassa e utilizada principalmente para produção de açúcar e biocombustível. O Brasil é o maior produtor de açúcar e etanol proveniente dessa cultura (MAPA, 2015). Outra cultura que necessita de alta produção de biomassa é o eucalipto *Eucalyptus* spp, pois o mercado exige uma demanda crescente de madeira proveniente de florestas. Esta cultura apresenta uma das alternativas viáveis para o abastecimento de vários setores industriais, em especial a produção de energia e madeira para a indústria moveleira, de papel, celulose e outros. Desta forma o efeito da aplicação de baixas doses de herbicida, denominado de hormesis, torna-se uma nova ferramenta para o aumento na produção de biomassa.

Uma referência do século XVII para o conceito agora conhecido como hormesis pode ser encontrada nos escritos de Paracelsus (1493-1541), que afirmou que “o que faz um homem doente também pode curá-lo”. Ele também destacou que “todas as substâncias são venenos, não existe nada que não seja veneno, somente a dose correta diferencia o veneno do remédio”. O termo "hormesis" é de origem relativamente recente.

De acordo com Luckey (1991), hormesis foi usado pela primeira vez em 1942 para descrever o estímulo de crescimento de fungos por baixas concentrações de uma substância antibiótica, que naturalmente encontrado em casca de árvore, e que em concentrações mais elevadas diminui o crescimento do fungo. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, dependendo do produto químico que está sendo aplicado, da planta que está recebendo esse composto, e como ele age na morfologia e na fisiologia dessa planta. Alguns trabalhos citados na literatura constataram o efeito de hormesis de glyphosate por meio do crescimento de plantas promovido por aplicações de baixas concentrações do herbicida.

O glyphosate é um herbicida sistêmico, utilizado no controle de plantas daninhas, na dessecação, e em culturas resistentes. Tal herbicida apresenta largo espectro de ação, o que possibilita um excelente controle de plantas daninhas anuais ou perenes, tanto de monocotiledôneas como de dicotiledôneas. O glyphosate inibe a ação da enzima EPSPs (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase), associada à rota do ácido chiquímico. Desta forma, impede a produção de aminoácidos essenciais como fenilalanina, tirosina e triptofano. Além de alguns metabólitos secundários como: lignina, antocianina, tanino, fitoalexina e alcaloides. Baixas doses de glyphosate pode estimular o crescimento de uma variedade de espécies de plantas o efeito de hormesis provavelmente esteja relacionado com o sítio de ação do glyphosate, uma vez que o efeito não foi observado em plantas resistentes ao glyphosate (VELINI et al., 2008).

No solo o glyphosate complexa com minerais de argila e matéria orgânica sendo rapidamente adsorvido. Desta forma a absorção do glyphosate pelo sistema radicular é praticamente nula. A absorção ocorre em regiões clorofiladas da planta como caule e folhas. Quanto ao modo de absorção este herbicida é absorvido via folha, transportado pela cutícula e parede celular até chegar aos ectodesmos onde é prontamente transportado por proteína do tipo fosfato na membrana plasmática. No citoplasma ele é rapidamente translocado via floema para outros órgãos da planta.

Atualmente, tanto no setor de produção agrícola quanto nas diversas áreas da saúde humana, o efeito de hormesis por produtos aplicados, vem sendo amplamente discutido e pesquisado, com o objetivo de compreender o mecanismo de ação estimulante e benéfica de diversas substâncias inicialmente consideradas como tóxicas.

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi de analisar o efeito de baixas doses de glyphosate no acúmulo de massa seca, trocas gasosas e compostos relacionados a rota do ácido chiquímico, em plantas de cana-de-açúcar e eucalipto.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. A cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta monocotiledônea, perene, provavelmente originária das regiões da Indonésia e Nova Guiné, pertencente à família *Poaceae*. Seus atuais cultivares são híbridos interespecíficos, sendo que nas constituições genéticas participam as espécies *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e *S. edule* (GUPTA et al., 2010).

Apresenta metabolismo C4, pois forma compostos orgânicos com quatro carbonos e possui uma das maiores taxas fotossintéticas, chegando a saturação a 0,9 cal cm⁻² min⁻¹ (AUDE, 1993), sendo que as características das variedades influenciam a eficiência fotossintética da cana, além das variações climáticas que ocorrem durante o desenvolvimento da cultura (RODRIGUES, 1995).

A cana-de-açúcar se transformou em uma das principais culturas da economia brasileira. O Brasil não é apenas o maior produtor de cana, mas também o primeiro do mundo na produção de açúcar e etanol e conquista, cada vez mais, o mercado externo com o uso do biocombustível como alternativa energética (MAPA, 2015). A cana-

de-açúcar é conhecida pela grande produção de biomassa e utilizada principalmente para produção de açúcar, biocombustível e energia elétrica.

Na cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), o glyphosate é utilizado como maturador, nas doses entre 180 e 360 g e.a. ha⁻¹ e na eliminação de soqueiras para fins de renovação da cultura, com doses de 1800 a 2160 g e.a. ha⁻¹ (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Silva et al. (2009) identificaram efeito estimulante da aplicação de glyphosate na subdose de 1,8 g.e.a.ha⁻¹ no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar, o que indicaria uma potencial aplicação desse manejo para obtenção de melhores estandes após a brotação, a fim de conseguir melhor exploração do ambiente pela planta, resultando em maior produção de biomassa.

Carbonari et al. (2014), estudando a aplicação de doses de glyphosate em cana-de-açúcar, determinou que as doses entre 7,2 e 36 g de e.a. ha⁻¹ promoveram um aumento na biomassa da parte aérea da planta, enquanto doses de glyphosate superior a 72 g a.e. ha⁻¹ causaram reduções significativas na massa seca. Os mesmos autores relatam que os sintomas de intoxicação nas plantas foram observadas acima de 21 dias após o tratamento nas doses de 72 g ae ha⁻¹. Além disso, os aumentos nos níveis de ácido chiquímico, ácido quínico e chiquimato-3-fosfato, em comparação com plantas não-tratadas indicando a ausência de efeitos negativos a este respeito em doses mais baixas.

4.2. Eucalipto

Originário da Austrália e da Indonésia, o eucalipto assume grande importância nacional pela co-geração de matéria-prima para produção de celulose e papel, carvão, móveis e energia. Pertence ao gênero *Eucalyptus*, que reúne mais de 600 diferentes espécies. Hoje, as florestas plantadas de eucalipto cobrem 4,8 milhões de hectares no Brasil segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2015). Desse total, 1,8 milhão é cultivado pela indústria de celulose e papel (ABRAF, 2014).

As espécies de eucalipto são as espécies florestais mais cultivadas no Brasil atualmente, em virtude de seu crescimento rápido, em relação às essências nativas, boa qualidade da madeira e por apresentar potencial de usos múltiplos. A grande diversidade de espécies possibilita a adaptação do gênero às diversas condições ambientais, tais como o clima e solo. Outro facilitador é a versatilidade de propagação, que é facilmente obtida, tanto por sementes, como por via vegetativa (VILAS BÔAS et al., 2009).

De acordo com Lobão et al. (2004), ao se pensar em espécies de rápido crescimento, como alternativa para produção de madeira, o gênero *Eucalyptus* se apresenta como uma opção potencial das mais importantes, não somente por sua capacidade produtiva e adaptabilidade a diversos ambientes, mas, sobretudo, pela grande diversidade de espécies, tornando possível atender aos requisitos tecnológicos dos mais diversos segmentos da produção industrial madeireira.

Para determinação da qualidade da madeira visando a produção de polpa celulósica e papel, os parâmetros químicos como teores de celulose, lignina e extrativos têm sido considerados os mais relevantes, e normalmente são relacionados com os aspectos quantitativos de rendimento e consumo de produtos químicos durante o processo de deslignificação (CARVALHO et al., 1998).

Ligninas são substâncias complexas, macromoléculas tridimensionais de origem fenilpropanóide. Estas substâncias químicas conferem rigidez à parede da célula e, nas partes da madeira, agem como um agente permanente de ligação entre as células, gerando uma estrutura resistente ao impacto, compressão e dobra. Sua estrutura principal provém dos precursores primários, álcool trans-coniferílico, álcool trans-sinapílico e álcool trans-para-cumário (SACON; WEISSHEIMER, 1996). Entretanto, sabe-se que tais precursores provêm do metabolismo secundário, mais precisamente da rota do ácido chiquímico, a qual é afetada pela molécula de glyphosate.

Segundo Velini et al. (2009), clones de eucalipto variaram quanto à sensibilidade a baixas doses de glyphosate, e que essa resposta pode estar associada à tolerância à baixa disponibilidade de fósforo no solo, uma vez que proteínas que transportam grupos de fosfatos facilitam a absorção do glyphosate.

4.3. Glyphosate

O glyphosate é um herbicida utilizado em pós-emergência e pertence ao grupo químico das glicinas substituídas. Apresenta amplo espectro de controle, o que possibilita um excelente controle de plantas daninhas anuais ou perenes, de diferentes famílias de mono ou dicotiledôneas. O glyphosate é um dos principais herbicidas utilizado na agricultura, devido à eficácia no controle de plantas daninhas, do baixo custo e segurança na aplicação. Este herbicida foi originalmente sintetizado em 1964 como potencial agente quelante industrial e seu uso como herbicida foi descrito em 1971. (AHSAN et al., 2008; PRESTON; WAKELIN, 2008).

O coeficiente de partição octanol/água (Log Kow) do glyphosate é extremamente baixo (-3,22), indicando baixíssima afinidade por lipídios e elevada solubilidade em água (15.700 mg L⁻¹). Este herbicida apresenta três constantes de dissociação (pKa's) com valores de 2,6; 5,6; 10,3 (RODRIGUES; ALMEIDA,2011). Em função das diferentes cargas que a molécula pode assumir, a variação de pH do solo tem pouco efeito sobre a adsorção de glyphosate (DILL, 2005). O herbicida é fortemente adsorvido pelos colóides do solo (K_{oc} 24000mg L⁻¹) apresentando pouca lixiviação (RODRIGUES; ALMEIDA,2011).

Quando o glyphosate é aplicado sobre as plantas, ocorre, inicialmente, uma rápida penetração, seguida por uma longa fase de lenta penetração, sendo que a duração dessas fases depende de numerosos fatores, incluindo espécie e idade da planta, condições ambientais, concentração de glyphosate e surfactante. O glyphosate é móvel no floema e rapidamente translocado por todas as partes da planta, mas tende a se acumular nas regiões meristemáticas. Nas plantas, o glyphosate é muito estável, com pequena degradação detectável ocorrendo em longo período de tempo (GRUYS; SIKORSKI, 1999).

O glyphosate é absorvido moderadamente pela cutícula, necessitando em média de 6 horas sem chuvas após a aplicação para haver controle adequado de plantas sensíveis. É possível que a absorção relativamente lenta de glyphosate ocorra devido ao valor muito baixo de Log Kow (-3,22), em comparação com outros herbicidas, o que lhe confere baixa lipofilicidade. Assim, novas formulações apresentam

surfactantes que conferem maior lipofilicidade à solução aspergida, facilitando a absorção foliar dos inibidores de EPSPs (BOERBOOM; WYSE, 1988; DILL, 2005)

A penetração de glyphosate nas células é mediada por proteínas transportadoras de fosfato, presentes na membrana plasmática (MERVOSH; BALKE, 1991). É translocado nas plantas até os tecidos de demanda, através do floema, onde é distribuído simplásticamente, embora também ocorra movimento apoplástico. Este composto aparentemente tem dificuldade de penetrar no floema, contudo, uma vez ali localizado é altamente móvel, aproximando-se do limite teórico de mobilidade no floema (GOUGLER; GEIGER, J, 1984; DILL, 2005).

O glyphosate é o único composto capaz de inibir a enzima EPSPs em doses que viabilizem o uso comercial (MOLDES et al., 2008; REDDY et al., 2008). Esta enzima está localizada na rota do ácido chiquímico o qual é responsável pela produção de três aminoácidos essenciais que são: triptofano, fenilalanina e tirosina e vários outros compostos fenólicos que derivam desses aminoácidos. (TAN et al., 2006; TAIZ e ZEIGER, 2013).

O mecanismo de ação do glyphosate é através da inibição da enzima EPSPs (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase), a qual é responsável por catalisar a reação do chiquimato-3-fosfato (S3P) e fosfoenolpiruvato (PEP) formando um composto enolpiruvilchiquimato-3-fosfato mais fosfato (KNAGGS, 2003; AMRHEIN et al., 1980). O glyphosate se liga ao complexo EPSPs-S3P através de um sítio de ligação do tipo fosfato, essa ligação é 75 vezes maior que entre a EPSPs-PEP. (MARIA et al., 2005; AHSAN et al., 2008). O enolpiruvilchiquimato-3-fosfato é precursor do ácido corísmico do qual irá produzir os aminoácidos triptofano, fenilalanina, tirosina, com isso a aplicação do glyphosate irá inibir todos esses aminoácidos e compostos fenólicos (AMRHEIN et al., 1980; LYDON; DUKE, 1988).

De acordo com Kruse et al., (2000), aproximadamente 35% da massa seca de plantas é representada por derivados da via do chiquímico e 20% do carbono fixado pela fotossíntese segue por essa rota metabólica. Com isso a inibição da rota causa um desbalanço no fluxo de carbono, contribuindo para a causa dos sintomas (GEIGER; FUCHS, 2002; KOGER et al., 2005). Além do fluxo de carbono e síntese dos aminoácidos, outro fator relacionado à morte de plantas causadas pelo glyphosate é a biossíntese de

compostos fenólicos. A classe mais abundante de compostos fenólicos produzidos por plantas deriva da fenilalanina, reação catalisada pela fenilalanina amônia liase (PAL) (TAIZ E ZEIGER, 2013).

Esta rota metabólica é fonte dos aminoácidos citados para a síntese proteica, mas também é precursora de vários outros compostos aromáticos importantes como vitaminas (K e E), hormônios (auxina, etileno), alcalóides, lignina, antocianina e vários outros produtos secundários. O ácido salicílico que é extremamente importante no mecanismo de defesa contra patógenos resulta da rota do ácido chiquímico. A lignina que também advém desta rota, confere resistência à parede celular atuando como barreira física em plantas (TAIZ E ZEIGER, 2013). Em baixas doses de glyphosate, a síntese de lignina pode ser inibida, fazendo as paredes celulares mais elásticas por um período mais longo durante o desenvolvimento, resultando em um maior crescimento longitudinal (DUKE et al., 2006).

Os sintomas da ação do glyphosate podem ser verificados aproximadamente aos sete dias após a aplicação com o aparecimento de folhas cloróticas e posteriormente evoluindo para necrose dos tecidos. Como o glyphosate atua na biossíntese de aminoácidos e compostos fenólicos os sintomas aparecem com espaço maior de tempo comparado a outros herbicidas.

4.4. Hormesis

Algumas substâncias, embora tóxicas em doses altas, podem ser estimulantes ou mesmo benéficas em doses baixas. Este é o caso dos medicamentos que em doses adequadas são usados pelos seus efeitos benéficos, bem como os defensivos agrícolas que são normalmente utilizados como substâncias tóxicas para plantas daninhas, pragas e doenças. Porém, em doses ainda mais reduzidas pode causar um efeito estimulante chamado hormesis.

Hormesis vem do grego “*hormo*” que significa “excitar”, é originalmente definido como um comportamento bifásico, no qual uma característica biológica é estimulada por baixas doses de um composto, mas inibida por altas doses do mesmo (BUKOWSKI; LEWIS, 2000; CALABRESE; BALDWIN, 2000; CALABRESE; BALDWIN, 2001; TURTURRO et al., 2001). Segundo Beltz e Duke (2014) o primeiro

conceito de hormesis foi de Paracelsus (1493-1541) que afirmou que "o veneno está na dose". Mas o termo foi usado primeiramente por Southam e Ehrlich (1943) para descrever o estímulo de agentes potencialmente letais.

Pesquisas têm sido realizadas no sentido de avaliar possíveis efeitos horméticos em plantas, principalmente com o uso de herbicidas. A resposta estimulatória é medida em diferentes parâmetros variando de crescimento com base no peso, altura ou área foliar, ou ainda mudanças fisiológicas, como teor de proteína. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, que depende do produto químico que está sendo aplicado, da planta que está recebendo esse composto, e como ele age na morfologia e na fisiologia dessa planta. Alguns desses mecanismos causados por hormesis podem representar tentativas fisiológicas na planta, que faz com que esta tente compensar o estresse químico (WIEDMAN; APPLEBY, 1972).

Os efeitos positivos de hormesis em resposta a doses sub-letais podem variar de acordo com vários estímulos (CALABRESE; BALDWIN, 2003) e complexos químicos (CALABRESE; BALDWIN, 2000), radiação, (FEINENDEGEN, 2005), estresse (CYPSEK; JOHNSON, 2002). Estes mesmos autores indicam que um dos pontos de validação na pesquisa com hormesis é o crescimento. Carvalho et al. (2013) trabalharam com subdose de glyphosate em cafeeiros e observaram incremento de 18% no diâmetro do caule, 31% na massa de matéria seca das folhas e 27% na massa de matéria seca total, atribuindo tais resultados à ocorrência de hormesis.

Efeitos causados pela aplicação acidental, de deriva de glyphosate tem sido estudados em culturas como algodão, beterraba, café, cana-de-açúcar, cevada, citros, eucalipto, maracujá, soja (TUFFI SANTOS et al., 2006; WAGNER JUNIOR et al., 2008; FRANÇA, 2009; SILVA, et al., 2009; CEDERGREEN; OLESEN, 2010;). Baixas doses de glyphosate estimularam o crescimento de uma diversidade de espécies de plantas e hormesis provavelmente esteja relacionado com o sítio de ação do glyphosate, uma vez que o efeito não foi observado em plantas resistentes ao glyphosate (VELINI et al., 2008).

O tratamento de uma cultura com uma subdose de um herbicida para uma mudança fenotípica desejável pode ser valioso (DUKE et al., 2006). Por exemplo, glyphosate em subdoses de forma comercial é aplicado para estimular o acúmulo de sacarose e evitar o florescimento em cana-de-açúcar (CASTRO et al., 2002;

BENNETT; MONTES, 2003; CASTRO; MESCHDE, 2009; VELINI et al., 2009; ARALDI et al., 2010). Este efeito estimulatório é benéfico, e assim tratamentos com baixas doses de glyphosate tem usado na produção de cana-de-açúcar.

4.5. Efeitos do glyphosate na fotossíntese

De acordo com Carvalho (2011), a fotossíntese não é o sítio de ação primária do glyphosate, mas há estudos com deriva simulada e aplicações de doses recomendadas na qual foram observadas alterações na fotossíntese de culturas susceptíveis e resistentes. Este mesmo autor também observou que ao aplicar subdoses de glyphosate em plantas de café, não houve redução de assimilação de carbono, contudo houve redução na condutância estomática e transpiração, e conclui-se que o tempo requerido para observar esses efeitos indica que a fotossíntese não é o modo primário de ação ou que o herbicida atua lentamente nos processos fotossintéticos.

Mudanças nos parâmetros fisiológicos induzidas pelo glyphosate que tem efeito direto ou indireto sobre a fotossíntese tem sido foco de estudos atuais. Velini et al. (2008) estudando baixas doses de glyphosate constataram uma alteração bioquímica importante, que é o aumento do ácido chiquímico. O aumento do ácido chiquímico foi encontrado em todas as espécies testadas exibindo estímulos de crescimento induzido pelo glyphosate, enquanto nenhum aumento foi medido em soja resistente ao glyphosate, que também não apresentaram um aumento de crescimento (VELINI et al., 2008).

Aproximadamente 20% do carbono fixado por plantas verdes é encaminhado através da rota do ácido chiquímico com um grande número de produtos finais significativos como resultado (KRUSE et al. 2000). Entre esses estão as vitaminas, ligninas, alcalóides e uma gama de compostos fenólicos (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Aldesuquy e Ibraghim (2000), trabalhando com aplicação de ácido chiquímico em sementes de feijão-caupi, determinaram que os parâmetros de crescimento melhoraram com o tratamento, aumentando a turgescência e expansão das folhas, a produção de pigmentos fotossintéticos, bem como um incremento significativo na atividade fotossintética. Além disso, o ácido chiquímico aumentou a capacidade produtiva de plantas de caupi por induzir aumento nos componentes de produção.

Machado et al., (2010) observaram estímulo na taxa de fotossíntese e na eficiência no uso de água por plantas de eucalipto submetidas à aplicação de subdoses de glyphosate (43 e 86 g i.a. ha⁻¹), aos 21 DAA. Cedergreen e Olesen (2010) verificaram estímulo na fotossíntese de plantas de cevada quando expostas a subdoses de glyphosate (11 a 45 g e.a. ha⁻¹), sendo que esse efeito persistiu até a colheita.

Dado que ocorrem alterações fotossintéticas, de modo direto ou indireto, a análise de clorofila também se torna uma ferramenta importante para o diagnóstico nutricional e fotossintético das plantas (MACHADO et al, 2010; CEDERGREEN; OLESEN 2010). Assim, métodos de quantificação e de estimativa de tais pigmentos também podem ser utilizados como ferramentas para detectar os efeitos do glyphosate nas plantas. Carvalho (2011) cita que a redução no teor de clorofila pode ser resultado da menor síntese ou da maior degradação da clorofila pelo glyphosate. Ainda há controvérsias em relação à interferência de herbicidas no conteúdo de clorofila, mas já foram verificados em alguns trabalhos, que o glyphosate pode diminuir os teores de clorofila por inibir a síntese de seu precursor, o ácido aminolevulinato.

Outro parâmetro que pode ser mensurado com o objetivo de verificar se a subdose de glyphosate aplicada está ou não promovendo toxidez e declínio da fotossíntese é a condutância estomática, pois as plantas possuem a capacidade de controlar a abertura estomática permitindo, assim, responder rapidamente a um ambiente em transformação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados quatro experimentos com a aplicação de 10 doses de glyphosate em plantas de cana-de-açúcar e eucalipto. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no laboratório do Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Campus de Botucatu/SP.

Os toletes de cana-de-açúcar da variedade SP801842 foram coletados na Usina Raízen de Barra Bonita – SP e as mudas de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) do clone 144 foram adquiridas em um viveiro comercial de mudas em Botucatu – SP.

No primeiro experimento a aplicação foi realizada no dia 31/03/2014 e encerrado no dia 30/05/2015 totalizando 60 dias, no segundo a aplicação foi realizada no dia 28/01/2015 e finalizado no dia 09/03/2015, totalizando 40 dias. No primeiro experimento o objetivo foi de analisar o acúmulo de matéria seca, concentração de fibra em detergente ácido (FDA), lignina e quantificação de glyphosate e ácido

chiquímico. No segundo o objetivo foi o de avaliar o acúmulo de matéria seca e alterações no conteúdo de clorofila, taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática e transpiração. Os vasos de 5L foram preenchidos com solo coletado na área experimental da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA/UNESP) e adubados considerando a análise química do solo, seguindo as recomendações técnicas para as culturas.

Os experimentos foram compostos por 10 tratamentos (Tabela 1), distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições. A aplicação dos tratamentos foi realizada quando as plantas de cana-de-açúcar apresentavam de 5 a 6 folhas verdadeiras e o eucalipto apresentava uma altura média de 50 cm (Figura 1).

Tabela 1. Tratamentos utilizados nos experimentos. Botucatu/SP, 2015.

Tratamento	Produto	Dose g e.a ha⁻¹
1	Testemunha	0
2	Glyphosate	1,8
3	Glyphosate	3,6
4	Glyphosate	7,2
5	Glyphosate	18
6	Glyphosate	36
7	Glyphosate	72
8	Glyphosate	180
9	Glyphosate	360
10	Glyphosate	720

Para aplicação dos tratamentos descritos na Tabela 1 foi utilizado um pulverizador estacionário, constituído por uma barra de pulverização, com 1,5 metros de largura, que desloca-se por uma área útil de 6,0 m² no sentido do seu comprimento. A barra é tracionada por um conjunto de motor elétrico e modulador de frequência, tornando possível o controle da velocidade de trabalho da barra. A barra foi equipada com quatro pontas de pulverização XR 110.02 VS, espaçadas em 0,5 m entre si, e dispostas a 0,5 m de altura em relação às unidades experimentais. A pressão de trabalho utilizada pelo equipamento é de 2,0 kgf cm⁻², com velocidade de 3,6 km h⁻¹ e consumo de calda de 200 L ha⁻¹. O produto comercial utilizado para o preparo das caldas de pulverização foi o Roundup Original (360 g e.a. L⁻¹).

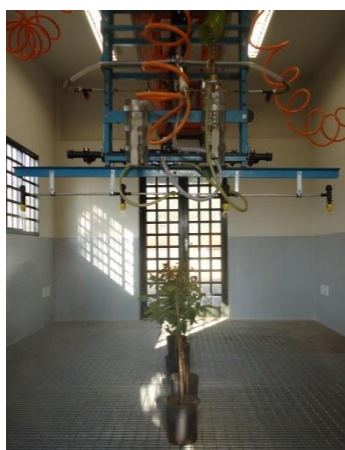


Figura 1. Detalhes do equipamento e da aplicação dos tratamentos e do estágio de desenvolvimento das plantas de cana-de-açúcar e eucalipto.

5.1. Conteúdo de clorofila

Para determinar o conteúdo de clorofila foram realizadas, duas coletas de folhas, aos 15 DAA e 30 DAA no segundo experimento em cada uma das culturas. As clorofilas *a*, *b*, e *a+b* foram determinadas segundo a metodologia de Lichtenthaler (1987). Para tanto, foi coletado, por meio de furador de papel 3 discos foliares, totalizando uma área de $0,84 \text{ cm}^2$, do terço médio em folhas totalmente expandidas. Posteriormente os discos foram acondicionados em frascos de vidro envolvidos por papel alumínio. O método consiste na adição de 2 ml de ácido dimetil-formamida (DMF) e a manutenção da solução protegida da luz por 24 h, até o momento da leitura. As leituras foram realizadas com auxílio de um espectrofotômetro em comprimentos de onda de 480, 647 e 664 nm. Os valores de clorofila *a* e *b* foram determinadas em função da área do disco e os valores de comprimento de onda sendo o valor expresso em $\mu\text{g cm}^{-2}$.

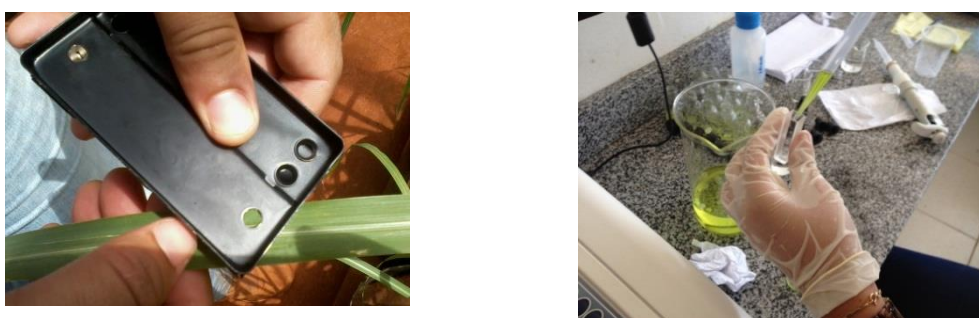


Figura 2. Furador de papel utilizado na coleta dos discos e leitura das amostras em espectrofotômetro.

5.2. Trocas gasosas

A avaliação de trocas gasosas foi realizada no segundo experimento de cada cultura aos 15 DAA, em folhas totalmente expandidas localizada no terço médio do eucalipto e em folhas +1 de cana-de-açúcar, primeira folha totalmente expandida (MARTINS, et al., 2016). Foi utilizado um equipamento de sistema aberto de fotossíntese com analisador de CO_2 e vapor d'água por radiação infravermelha (Infra Red Gas Analyser – IRGA, modelo LI-6400, da Li-Cor). A diferença entre os valores da concentração de CO_2 e vapor d'água (presente na câmara sem a amostra) e os da amostra possibilitou o cálculo dessas medidas, obtendo-se, assim, a concentração de CO_2 e vapor

d'água liberados (transpiração) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas.

As avaliações de trocas gasosas realizadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e condutância estomática (gs, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Essas variáveis foram calculadas pelo programa de análise de dados do equipamento medidor de fotossíntese, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerer e Farquhar (1981).



Figura 3. Detalhe do IRGA utilizado na análise em cana-de-açúcar e eucalipto.

5.3. Massa seca da parte aérea

Ao final dos experimentos, o material vegetal foi coletado separando-se, folha e caule, para posterior secagem em estufa de circulação de ar forçado com temperatura de 40°C. Ao atingir massa constante o material foi pesado em uma balança Shimadzu (AY220) com 0,001g de precisão.

5.4. Determinação dos compostos relacionados à rota do ácido chiquímico

As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 40°C até atingirem peso constante. Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho tipo Wiley, homogeneizadas e pesado 100 mg da amostra seca em balança Shimadzu (AY220) com 0,0001g de precisão, e acondicionadas em tubos “falcon” de 15 mL de capacidade. Foi adicionado no tubo 10 mL de água acidificada a pH 2,5, com pipeta automática Gilson. Os tubos foram agitados em vortex para que a amostra seca fosse misturada com a água e então submetidos a banho de ultra-som durante 30 minutos

(GOMES, et al., 2015). As amostras foram submetidas à centrifugação a 4000 g, durante 10 minutos a 20°C (centrífuga Rotanta 460R). O sobrenadante foi coletado e filtrado em filtro Millex HV (Millipore) 0,45 µm, com membrana durapore 13 mm, e acondicionados em vial âmbar 9mm (Flow Supply), com 2 mL de capacidade.

Para a quantificação do glyphosate, ácido chiquímico e AMPA (ácido aminometilfosfônico) foi utilizado o método descrito por Gomes et al. (2015), utilizando-se um sistema LC-MS/MS, composto por um Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC), Shimadzu, modelo Prominence UFLC. Equipado com duas bombas LC-20AD, injetor automático SIL-20AC, degazeificador DGU-20A5, com sistema controlador CBM-20A e forno CTO-20AC. O HPLC foi acoplado ao espectrômetro de massas 3200 Q TRAP (Applied Biosystems), híbrido triplo quadrupolo, que apresenta alta sensibilidade e reprodutibilidade, com baixo ruído e medição simultânea de vários compostos, bem como, mantém uma relação constante entre a intensidade do sinal (área do pico cromatográfico) e a concentração dos diferentes compostos expressa em unidades molares.

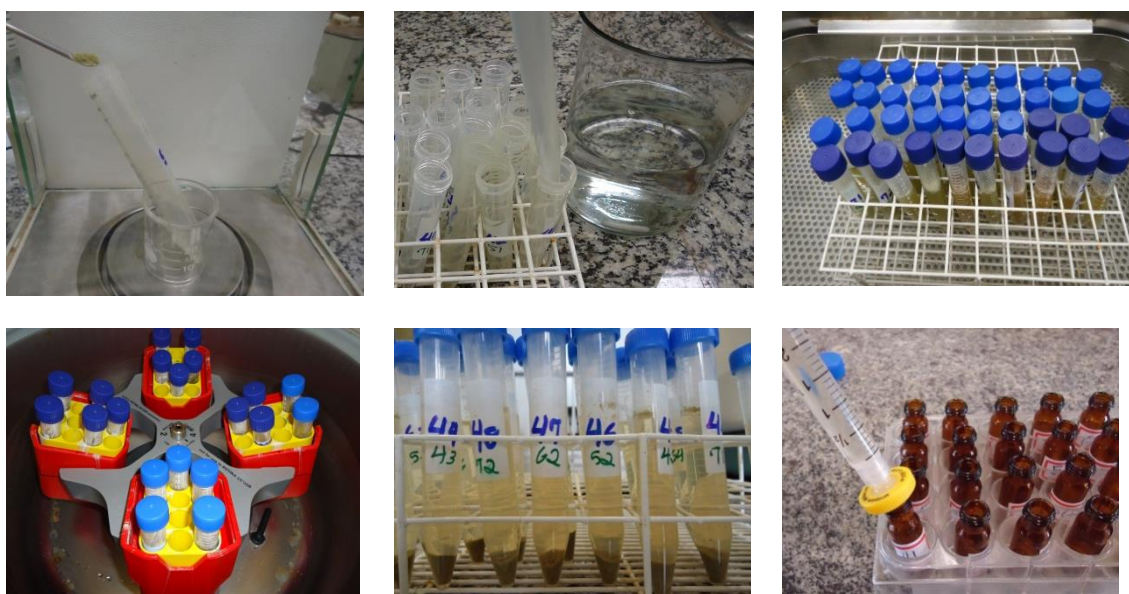


Figura 4. Procedimentos para extração dos compostos relacionados à rota do ácido chiquímico das amostras de cana e eucalipto

5.5. Análise de Fibra em detergente ácido (FDA) e lignina

Para as análises de FDA e lignina foram utilizadas às folhas de cana-de-açúcar e eucalipto. Em ambas as culturas as doses de 360 e 720 g e.a ha⁻¹, causaram a morte das plantas, para as quais não foram realizadas as análises. As folhas foram secas em estufa de circulação forçada a 40°C até atingirem peso constante. Depois foram trituradas em moinho tipo Wiley e levadas para o laboratório de bromatologia, no Departamento de Zootecnia da UNESP/Botucatu, para realização das análises.

A técnica utilizada foi baseada no método da lignina em detergente ácido (LDA), em que a amostra foi previamente tratada com solução de detergente ácido, resultando na fibra em detergente ácido (FDA), a qual posteriormente em seguida é submetida à digestão com solução concentrada de ácido sulfúrico a 72% (VAN SOEST, 1965). Esta técnica foi adaptada com a utilização de saquinhos confeccionados em TNT 100 (“tecido não tecido”, porosidade de 100 micra). Após a digestão, os saquinhos foram colocados em autoclave (120°C por 30 min) e dispostos no interior de garrafão para solução de capacidade de 20 L, contendo 50 mL de solução em detergente ácido por amostra. Em seguida, receberam pré-lavagem com água fria para retirada do excesso de detergente, sendo submetidos a cinco enxágues com água destilada quente (5 min), a seguir escorridos e imersos em acetona (5 min) e secos em estufa (105°C) (LANES, 2006).

5.6. Metodologia estatística

Os modelos utilizados foram apresentados por Brain; Cousens (1989) e adaptados por Velini et al, (2008) com a finalidade de descrever curvas de dose-resposta com estímulo ao crescimento Equação 1, ou sem estímulo ao crescimento Equação 2, após a aplicação de glyphosate.

Os modelos utilizados são descritos como segue:

$$\text{Equação 1} \quad y = F(x) = \frac{k + fx}{1 + e^{bg_x^b}} + d$$

$$\text{Equação 2} \quad y = F(x) = \frac{k}{1 + e^{bg_x^b}} + d$$

Onde y = produção do tratamento; x = dose do herbicida; k = resposta média da testemunha; f = taxa de estímulo em doses próximas a zero; d = resposta em doses infinitas; b = determina como a produção decresce com a dose; g = $-\log_e(ED_{50})$

Os modelos usados são diferentes em apenas um coeficiente adicional, que multiplica a variável independente (x), permitindo o cálculo do aumento da soma do quadrado da regressão, incluindo o coeficiente f com um valor diferente de zero. Desta forma é possível testar o quadrado médio associado à inclusão, com um grau da liberdade (VELINI, et al., 2008). Quando o valor deste quadrado médio era significativo, a hipótese $f=0$ foi rejeitada, a ocorrência de um estímulo ao crescimento foi aceita e o modelo completo (Equação 1) foi usado. Quando o valor deste quadrado médio não era significativo, a hipótese que $f = 0$ foi aceita e assim se concluiu que não havia estímulo em baixas doses e um modelo sigmoide normal (Equação 2) ajustou-se aos dados (VELINI, et al., 2008).

Para os dados não ajustados em modelos, foi calculado o erro padrão da media (Equação 3) no software Microsoft Excel e os gráficos foram plotados no software Sigmaplot 12.5 como barras horizontais.

$$\text{Equação 3} \quad \text{erro} = \frac{\text{desvpad}}{\sqrt{N}}$$

Onde, desvpad = desvio padrão da média, N = número de repetição.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Cana-de-açúcar (Experimento 1 e 2)

As curvas de regressão da massa seca da parte aérea das plantas de cana-de-açúcar obtidas para o experimento 1 (Figura 5 A) apresentaram ajuste de $R^2=0,97$, $0,92$ e $0,96$ para a massa seca de folha, caule e folha+caule, respectivamente (Tabela 2). Os valores máximos da matéria seca de folha, caule e total foram estimados nas doses de $17,4$, $11,8$ e 17 g e.a ha^{-1} de glyphosate respectivamente. Esses valores correspondem a um aumento médio na massa seca de parte área de $27,9\%$ em relação a testemunha. Doses acima dos valores citados diminuíram a massa seca da parte área, evidenciando o efeito herbicida do glyphosate.

No experimento 2 (Figura 5 B) os ajustes do modelo utilizado para construção das curvas de massa seca de folha, caule e folha+caule foram de um $R^2=0,94$, $0,90$ e $0,93$, respectivamente (Tabela 2). Os resultados obtidos para o segundo experimento apresentaram aumento na massa seca de folha, caule e folha+caule em doses de $6,4$, $8,7$ e $7,4$ g e.a ha^{-1} , respectivamente. Correspondendo a um aumento de médio na massa seca de parte aérea de $28,7\%$ em relação a testemunha.

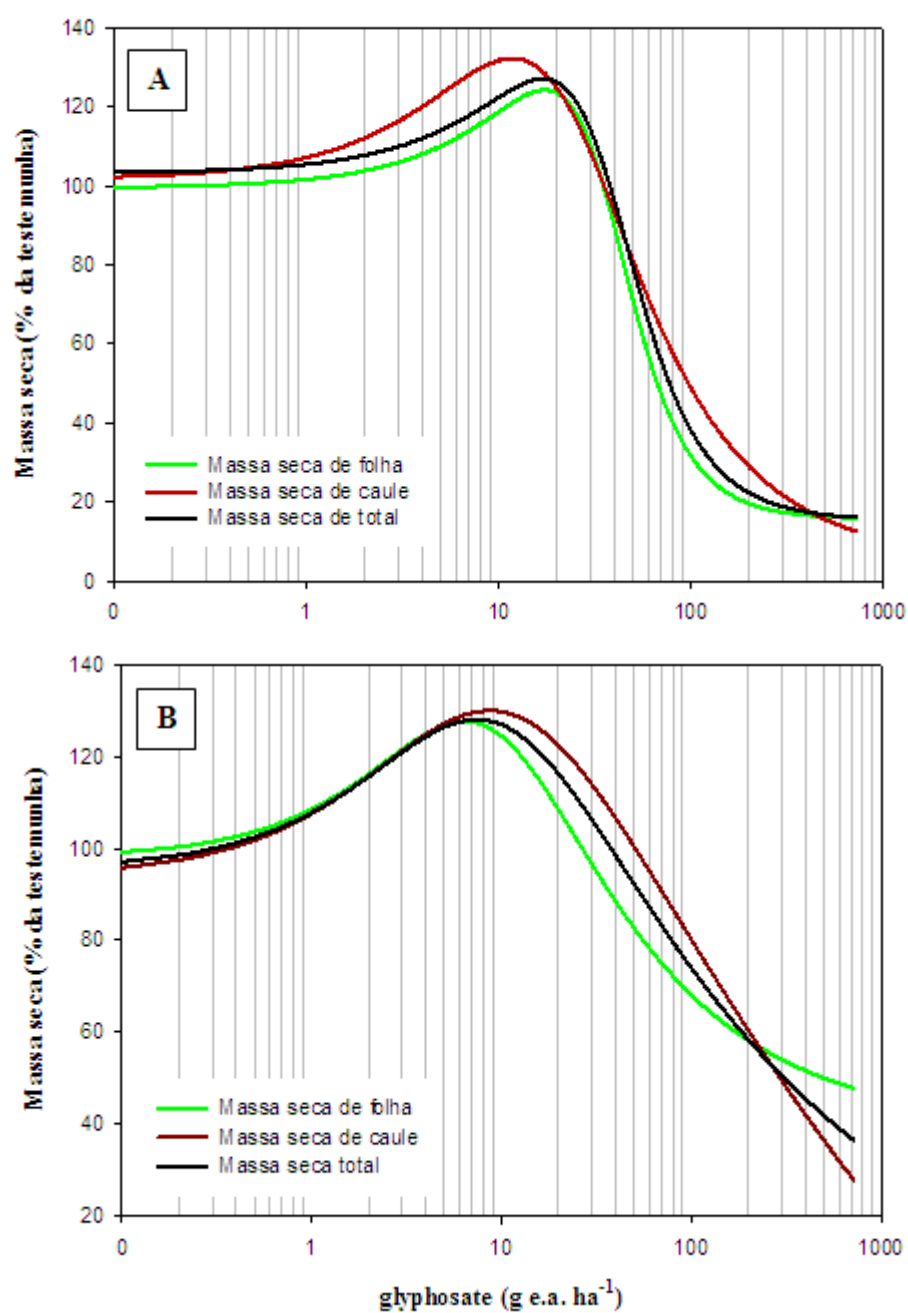


Figura 5. Massa da matéria seca de folha, caule e folha+caule de plantas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate (DAA) no experimento 1 (A) e aos 40 DAA no experimento 2 (B).

Tabela 2. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%) da massa seca de folha, caule e total de cana-de-açúcar aos 60 (experimento 1) e 40 (experimento 2) dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Massa seca (% da testemunha)					
	60 dias após a aplicação			40 dias após a aplicação		
	Folha	Caule	Total	Folha	Caule	Total
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1,8	114,51	135,41	122,95	112,05	101,32	105,7
3,6	115,42	130,46	121,29	121,34	119,44	119,25
7,2	132,4	150,75	139,87	135,93	156,76	145,93
18	117,03	120,23	118,13	103,09	108,43	105,44
36	98,2	121,23	107,34	100,61	108,75	104,59
72	39,3	58,28	47,05	64,17	89,59	77,49
180	18,48	23,34	20,42	70,01	73,83	71,83
360	18,35	21,77	19,67	50,81	38,67	44,05
720	16,63	17,43	16,89	43,59	22,96	31,92
Coeficiente de variação (%)	25,87	36,61	29,7	19,38	30,18	21,01
Valor de F:						
Tratamentos	28,62**	13,26**	20,92**	15,86**	9,81**	16,48**
Hipóteses $f \neq 0$	7,76**	4,95*	8,07**	11,04**	6,20*	11,48**
Regressão	63,40**	29,21**	46,49**	33,72**	19,84**	34,34**
Modelo	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1
R²	0,98	0,96	0,97	0,94	0,90	0,93
Constantes	g = -3,41 b = 2,48 k = 92,55 d = 13,72 f = 2,85	g = -2,69 b = 1,62 k = 111,40 d = -5,30 f = 12,38	g = -3,11 b = 1,98 k = 97,70 d = 8,63 f = 5,66	g = -2,21 b = 1,58 k = 59,89 d = 38,08 f = 12,80	g = -2,20 b = 1,14 k = 230,56 d = -136,69 f = 33,96	g = -2,17 b = 1,29 k = 107,25 d = -11,73 f = 19,59

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01,

De acordo com SILVA et al. (2009), o crescimento inicial rápido e uniforme da cultura permite atingir bom estande, possibilitando rápido fechamento da entrelinha com controle mais efetivo das plantas daninhas. Desta forma a cobertura do solo homogênea leva a um eficiente aproveitamento da energia luminosa pela planta. Em resultados obtidos por Silva et al. (2009) a aplicação de glyphosate no desenvolvimento inicial da cana-de-açúcar na dose de 1,8 g e.a. ha⁻¹, proporcionou maior perfilhamento, doses acima de 18 g e.a. ha⁻¹ ocorreram significativas reduções na altura do perfilho.

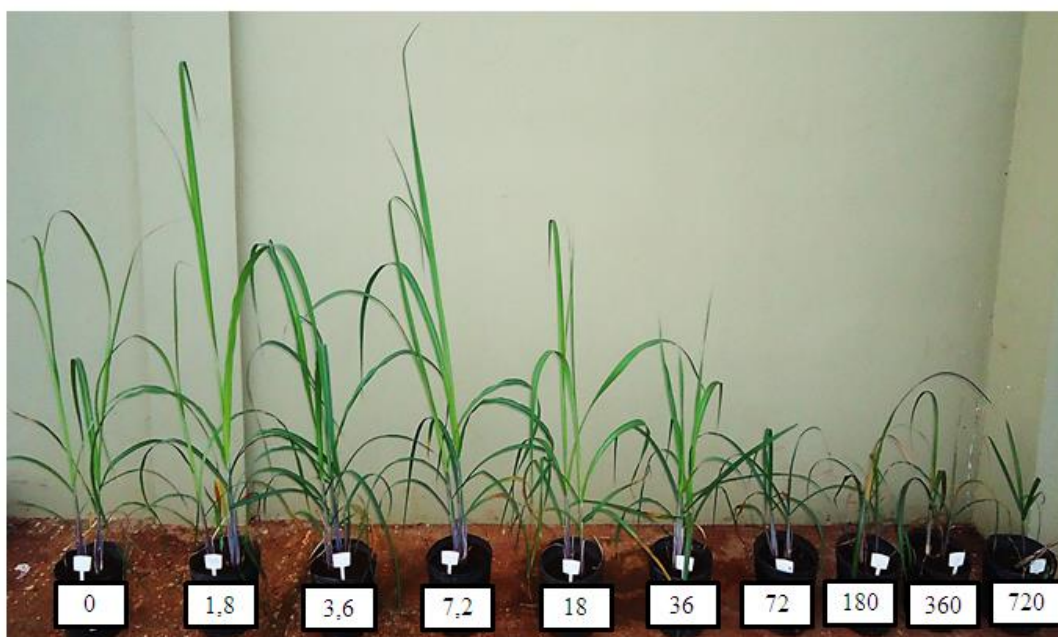


Figura 6. Detalhe do crescimento de plantas de cana-de-açúcar 35 dias após aplicação de glyphosate (Experimento 1).

Trabalhando com outras culturas Velini et al. (2008), verificaram o efeito hormesis em milho, soja, eucalipto e pinus a partir de 1,8 até 36 g do e.a. ha^{-1} . Para soja e milho, os autores verificaram incrementos máximos da matéria seca da parte aérea de 27,81% e 25,46% para as doses de 14,2 e 22,6 g e.a. ha^{-1} , respectivamente. Cedergreen (2008) testou em cevada, 10 a 15 doses de oito herbicidas e observou que glyphosate e metsulfuron-methyl estimularam o crescimento da biomassa em aproximadamente 25% quando aplicados em doses correspondentes a 5 até 10% da dose recomendada. Carvalho et al. (2013) verificaram que o estágio de aplicação de subdoses do glyphosate influenciou na ocorrência ou não de hormesis em plantas de café recém transplantadas, sendo que as plantas que receberam as subdoses mais tardiamente após o transplântio apresentaram hormesis.

Não foi detectado AMPA em nenhuma das concentrações de glyphosate utilizada (Tabela 3). Em doses variando de 1,8 a 36 g e.a ha^{-1} que foram responsável por promover estímulo de crescimento não foi detectado glyphosate em folhas de cana-de-açúcar (Figura 7). A partir de 72 g e.a ha^{-1} a concentração de glyphosate em folhas aumentou até a dose máxima utilizada de 720 g e.a ha^{-1} , apresentando uma concentração de glyphosate de 1,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 3).

A concentração de ácido chiquímico em folhas de cana-de-açúcar, em dose de 720 g e.a. ha⁻¹, aumentaram 61% em relação a testemunha (Figura 7). Esse fato está relacionado com o sítio de ação do glyphosate que a EPSPS (5- enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase) catalisa a reação na qual o chiquimato-3-fosfato (S3P) reage com fosfoenolpiruvato (PEP), formando 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato (EPSP) e fósforo inorgânico (Pi) . Desta forma ocorre o acúmulo de compostos como ácido chiquímico, quínico e desidrochiquímico (DING et al., 2007, PETERSEN et al., 2007; MATALLO et al., 2009 REDDY et al., 2010)

Níveis elevados de ácido chiquímico, detectados a partir de aplicações de glyphosate, foram observados em trigo (BRESNAHAN et al., 2003), algodão (PLINE et al., 2002), girassol, trigo e milho (HENRY et al. 2007), e *Conyza canadensis* (MUELLER et al., 2008). No entanto, Pline et al. (2002) e Velini et al. (2008) mostraram que plantas transgênicas resistentes ao glyphosate não acumulam grandes quantidades de ácido chiquímico após a aplicação do herbicida.

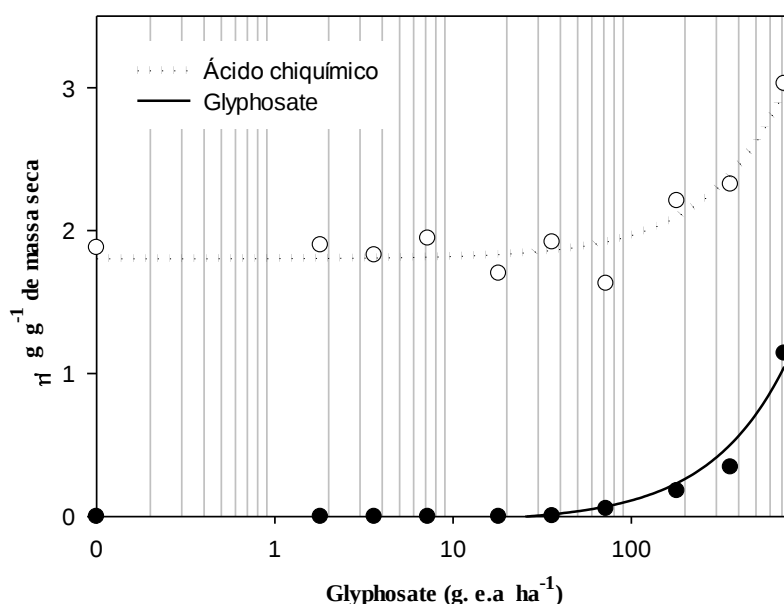


Figura 7. Concentração de glyphosate ($\mu\text{g g}^{-1}$) (A) e chiquimato-3-fosfato (B) na massa seca de folhas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 1).

Tabela 3. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para concentração de glyphosate, ácido chiquímico e AMPA em folhas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Concentração (µg g ⁻¹ de massa seca)		
	Glyphosate	Ácido chiquímico	AMPA
0	0,00	1,88	0,00
1,8	0,00	1,90	0,00
3,6	0,00	1,83	0,00
7,2	0,00	1,95	0,00
18	0,00	1,70	0,00
36	0,00	1,92	0,00
72	0,05	1,63	0,00
180	0,18	2,21	0,00
360	0,35	2,33	0,00
720	1,14	3,03	0,00
Coeficiente variação (%)	59,21	28,06	-
Valor de F:			
Tratamentos	49,42**	3,02*	-
Regressão	428,58**	16,24**	-
R²	0,964	0,894	-
Constantes	a = -0,0384	a = 1,8071	-
	b = 0,0015	b = 0,0016	-

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01,

O coeficiente de determinação ($R^2=0,97$) apresentou um bom ajuste para o modelo utilizado, sendo a dose responsável por promover maior incremento de FDA foi de 15,3 g e.a ha⁻¹ (Figura 8 A, Tabela 4). Na dose observada o ponto de máxima corresponde a 15,3% de FDA, esse valor representa um acréscimo de 12% em relação a testemunha. Os dados de percentual de lignina na matéria seca não se ajustaram no modelo de regressão, sendo apresentados graficamente com barra de erro (Figura 8 B). Em todas as doses de glyphosate analisadas que variaram de 1,8 a 180 g e.a ha⁻¹ houve incremento no percentual de lignina (Tabela 4). A dose 36 g e.a ha⁻¹ foi responsável por proporcionar incremento de 5,6% de lignina, valor que corresponde a um aumento de 89% em relação a testemunha.

A lignina em geral é formada por três diferentes alcoois de fenilpropanóide: coniferil, cumaril e sinapil, todos sintetizados a partir da fenilalanina mediante vários derivados do ácido cinâmico, sendo todos esses compostos produzidos pela rota do ácido chiquímico (TAIZ; ZEIGER, 2013). De forma geral, a aplicação do glyphosate que atua diretamente na rota do ácido chiquímico pode alterar o balanço de lignina e FDA em plantas. Trabalhando com aplicação de subdoses de glyphosate em *Brachiaria decumbens*, Meschede et al. (2011), observaram que os valores de lignina apresentaram reduções significativas, sendo que o pico de redução foi observado nas doses de 180 e 360 g e.a. ha⁻¹, onde o glyphosate reduziu mais de 40% os níveis de lignina em relação a testemunha.

A fração de fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos inclui celulose e lignina como componentes primários além de quantidades variáveis de cinza e compostos nitrogenados. À medida que a planta cresce e se desenvolve, as porções fibrosas aumentam, enquanto o teor protéico e a digestibilidade da fitomassa seca reduzem (VAN SOEST, 1994). Com a maturidade da planta, a concentração dos componentes digestíveis, como os carboidratos solúveis, proteínas, minerais e outros conteúdos celulares tende a decrescer, e a proporção de lignina, celulose, hemicelulose e outras frações indigestíveis aumentam (MINSON, 1990).

Segundo Taiz e Zeiger, (2013) a capacidade de sintetizar lignina deve ter sido uma das adaptações evolutivas mais importantes permitindo que as plantas colonizassem o ambiente terrestre. Os aumentos crescentes nos teores lignina podem influenciar no desempenho de crescimento da cana, na sua defesa contra estresse biótico e abiótico, e seu valor energético. A lignina é um fator limitante para a degradação da parede celular (JUNG; DEETZ, 1993).

Além de proporcionar sustentação mecânica a lignina apresenta funções protetoras importantes nos vegetais. Sua resistência física coíbe a herbivoria e sua estabilidade química torna relativamente indigerível. Por sua capacidade de ligação celulose e as proteínas a lignina também reduz a digestibilidade dessas substâncias. A lignificação bloqueia o crescimento de patógenos e é uma resposta frequentemente a infecção ou a lesão (TAIZ; ZEIGER, 2013).

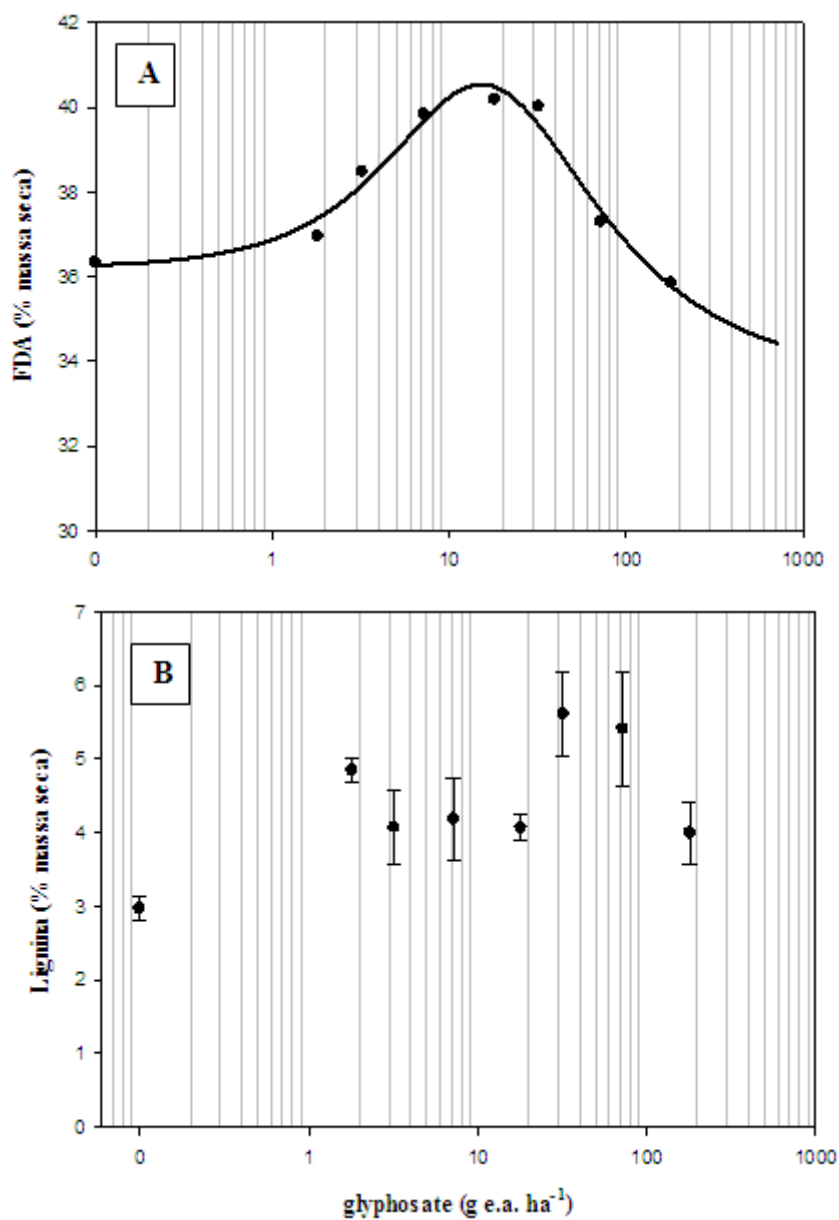


Figura 8. Percentual na matéria seca de fibra em detergente ácido (FDA) (A) e lignina (B) em plantas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 1).

Tabela 4. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em folhas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	% na massa seca	
	FDA	Lignina
0	36,35	2,97
1,8	36,95	4,85
3,6	38,48	4,07
7,2	39,85	4,19
18	40,19	4,07
36	40,03	5,61
72	37,30	5,41
180	35,85	4,00
Coeficiente de variação (%)	16,45	24,60
Valor de F:		
Tratamentos	2,63*	2,52*
Hipótese $f \neq 0$	9,69**	-
Regressão	3,41*	-
Modelo	Equação 1	-
R²	0,97	-
Constante	g = -2,77	-
	b = 1,68	-
	k = 2,67	-
	d = 33,55	-
	f = 0,71	-

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01.

Na avaliação realizada para taxa de assimilação de CO₂ (A) (fotossíntese), a curva de regressão apresentou ajuste de R²=0,97. A dose de glyphosate de 5,5 g e.a ha⁻¹ proporcionou um aumento na taxa de assimilação de CO₂ de 89,8% em relação a testemunha (Figura 9 A). Nesta dose, a taxa de assimilação de CO₂ chegou a níveis máximos de 18,4 μmol m⁻² s⁻¹ e de 9,6 μmol m⁻² s⁻¹ na testemunha aos 15 DAA (Tabela 5).

Machado et al. (2010), observaram estímulo na taxa de fotossíntese e na eficiência do uso da água em plantas de eucalipto submetidas à aplicação de subdoses de glyphosate aos 21 DAA, mas para as demais características fotossintéticas esse estímulo não foi verificado. Cedergreen e Olesen (2010) verificaram estímulo na fotossíntese em plantas de cevada quando expostas a subdoses de glyphosate sendo que esse efeito persistiu até a colheita.

Seguindo um comportamento similar ao observado para fotossíntese, a condutância estomática aumentou na dose de 3,4 g e.a ha⁻¹, sendo o ajuste da regressão de $R^2 = 0,84$ (Figura 9 B). O valor máximo da condutância estomática observada foi de 0,1057 mol m⁻² s⁻¹, esse valor corresponde ao aumento de 76,2% em relação a testemunha (Tabela 5). A capacidade de difusão do CO₂ através do mesófilo (*gm*), juntamente com a condutância estomática (*gs*) e a capacidade bioquímica (propriedades cinéticas e regulação das enzimas), são os fatores que mais limitam a fotossíntese (FLEXAS et al., 2012).

Para alta produtividade, é necessária alta condutância estomática, para permitir elevada fixação de CO₂ por unidade de área produzida (BLUM, 2009). Para maximizar o ganho de carbono, os estômatos respondem aos fatores ambientais, com o objetivo de atender às demandas da fotossíntese pelo CO₂. Entretanto, essas repostas são mais lentas que a fotossíntese, o que pode causar um desbalanço entre a condutância estomática e a assimilação de carbono. Assim, a taxa de assimilação fotossintética pode ser limitada pela baixa condutância estomática, restringindo a assimilação de CO₂, podendo essa limitação estomática representar até 20% em plantas C₃ (LAWSON; KRAMER; RAINES, 2012).

A curva de regressão para taxa de transpiração apresentou $R^2 = 0,83$, o que demonstra um bom ajuste para os dados (Figura 9 C). A taxa de transpiração teve incremento de 72,6% em relação a testemunha na dose de 2,2 g e.a ha⁻¹, obtendo o valor de 2,1 mmol m⁻² s⁻¹ (Tabela 5). Doses acima do ponto máximo diminuíram a taxa de transpiração chegando a níveis de redução de 70%.

Para aumentar à biomassa as plantas devem aumentar sua taxa de fotossíntese ou reduzir a sua taxa de transpiração em resposta aplicação de doses de glyphosate (CEDERDREEN; OLESEN, 2010). Dessa maneira o aumento da biomassa pode ocorrer em função do aumento da atividade fotossintética da planta. Segundo Cerdegreen et al. (2007), o aumento na biomassa de plantas expostas a subdoses de herbicida poderia ocorrer em resposta ao estímulo do sistema hormonal da planta.

Tabela 5. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em cana-de-açúcar aos 15 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Taxa de assimilação de CO ₂	Condutância estomática	Taxa de transpiração
0	9,698	0,067	1,255
1,8	16,454	0,099	1,986
3,6	18,244	0,137	2,624
7,2	18,145	0,086	1,708
18	14,590	0,080	1,530
36	14,506	0,101	2,048
72	11,110	0,061	1,254
180	4,826	0,035	0,731
360	3,501	0,033	0,735
720	2,836	0,019	0,371
Coeficiente de variação (%)	30,62	37,6	33,03
Valor de F:			
Tratamentos	8,76**	5,47**	6,57**
Hipótese $f \neq 0$	10,12**	4,58*	6,73*
Regressão	19,17**	10,30**	12,31**
Modelo	Model 1	Model 1	Model 1
R²	0,97	0,84	0,83
Constantes	g = -1,31	g = -0,51	g = -0,05
	b = 1,17	b = 1,05	b = 0,98
	k = 25,55	k = 0,42	k = -15,87
	d = -15,83	d = -0,35	d = 17,12
	f = 11,42	f = 0,30	f = -13,50

ns = not significant; *P < 0,05; **P < 0,01,

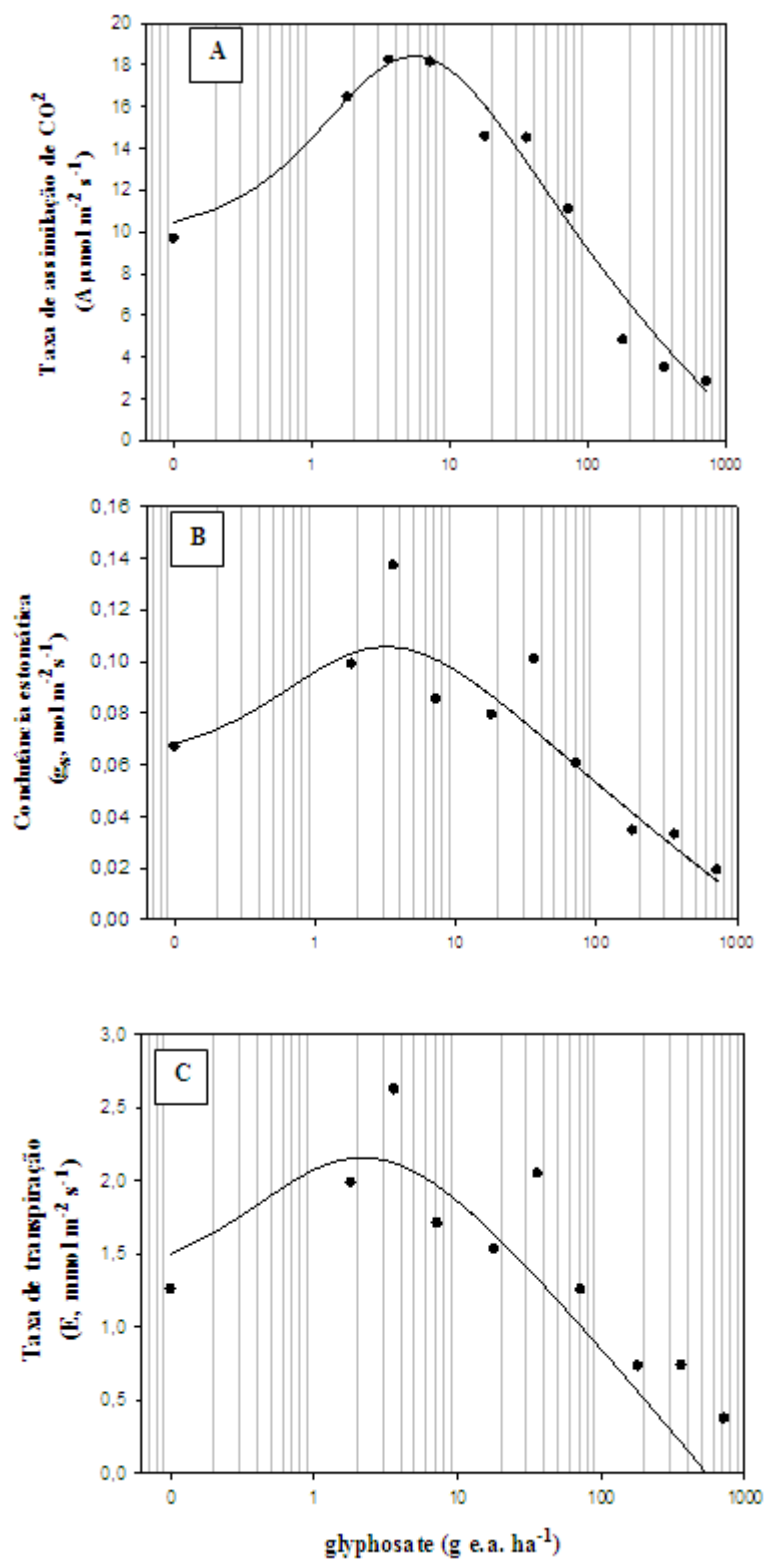


Figura 9. Taxa de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B) e taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (C) em folhas de cana-de-açúcar aos 15 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 2).

O conteúdo de clorofila *a*, *b*, e *a+b* avaliado aos 15 DAA (Figura.10 A) apresentou ajuste da regressão de $R^2 = 0,96, 0,91, 0,94$, respectivamente (Tabela 6). O conteúdo de clorofila *a* e *a+b* foram otimizados por doses de 10,4 (*a*) e 7,3 (*a+b*) g e.a ha⁻¹, apresentando aumento de 38,9 e 25,9 % em relação a testemunha. Doses acima dos valores citados reduziram o conteúdo de clorofila *a* e *a+b*. O conteúdo de clorofila *b* se manteve estável até a dose de 18 g e.a ha⁻¹, acima desse valor a clorofila *b* aumentou na dose de 140 g e.a ha⁻¹, sendo esse valor 25,9% maior em relação a testemunha. Aos 30 dias após a aplicação de glyphosate o conteúdo de clorofila *a*, *b*, *a+b* apresentou ajuste de $R^2 = 0,74, 0,96, 0,97$. As doses de glyphosate de 14,3; 9,7 e 12,8 g e.a ha⁻¹, proporcionaram incremento no conteúdo de clorofila *a*, *b* e *a+b* de 27,3, 23,8 e 26,1% em relação a testemunha, respectivamente (Figura 10 B, Tabela 5).

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, consequentemente, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é o conteúdo de clorofila e carotenoides (REGO; POSSAM, 2011). O conteúdo de clorofila nas folhas frequentemente é utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta com a absorção e transferência de energia luminosa. Uma planta com alta concentração de clorofila é capaz de atingir taxas fotossintéticas mais altas, pelo seu valor potencial de captação de “quanta” na unidade de tempo. Entretanto, nem sempre esta relação existe, pois a etapa bioquímica da fotossíntese pode limitar o processo (PORRA et al, 1989; CHAPPELLE; KIM, 1992).

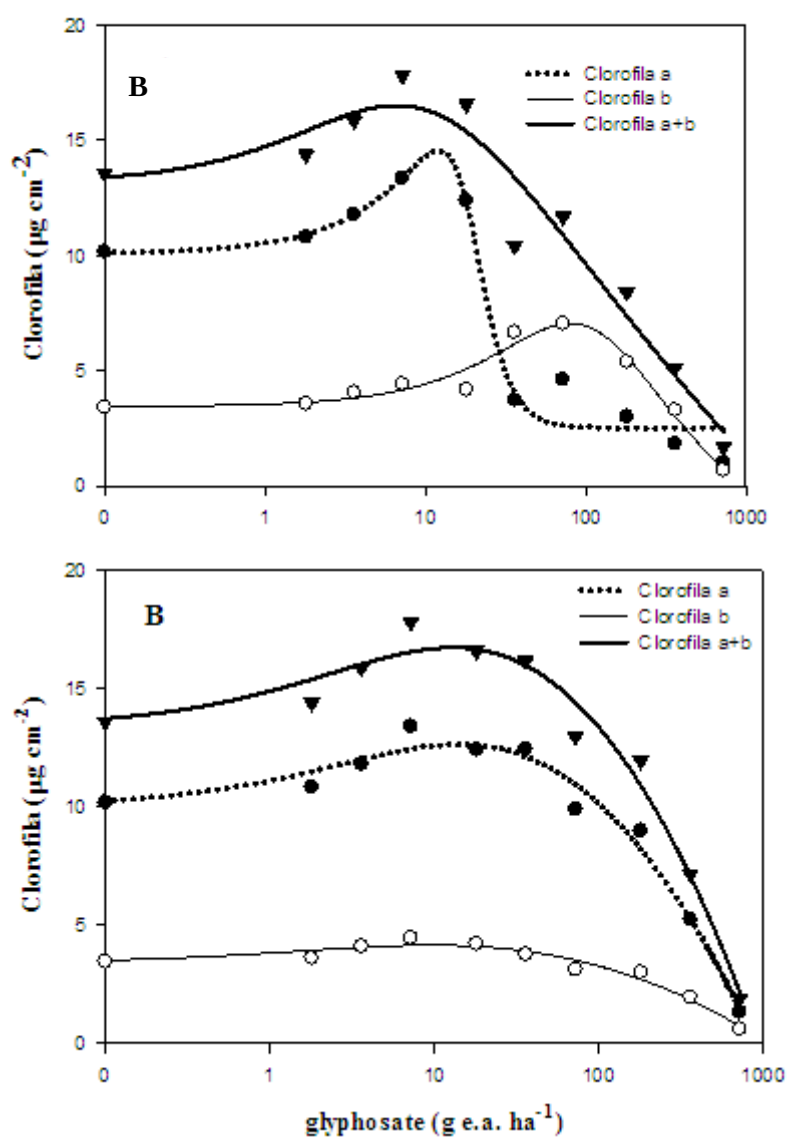


Figura 10. Conteúdo de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$) em folhas de cana-de-açúcar aos 15 (A) e 30 (B) dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 2).

Tabela 6. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (%), para clorofila *a*, *b* e *total* em folha de cana-de-açúcar aos 15 e 30 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Clorofila (<i>Chll</i>) em µg cm ⁻²					
	15 dias após a aplicação			30 dias após a aplicação		
	<i>Chll a</i>	<i>Chll b</i>	<i>Chll Total</i>	<i>Chll a</i>	<i>Chll b</i>	<i>Chll Total</i>
0	10,17	3,42	13,58	10,17	3,42	13,58
1,8	10,81	3,57	14,38	10,81	3,57	14,38
3,6	11,79	4,07	15,86	11,79	4,07	15,86
7,2	13,36	4,44	17,8	13,36	4,44	17,8
18	12,39	4,18	16,57	12,39	4,18	16,57
36	3,73	6,68	10,41	12,43	3,73	16,16
72	4,63	7,05	11,68	9,86	3,09	12,95
180	3,01	5,39	8,4	8,96	2,97	11,93
360	1,84	3,29	5,13	5,21	1,92	7,13
720	1,01	0,69	1,69	1,3	0,57	1,87
Coeficiente de variação (%)	21,16	22,31	19,66	19,34	22,37	19,36
Valor de F:						
Tratamentos	49,46**	18,21**	26,35**	20,07**	13,41**	19,42**
Hipótese $f \neq 0$	14,98**	195,44**	8,43**	7,83**	67,10**	7,40**
Regressão	107,39*	36,00**	55,70**	43,97**	28,91**	42,47**
Modelo	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1	Equação 1
R²	0,965	0,879	0,94	0,974	0,958	0,972
Constante	g = -2,98	g = -3,31	g = -2,16	g = -2,74	g = -2,02	g = -2,57
	b = 4,1	b = -6,36	b = 0,95	b = 0,72	b = 0,67	b = 0,7
	k = 7,54	k = 4,28	k = -83,89	k = -12,95	k = -2,76	k = -15,09
	d = 2,49	d = 3,88	d = 97,09	d = 22,89	d = 6,11	d = 28,37
	f = 0,49	f = -0,01	f = -8,89	f = -0,49	f = -0,16	f = -0,63

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01.

6.2. Eucalipto (Experimentos 3 e 4)

Para as curvas de regressão da massa de matéria seca de folha, caule e parte aérea de plantas de eucalipto obtidas no experimento 3 (Figura 11 A) apresentaram ajuste de $R^2 = 0,95$, $0,95$ e $0,96$, respectivamente (Tabela 7). As doses de glyphosate que promoveram maior crescimento foram de 11,5, 16,1 e 13,5 g e.a ha⁻¹, para massa seca de folha, caule e folha+caule, respectivamente. Os valores apresentados correspondem a um aumento médio de 15,2% para folha, 14,7% para caule e 15,5% para folha+caule em relação a testemunha. Doses acima dos valores citados diminuíram a massa seca da parte aérea, evidenciando o efeito herbicida do glyphosate (Figura 12).

Nos resultados apresentados para o experimento 4 (Figura 11 B) os dados para massa de matéria seca de folha, caule e folha+caule apresentaram ajuste de $R^2 = 0,92$, $0,91$ e $0,87$, respectivamente (Tabela 7). A dose de glyphosate responsável por promover hormesis foi de 8,9 (folha), 6,1 (caule) e 6,3 (folha+caule) g e.a ha⁻¹, que corresponderam ao incremento de 32,8%, 21,1% e 0,87%, em relação a testemunha.

O crescimento inicial observado após a aplicação de glyphosate pode proporcionar vantagens ao longo do ciclo, uma vez que plantas maiores podem fechar o solo mais rápido, limitando o crescimento de plantas daninhas. No entanto, não se sabe de forma prática quanto tempo esse crescimento inicial é sustentado e pode diferir de plantas de eucalipto não tratadas com glyphosate. Em estudos com cevada em casa de vegetação Cerdergreen (2008) observou hormesis na primeira semana após a pulverização de glyphosate em doses menores que 63 g e.a. ha⁻¹. O autor relata que o aumento inicial do crescimento foi suficiente para manter as plantas tratadas maiores por até seis semanas após aplicação.

Segundo Velini et al. (2008) a aplicação de baixas doses de glyphosate variando de 1,9 a 3,7 g e.a ha⁻¹ promoveram estímulos de crescimento em plantas de eucalipto. Segundo os mesmos autores para raízes, o peso seco máximo foi duas vezes maior que da testemunha. Trabalhando com *Eucaliptus grandis* Carbonari et al. (2007) constataram que as doses entre 3,6 e 7,2 g e.a. ha⁻¹ promoveram maior acúmulo de biomassa da parte aérea, raízes e maior número de ramos laterais.

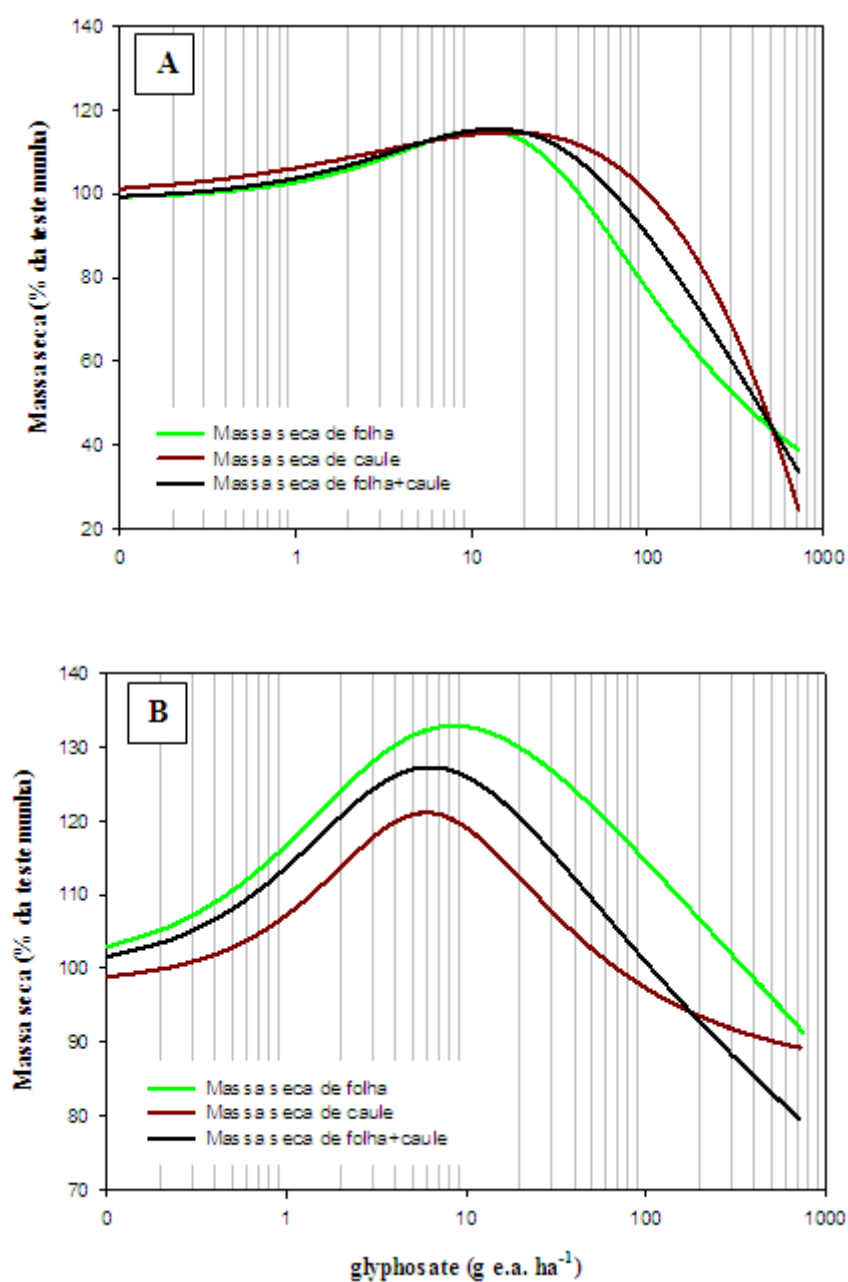


Figura 11. Massa da matéria seca de folha, caule e parte aérea de plantas de eucalipto 60 dias após a aplicação de glyphosate (DAA) no experimento 3 (A) e aos 40 DAA no experimento 4 (B).

Tabela 7. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%) na massa seca de folha, caule e total de eucalipto aos 60 (experimento 3) e 40 (experimento 4) dias após a aplicação do glyphosate

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Massa seca (% da testemunha)					
	60 dias após a aplicação			40 dias após a aplicação		
	Folha	Caule	Total	Folha	Caule	Total
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1,8	98,16	100,44	98,59	123,16	101,89	114,1
3,6	117,43	118,15	117,11	143,35	135,99	139,23
7,2	114,58	119,04	115,58	121,26	109,55	115,56
18	107,46	113,1	109,29	129,63	117,02	123,57
36	110,77	113,07	111,32	124,06	106,79	115,99
72	81,26	110,48	92,98	110,56	101,78	105,91
180	69,53	102,93	82,62	85,83	87,18	86,22
360	42,89	69,77	53,62	80,07	94,86	86,32
720	42,31	46,85	43,97	73,45	88,86	79,1
Coeficiente de variação (%)	25,18	15,98	19,81	23,56	25,58	22,62
Valor de F:						
Tratamentos	8,09**	10,76**	9,65**	4,12**	1,44 ^{ns}	3,06**
Hipóteses $f \neq 0$	4,99*	0,19 ^{ns}	4,58*	4,64*	2,06 ^{ns}	5,45**
Regressão	17,63**	31,40**	20,90**	8,56**	2,22 ^{ns}	6,22**
Modelo	Equação 1	Equação 2	Equação 1	Equação 1	Equação 2	Equação 1
R²	0,955	0,973	0,962	0,923	0,671	0,903
Constantes	g = -3,10	g = -5,79	g = -3,90	g = -1,20	g = -4,21	g = -1,39
	b = 1,34	b = 4,88	b = 0,98	b = 1,03	b = -3,12	b = 1,16
	k = 98,20	k = 61,21	k = -920,30	k = 585,3	k = -22,35	k = 81,30
	d = 0,69	d = 43,51	d = 1018,80	d = -485,20	d = 112,6	d = 18,47
	f = 5,62		f = -40,86	f = 195,50		f = 33,78

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01,

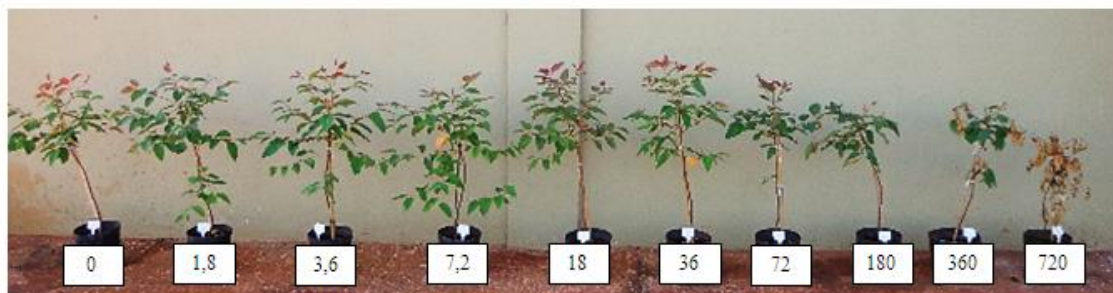


Figura 12. Detalhe do crescimento de plantas de eucalipto aos 60 dias após aplicação de doses de glyphosate em g e.a ha⁻¹ (Experimento 3).

Não foi detectado glyphosate em doses de 1,8 a 7,2 g e.a ha⁻¹, em folhas de eucalipto (Figura 13 A). Esse fato pode estar ligado à baixa concentração do herbicida utilizado e a capacidade da planta em metabolizar o glyphosate. A partir da dose de 18 g e.a ha⁻¹ os níveis de glyphosate nas folhas, aumentou até a dose máxima utilizada de 720 g e.a ha⁻¹, apresentando concentração de glyphosate de 17,22 µg g⁻¹ (Tabela 8)

Os níveis de ácido chiquímico em folhas de eucalipto aumentaram em função da adição de glyphosate (Figura 13 B). Em doses de 720 g e.a ha⁻¹, os níveis de ácido chiquímico aumentaram 3,5 vezes em relação a testemunha, chegando a 50,6 µg g⁻¹ (Tabela 8).

Segundo Carbonari et al. (2011), os elevados níveis de ácido chiquímico são utilizados como um indicador precoce e altamente sensível dos efeitos do glyphosate nos tecidos das plantas. Anderson et al. (2001) relata que o acúmulo de ácido chiquímico está diretamente relacionado às concentrações de glyphosate. Sharma (2013) estudando o efeito do glyphosate em *Camellia sinensis*, verificou que este promoveu acúmulo no teor de ácido chiquímico após sua aplicação, e este incremento foi proporcional ao aumento das doses aplicadas (0, 0,5, 1,0 e 2,0 kg ha⁻¹).

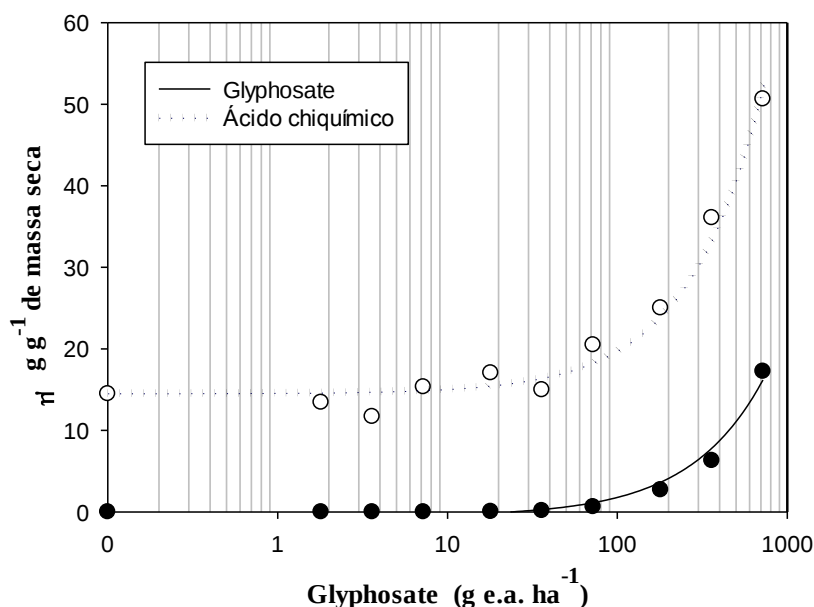


Figura 13. Concentração de glyphosate ($\mu\text{g g}^{-1}$) (A) e ácido chiquímico (B) na massa seca de folhas de eucalipto aos 60 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 3).

Tabela 8. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para concentração de glyphosate, ácido chiquímico e AMPA em folhas de eucalipto aos 60 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a. ha ⁻¹)	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$ de massa seca)		
	Glyphosate	Ácido chiquímico	AMPA
0	0,00	14,5	0,00
1,8	0,00	13,4	0,00
3,6	0,00	11,7	0,00
7,2	0,00	15,3	0,00
18	0,05	17,0	0,00
36	0,15	15,0	0,00
72	0,62	20,5	0,00
180	2,71	25,0	0,03
360	6,30	36,1	0,03
720	17,22	50,6	0,16
Coeficiente variação (%)	58,86	39,97	92,93
Valor de F:			
Tratamentos	47,50**	8,03**	19,11**
Regressão	418,90**	70,64**	159,11**
R²	0,98	0,978	0,925
Constantes	a = -0,5453	a = 14,5657	a = -0,0063
	b = 0,0232	b = 0,0525	b = 0,0002

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01.

Nos resultados apresentados para a concentração de FDA e lignina, na matéria seca, não houve estímulo em baixas doses (Figura 14). A curva de regressão do modelo utilizado apresentou ajuste de $R^2 = 0,84$ (FDA) e $0,80$ (lignina) (Tabela 9). Na aplicação da dose de $180 \text{ g e.a ha}^{-1}$, houve redução de $32,7\%$ nos níveis de FDA e $22,7\%$ nos níveis de lignina, em relação a testemunha.

A lignina é uma estrutura complexa e abundante, com aproximadamente 30% do carbono da biosfera (FENGEL; WEGENER, 1989), presentes na maioria das plantas, mas com estrutura básica diferente entre espécies vegetais. Atualmente, o principal uso da madeira de eucalipto no Brasil está na indústria de celulose e papel. O composto é um constituinte da parede celular, e é concentrada principalmente nos espaços entre as células (lamela media), onde é depositada durante a lignificação do tecido (TAIZ; ZEIGER, 2013). A lignina de madeira é predominantemente aromática e quase totalmente insolúvel em solventes orgânicos comuns é desprovida de estrutura regular, característica de polímeros naturais.

Na fabricação do papel, o processo de polpação constitui-se em uma etapa intermediária e bastante onerosa, que visa à separação das fibras celulósicas dos demais componentes da madeira. Entre estes componentes indesejáveis encontra-se, principalmente, a lignina (GOMIDE et al. 2010). Portanto, pequenas reduções no teor de lignina da madeira representariam grandes economias às indústrias papeleiras, bem como, ganhos em rendimento (FOELKEL, 2009).

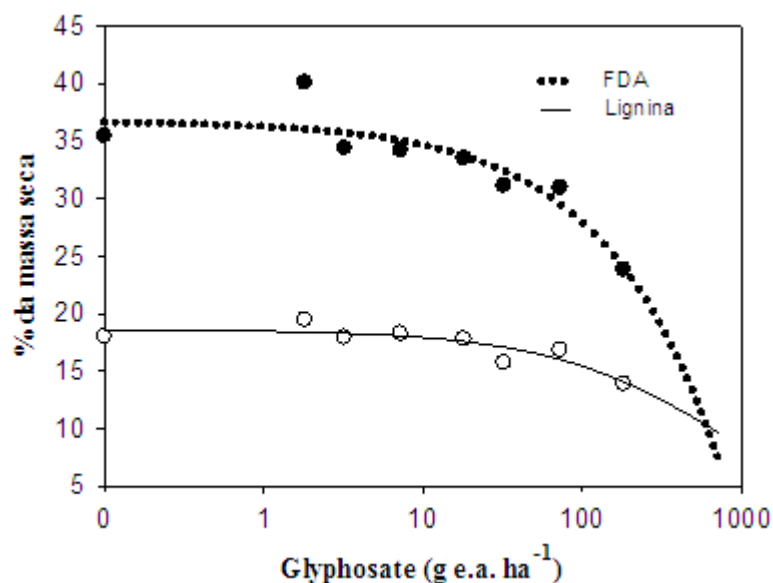


Figura 14. Fibra em detergente ácido (FDA) (A) e % lignina na matéria seca (B) em plantas de eucalipto aos 60 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 3).

Tabela 9. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em folhas de cana-de-açúcar aos 60 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a. ha ⁻¹)	% na massa seca	
	<i>FDA</i>	<i>Lignina</i>
0	35,48	18,02
1,8	36,35	19,46
3,6	34,41	17,96
7,2	34,21	18,27
18	33,53	17,81
36	31,15	15,74
72	30,96	16,85
180	23,86	13,92
Coeficiente de variação (%)	7,45	9,93
Valor de F:		
Tratamentos	10,75**	4,06**
Hipótese $f \neq 0$	2,73ns	1,36ns
Regressão	19,58**	7,56**
Modelo	Equação 2	Equação 2
R²	0,781	-
Constante	g = -11,36 b = -0,63 k = -634,0 d = 36,78	g = -6,93 b = 0,73 k = 20,66 d = -2,07

ns = não significativo; *P < 0,05; **P < 0,01.

A taxa de assimilação de CO₂ foi estimulada por baixas doses de glyphosate variando de 1,8 a 18 g e.a ha⁻¹. (Figura 15 A). Na dose correspondente de 9,4 g e.a ha⁻¹ o aumento foi de 82,9% em relação a testemunha, atingindo níveis máximos de 4,15 µmol m⁻² s⁻¹ (Tabela 10). Praticamente toda matéria orgânica acumulada numa planta durante seu crescimento tem origem no processo fotossintético de fixação de carbono atmosférico, o qual representa ao redor de 95% de toda sua fitomassa seca. Assim, qualquer fator ambiental que afetar a fotossíntese afetará o crescimento e acúmulo de fitomassa. Dixon et al. (1990) salienta que a fotossíntese pode ser utilizada como ferramenta para seleção de condições de crescimento apropriadas para diferentes espécies, por ser um dos processos fisiológicos fundamentais na modelagem de aspectos de crescimento da árvore.

Os processos que acarretam no aumento na atividade fotossintética de plantas submetidas a aplicação de subdoses de glyphosate não são claramente conhecidos. Segundo Cedergreen e Olesen (2010), as alterações na taxa de fixação de carbono, teor de ácido chiquímico e na translocação de carboidratos podem influenciar na ocorrência desses fenômenos. De certa maneira todos os processos acarretariam em maior eficiência na fixação de carbono pelo ciclo de Calvin-Benson estimulando o processo fotossintético. O mecanismo causador de incrementos no crescimento de plantas após aplicação de subdoses de herbicidas ainda é desconhecido, mas em trabalho conduzido por Cedergreen e Olesen (2010), estes observaram que baixas doses de glyphosate podem estimular a fotossíntese.

A condutância estomática avaliada aos 15 DAA em folhas de eucalipto, apresentou aumento em função da aplicação de baixas doses de glyphosate (Figura 15 B). Na dose referente de 8,1 g e.a ha⁻¹ a condutância estomática chegou a níveis de 0,1592 mol m⁻² s⁻¹, correspondendo ao acréscimo de 34,4% em relação a testemunha (Tabela 10) Seguindo a mesma tendência, a taxa de transpiração observada, proporcionou aumento em função da aplicação de glyphosate (Figura 15 C). Os valores máximos observados para a dose de 8,7 g e.a ha⁻¹ foram de 2,70 mmol m⁻² s⁻¹, que corresponde 47,1% maior em relação a testemunha (Tabela 10).

Nas plantas superiores, o movimento estomático é o principal mecanismo de controle das trocas gasosas, pois através dos estômatos ocorre o influxo de CO₂ e efluxo de água (NOBEL, 1991; BAESSO, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2013). O controle das trocas gasosas é considerado um processo complexo, pois, as plantas enfrentam certo dilema relacionados a abertura e fechamento de estômatos, diminuindo sensivelmente a atividade de assimilação de carbono (PIMENTEL, 1998). Desta forma as plantas necessitam abrir os estômatos para a entrada do CO₂ e também fechá-los para evitar a perda de água, porém a tendência é favorecer a assimilação fotossintética (ANGELOCCI, 2002).

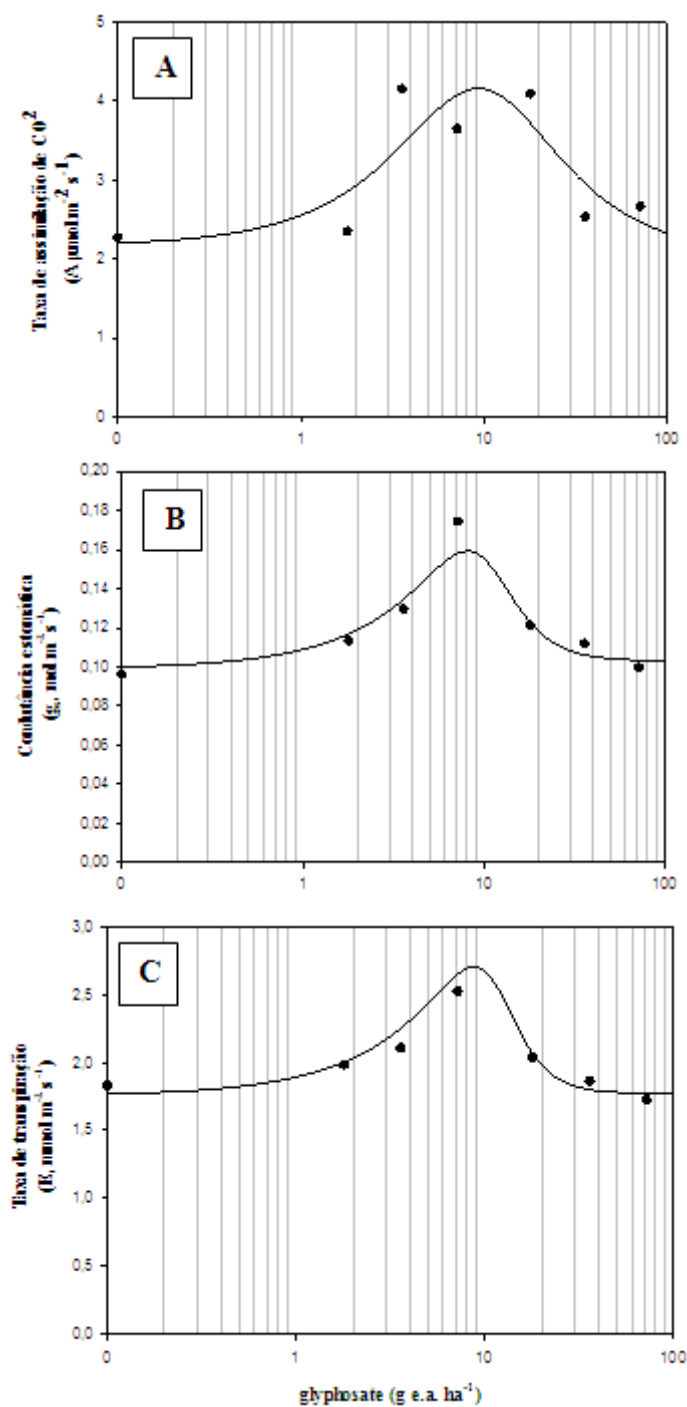


Figura 15. Taxa de assimilação de CO_2 ($A, \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (A), condutância estomática ($g_s, \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B) e taxa de transpiração ($E, \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (C) em folhas de eucalipto aos 15 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 4).

Tabela 10. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (CV%), para taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em eucalipto aos 15 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Taxa de assimilação de CO ₂	Condutancia estomatica	Taxa de transpiração
0	2,266	0,096	1,628
1,8	2,344	0,113	1,779
3,6	4,145	0,129	2,102
7,2	3,643	0,174	2,751
18	4,085	0,121	2,031
36	2,528	0,112	1,858
72	2,662	0,099	1,722
Coeficiente de variação (%)	20,63	30,75	17,62
Valor de F:			
Tratamentos	5,08**	3,33*	3,52*
Hipotese $f \neq 0$	14,97**	7,10*	10,24**
Regressão	5,22**	4,91*	5,20**
Modelo	Equação 1	Equação 1	Equação 1
R²	0,685	0,984	0,986
Constantes	$g = -2,33$	$g = -0,60$	$g = -2,44$
	$b = 2,15$	$b = 1,02$	$b = 4,52$
	$k = 0,13$	$k = 1,01$	$k = -0,18$
	$d = 2,03$	$d = -0,92$	$d = 1,77$
	$f = 0,40$	$f = 0,61$	$f = 0,14$

ns = not significant; *P < 0,05; **P < 0,01.

Em avaliações realizadas aos 15 DAA os tratamentos não afetaram o conteúdo de clorofila *a*, *b*, *a+b* (Figura 16 A, B, C). Aos 30 DAA o conteúdo de clorofila *a*, aumentou na dose de 1,8 g e.a ha⁻¹, proporcionando incremento de 16,6% em relação ao testemunha (Figura 16 D). Da mesma forma, o conteúdo de clorofila *b* e *a+b* foram ampliados pela dose de 1,8 g e.a ha⁻¹, proporcionando acréscimo de 44% e 25% em relação a testemunha (Figura 16 E,F). No entanto, quando se compara os valores do conteúdo de clorofila *a*, *b*, *a+b* na dose de 1,8 g e.a ha⁻¹ com as demais doses aplicadas não se observa diferenças significativas (Tabela 11).

A clorofila é um componente essencial para a fotossíntese, pois absorve a energia da luz e a direciona para os fotossistemas, sendo que a absorção de luz ocorre, principalmente, nas regiões vermelho e azul do espectro luminoso; logo, o aumento na concentração desse pigmento pode aumentar a eficiência fotossintética das plantas (HÖRTENSTEINER; KRÄUTLER, 2011). Entretanto, nem sempre esta relação existe, pois a etapa bioquímica da fotossíntese pode limitar o processo (PORRA et al,1989).

Tabela 11. Média, parâmetros da equação de regressão, valor de F, coeficiente de variação (%), para clorofila *a*, *b* e *total* em folha de eucalipto aos 15 e 30 dias após a aplicação de glyphosate.

Dose de glyphosate (g e.a ha ⁻¹)	Clorofila (<i>Chll</i>) em µg cm ⁻²					
	15 dias após a aplicação			30 dias após a aplicação		
	<i>Chll a</i>	<i>Chll b</i>	<i>Chll Total</i>	<i>Chll a</i>	<i>Chll b</i>	<i>Chll Total</i>
0	5,98	2,21	8,19	7,22	3,53	10,75
1,8	5,62	2,34	7,95	8,39	5,08	13,46
3,6	5,22	2,95	8,17	5,61	3,27	8,88
7,2	5,52	2,07	7,60	7,59	3,84	11,43
18	5,99	2,74	8,73	7,17	4,05	11,21
36	4,59	1,77	6,36	6,93	4,69	11,63
72	6,09	3,79	9,88	7,22	4,16	11,37
Coeficiente de variação (%)	28,31	60,15	34,12	30,12	60,60	39,41
Valor de F:						
Tratamento	0,57 ^{ns}	0,97 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,46 ^{ns}

ns = not significant; *P < 0,05; **P < 0,01.

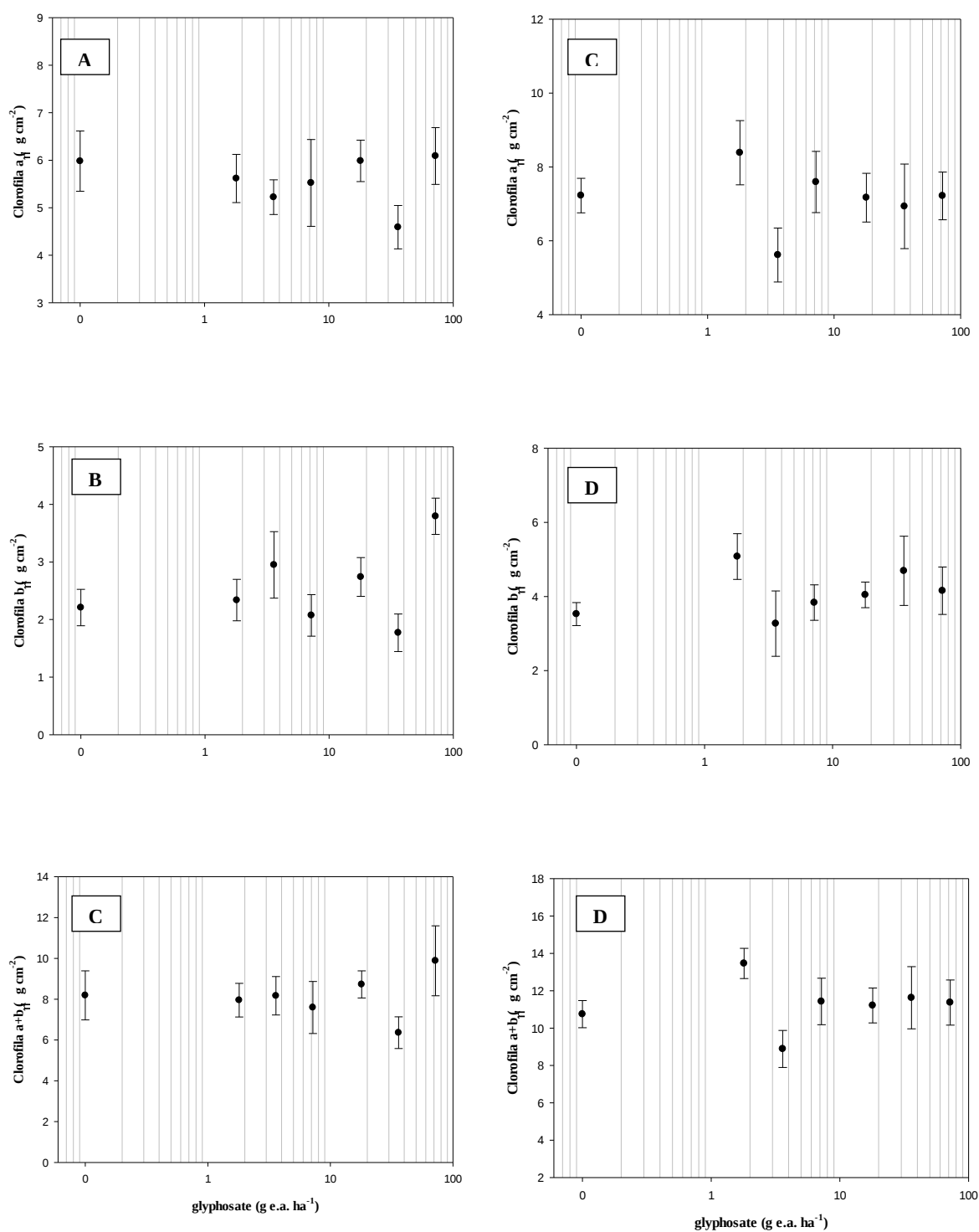


Figura 16. Conteúdo de clorofila *a* ($\mu\text{g cm}^{-2}$) (A), clorofila *b* (B), clorofila *a+b* (C) aos 15 DAA e clorofila *a* ($\mu\text{g cm}^{-2}$) (D), clorofila *b* (E), clorofila *a+b* (F) aos 30 DAA em folhas de eucalipto aos 30 dias após a aplicação de glyphosate (Experimento 4).

7. CONCLUSÕES

O presente trabalho pode concluir que a aplicação de glyphosate em baixas doses promoveu incrementos de massa seca de folha, caule e caule+folha em plantas de cana-de-açúcar e eucalipto.

O glyphosate só foi detectado na biomassa das plantas quando apurado em doses acima de 72 g e.a ha^{-1} , em folhas de cana-de-açúcar e eucalipto. A partir dessa dose até as maiores doses de glyphosate aplicado, os níveis de ácido chiquímico aumentaram.

Os níveis de FDA e lignina em cana-de-açúcar aumentaram em função da aplicação de glyphosate. Em folhas de eucalipto os níveis de FDA e lignina permaneceram estáveis em baixas doses ($1,8$ a 18 g e.a ha^{-1}) diminuindo em função de maiores doses.

As trocas gasosas e o conteúdo de clorofila a , b , $a+b$, em folhas de cana-de-açúcar e eucalipto foram elevadas por baixas doses de glyphosate.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF. Associação Brasileira de Produtos de Florestas Plantadas. **Anuário estatístico:** ano base 2015. Brasília, 2015. 120 p.

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

ALDESUQUY, H. S.; IBRAGHIM, H. A. H. A. The role of shikimic acid in regulation of growth, transpiration, pigmentation, photosynthetic activity and productivity of *Vigna sinensis* plants, *Phyton-Ann. Rei Botanicae* 40 (2000) 277–292. A. Cobb, Auxin-type herbicides, in: *Herbicides Plant Physiology*, T.J. Press, Cornwall, 1992, pp. 82–125.

AMRHEIN, N. et al. The Site of the Inhibition of the Shikimate Pathway by Glyphosate. **Plant Physiol.** Vol. 66, 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*, Philadelphia, v.32, n.17-18, p.2831-2840, 2001.

ANGELOCCI, L. R. Água na planta e trocas gasosas/energéticas com a atmosfera: introdução ao tratamento biofísico. Piracicaba: Edição do autor. 2002. 272 p.

ARALDI, R. et al. Florescimento em cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.694-702, 2010.

AUDE, M.I.S. Estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar e suas relações com a produtividade. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.23, n.2, p.241-248, 1993.

BAESSO, R. C. E. Efeito do CO₂ na eficiência quântica do eucalipto e sua utilização na modelagem de seu crescimento pelo 3-PG. Tese (Doctor Scientiae), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.

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

BENNETT, P.G.; MONTES, G. Effect of glyphosate formulation on sugarcane ripening. **Sugar Journal** v.66, n.1, p.22, 2003.

BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field Crops Research**, v. 112, n. 2–3, p. 119 123, 2009.

BOERBOOM, C. M.; WYSE, D. L. Influence of glyphosate concentration on glyphosate absorption and translocation in Canada thistle (*Cirsium arvense*). **Weed Science**, p. 291-295, 1988.

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

BRESNAHAN, G. A.; BRESNAHAN, G. A.; MANTHEY, F. A.; HOWATT, K. A.; CHAKRABORTY, M. Glyphosate applied preharvest induces shikimic acid accumulation in hard red spring wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 14, p. 4004-4007, 2003.

BUKOWSKI, J.A.; LEWIS, R.J. Hormesis and health: A little of what you fancy may be good for you. **Southern Medical Journal**, v. 93, p. 371-374, 2000.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Toxicology rethinks its central belief. **Nature**, v. 421, n. 6924, p. 691-692, 2003.

CALABRESE, E.J. Historical blunders: how toxicology got the dose-response relationship half right. **Cellular and Molecular Biology**. v.51, p.643–654, 2005.

CALABRESE, E.J.; BALDWIN, L.A. History of chemical hormesis. **Human and Experimental Toxicology**, v. 19, p. 2-31, 2000.

CALABRESE, E.J.; BALDWIN, L.A. Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. **Trends in Pharmacological Science**, v.22, p.285-291, 2001.

CARBONARI, C. A., et al. Glyphosate Effects on Sugarcane Metabolism and Growth. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 24, p. 3585, 2014.

CARBONARI, C.A.; MESCHEDÉ, D.K.; VELINI, E.D. Efeitos da aplicação de glyphosate no crescimento inicial de mudas de eucalipto submetidas a dois níveis de adubação fosfatada. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, 1., 2007, Botucatu, SP. Anais... Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, v.1. 342p. p.68-70, 2007.

CARVALHO, H.G., OLIVEIRA, R.C., GOMIDE, J.L., COLODETTE, J.L. Efeito da idade de corte da madeira e de variáveis de refino nas propriedades da celulose kraft branqueada de eucalipto. In: CONGRESSO ANUAL DE CELULOSE E PAPEL DA ABTCP, 31., São Paulo, 1998. **Anais São Paulo: ABTCP**, P.367-381. 1998.

CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arábica* e resposta destas espécies ao glyphosate**. Tese (Doutorado em Agronomia /Produção Vegetal) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

CARVALHO, L.B.; ALVES, P.L.C.A.; DUKE, S.O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **An Acad Bras Cienc.**, v.85, n.2, p.813-821, 2013.

CASTRO, P.R.C.; MESCHEDE, D.K. Glyphosate: uso como maturador em cana de açúcar. In: VELINI, E.D. et al., (Org.). **Glyphosate**. 1 ed. Botucatu: FEPAF, v.1, n.429-459, 2009.

CASTRO, P.R.C.; ZAMBON, S.; SANSÍGOLO, M.A.; BELTRAME, J.A.; NOGUEIRA, M.C.S. Ação comparada de Ethrel, Fuzilade e Roundup, em duas épocas de aplicação, na maturação e produtividade da cana-de-açúcar “SP 70-1143”. **Revista de Agricultura**, v.77, p.23-38, 2002.

CATANEO, A. C. et al. Atividade de glutathione s-transferase na degradação do herbicida glyphosate em plantas de milho (*Zea mays*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 307-312, 2003.

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

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

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

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): na algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sensing of Environment*, New York, v. 39, p. 239-247, 1992.

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

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

DING, L. et al. Functional analysis of the essential bifunctional tobacco enzyme 3 dehydroquinate dehydratase / shikimate dehydrogenase in transgenic tobacco plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 8, p. 2053-2067, 2007.

DIXON, R. K.; MELDAHL, R. K.; RUARK, G. A.; WARREN, W. G. Process modeling of forest growth responses to environmental stress. Portland: Timber Press, 1990.

DUKE, S.O.; CEDERGREEN, N.; VELINI, E.D.; BELZ, R.G. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? **Outlooks Pest. Manag.**, v. 17, p. 29-33, 2006.

FEINENDEGEN, L. E. Low doses of ionizing radiation: relationship between biological benefit and damage induction. A synopsis. 2005.

FENGEL, D. E.; WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Water de Gruyter, 1989. 613p.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. **Plant Science**, v. 193–194, p. 70-84, 2012.

FOELKEL, C. Propriedades papeleras das árvores, madeiras e fibras celulósicas dos eucaliptos. **Grau Celsius**, 2009.

FRANÇA, A.C. **Ação do glyphosate sobre o crescimento e teores de nutrientes em cultivares de café arábica**. 57p. 2009. Tese (Doutorado em Fitotecnia) –Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2009.

GEIGER, D.R.; FUCHS, M.A. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: BOGER, P.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. (Eds.). **Herbicide classes in development**. Berlin: Springer-Verlag, p.59-85, 2002

GOMES, G. L. G. C., CARBONARI, C. A., VELINI, E. D., TRINDADE, M. L. B., SILVA, J. R. M.. Extraction and simultaneous determination of glyphosate, ampa and compounds of the shikimic acid pathway in plants. **Planta Daninha**, v. 33, n. 2, p. 295-304, 2015.

GOMIDE, J. L.; FANTUZZI NETO, H.; REGAZZI, A. J.; Análise de critérios de qualidade da madeira de eucalipto para produção de celulose Kraft. **Revista Árvore**, v. 34, n. 2, p. 339-344, 2010.

GOUGLER, J. A.; GEIGER, D. R. Carbon partitioning and herbicide transport in glyphosate-treated sugarbeet (*Beta vulgaris*). **Weed Science**, p. 546-551, 1984.

GRUYS, K.J.; SIKORSKI, J.A. **Inhibitor of tryptophan, phenilalamine and tyrosine biosynthesis as herbicides**, Dekker: New York, 1999.

GUPTA, V. et al. The water-deficit stress-and red-rot-related genes in sugarcane. **Functional Integrative Genomics**, v.10, n.2, p.207-214, 2010.

HENRY, B. W.; SHANER, D. L.; WEST, M. S. Shikimate accumulation in sunflower, wheat, and proso millet after glyphosate application. **Weed science**, v. 55, n. 1, p. 1-5, 2007.

HÖRTENSTEINER, S.; KRÄUTLER, B. Chlorophyll breakdown in higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1807, n. 8, p. 977-988, 2011.

JUNG, H.G.; DEETZ, D.A. Cell wall lignification and degradability. In: Forage cell wall structure and digestibility. ed. JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D. et al. Madison: America Society of Agronomy, Crop Sci. Society of America, Soil Sci. Society of America, p.315-346, 1993.

KNAGGS, A. R. The biosynthesis of shikimate metabolites. **Nat. Prod. Rep.**, 20, 119–136, 2003

KOGER, C.H.; SHANER, D.L.; KRUTZ, L.J.; WALKER, T.W.; BUEHRING, N. HENRY W.B.; THOMAS, W.E.; WILCUT, J.W. Rice (*Oryza sativa*) response to drift rates of glyphosate. **Pest Manag. Sci.**, v.61, n.12, p.1161-1167, 2005.

KRUSE, N.D.; MICHELANGELO, M.T.; VIDAL, R. A. Herbicidas Inibidores da EPSPs: revisão de literatura **Revista Brasileira de Herbicida**, v.1, n.2, p.139-46, 2000.

LANES, E. C. M. Comparação de metodologias para determinação da concentração de fibra em detergente ácido em silagens de milho. In: SEMANA DE BIOLOGIA, 29., MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2006, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 2006.

LAWSON, T.; KRAMER, D. M.; RAINES, C. A. Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, n.2, p. 215-220, 2012.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.**v.148, p.331-382, 1987

LOBÃO, M.S.; LÚCIA, R. M. D.; MOREIRA, M. S. S.; GOMES, A. Caracterização das propriedades físico-mecânicas da madeira de eucalipto com diferentes densidades. **Árvore**, v. 28, n. 6, p.889-894, 2004.

LUCKEY, T. D. **Radiation hormesis**. CRC press, 1991.

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

MACHADO, A.F.L.; FERREIRA, L.R.; SANTOS, L.D.T.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; MACHADO, M.S.; FREITAS, F.C.L. Eficiência fotossintética e uso da água em

plantas de eucalipto pulverizadas com glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.2, p.319-327, 2010.

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

MARTINS, M.T.; DE SOUZA, W.R.; DA CUNHA, B.A.; BASSO, M.F.; DE OLIVEIRA, N.G.; VINECKY, F; MARTINS, P.K.; DE OLIVEIRA, P.A.; ARENQUE-MUSA, B.C.; DE SOUZA, A.P.; BUCKERIDGE, M.S.; KOBAYASHI, A.K.; QUIRINO, B.F. and MOLINARI, H.B. Characterization of sugarcane (*Saccharum* spp.) leaf senescence: implications for biofuel production. **Biotechnol Biofuel**, v. 9, p.153, 2016.

MATALLO, M.B.; ALMEIDA, S.D.B.; CERDEIRA, A.L.; FRANCO, D.A.; BLANCO, F.M.G.; MENEZES, P.T.C.; LUCHINI, L.C.; MOURA, M.A.; DUKE, S.O. Microwave assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, v.27, p.987-994, 2009.

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

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M.L.B.; GOMES, G. L. G. C. Efeitos do glyphosate nos teores de lignina, celulose e fibra em *Brachiaria decumbens*. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v.10, n.1, p.57-63, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>>. Data de acesso: 29/10/15.

MINSON D.J. **Forage in Ruminant Nutrition**. Academic Press, San Diego. 1990

MOLDES, C.A.; MEDICI, L.O.; ABRAHAO, O.S.; TSAI, S.M.; AZEVEDO, R.A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiol. Plant.**, v.30, n.4, p.469-479, 2008.

MUELLER, T. C.; ELLIS, A. T.; BEELER, J. E.; SHARMA, S. D.; SINGH, M. Shikimate accumulation in nine weedy species following glyphosate application. **Weed research**, v. 48, n. 5, p. 455-460, 2008.

NOBEL, P.S. Physicochemical and environmental plant physiology. San Diego: Academic press, 635p, 1991.

PETERSEN, H.C.B.; HANSEN, H.W.; RAVN, J.C.; SORENSEN, H.; SORENSEN Metabolic effects in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings after root exposure to glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 89, n. 3, p. 220-229, 2007.

PIMENTEL, C. Metabolismo de carbono na agricultura tropical. Seropédica: EDUR, 1998. 150 p.

PLINE, W. A.; PLINE, W. A.; WILCUT, J. W.; DUKE, S. O.; EDMISTEN, K. L.; WELLS, R.; Tolerance and accumulation of shikimic acid in response to glyphosate applications in glyphosate-resistant and nonglyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 3, p. 506-512, 2002

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v. 975, p. 384-394, 1989.

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

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

REGO, G. M.; POSSAMAI, E. Efeito do Sombreamento sobre o Teor de Clorofila e Crescimento Inicial do Jequitibá-rosa. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 53, p. 179, 2011.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, FS de. **Guia de herbicidas. Londrina.** 2011.

RODRIGUES, J.D. Fisiologia da cana-de-açúcar. Botucatu: Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista, 1995. 99p. (Apostila)

SACON, V.; WEISSHEIMER, C. A. Metodologia de lignina simplificada. **Nota Técnica:** Riocell, n.1481, p.6, 1996.

SHARMA, N. Studies on effect of glyphosate on biochemical attributes of tea [Camellia sinensis (L.) O. Kuntze]. 2013. 121 f. Thesis (Doctor of Philosophy in Basic Sciences / Biochemistry)-Chaudhary Sarwan Kumar Himachal Pradesh Krishi Vishvavidyalaya, Palampur, 2013.

SILVA, M.A.; ARAGÃO, N.C.; BARBOSA, M.A.; JERONIMO, E.M.; CARLIN, S.D. Efeito hormótico de glyphosate no desenvolvimento inicial de cana de-açúcar. **Bragantia**, v.68, p.973-978, 2009.

SOUTHAM, C. M.; EHRLICH, J. Decay resistance and physical characteristics of wood. **Journal of Forestry**, v. 41, n. 9, p. 666-673, 1943.

TAIZ , L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

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

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Intoxicação de espécies de eucalipto submetidas a deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v.24, n.2, p.359-364, 2006.

TURTURRO, A.; HASS, B.; HART, R.W. Does caloric restriction induce hormesis? **Nutrition**, v. 17, p. 78-82, 2001.

VAN SOEST P.J.. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Cornell University Press. New York. 476 pp, 1994.

VAN SOEST, P.J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, v.24, n.3, p.834-844, 1965.

VELINI, E.D., et al. Modo de ação de glyphosate. In: VELINI, E.D., TRINDADE, M.L.B.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A. (Org.). **Glyphosate**. 1ed. Botucatu: FEPAF, 2009, v.1, p.113-134.

VELINI, E.D., TRINDADE, M.L.B.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A. **Glyphosate**. 1ed. Botucatu: FEPAF, v.1, p.113-134, 2009

VELINI, E.D.; ALVES, E.; GODOY, M.C.; MESCHEDE, D.K.; SOUZA, R.T.; DUKE, S.O. Glyphosate at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v.64, p.489-496, 2008.

VELINI, E.D.; TRINDADE, M.L.B.; BARBERIS, L.R.M.; DUKE, S.O. Growth Regulation and Other Secondary Effects of Herbicides. **Weed Science**, v.58, p.351-354, 2010.

VILAS BÔAS, O.; MAX, J. C. M.; MELO, A. C. G. Crescimento comparativo de espécies de Eucalyptus e Corymbia no município de Marília, SP. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 63-72, jun. 2009.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v. 153, n. 4, p. 376-387, 1981.

WAGNER JUNIOR, A.; TUFFI SANTOS, L.D.; SANTOS, C.E.M.; SILVA, J.O.C.; PIMENTEL, L.D.; BRUCKNER, C.H.; FERREIRA, F.A. Deriva simulada de formulações comerciais de glyphosate sobre maracujazeiro amarelo. **Planta Daninha**, v.26, n.3, p.677-683, 2008.

WIEDMAN, S. J.; APPLEBY, A. P. Plant Growth Stimulation By Sublethal Concentrations Of Herbicides. **Weed Research**, v. 12, n. 1, p. 65-74, 1972.